

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO TRIÂNGULO MINEIRO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO *STRICTO SENSU*
MESTRADO EM ATENÇÃO À SAÚDE**

VALQUIRIA MARIA DE PAULA CUNHA

**POLIMORFISMOS DO GENE *VEGF* EM MULHERES COM
SÍNDROMES HIPERTENSIVAS NA GESTAÇÃO**

UBERABA(MG)

2010

VALQUIRIA MARIA DE PAULA CUNHA

**POLIMORFISMOS DO GENE *VEGF* EM MULHERES COM
SÍNDROMES HIPERTENSIVAS NA GESTAÇÃO**

Dissertação apresentada à Universidade Federal do Triângulo Mineiro (UFTM) como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Atenção à Saúde.

Orientadora:

Profa. Dra. Sueli Riul da Silva.

Coorientadora:

Profa. Dra. Marly Aparecida Spadotto Balarin.

UBERABA(MG)

2010

VALQUIRIA MARIA DE PAULA CUNHA

**POLIMORFISMOS DO GENE *VEGF* EM MULHERES COM
SÍNDROMES HIPERTENSIVAS NA GESTAÇÃO**

Dissertação apresentada à Universidade Federal do Triângulo Mineiro (UFTM) como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Atenção à Saúde.

Orientadora:

Profa. Dra. Sueli Riul da Silva.

Coorientadora:

Profa. Dra. Marly Aparecida Spadotto Balarin.

Área de Concentração: Saúde e Enfermagem.

Aprovado em: Uberaba (MG), 09 de dezembro de 2010.

Profa. Dra. Sueli Riul da Silva
Universidade Federal do Triângulo Mineiro

Prof. Dr. Marco Fábio Prata Lima
Universidade Federal do Triângulo Mineiro

Profa. Dra. Eny Maria Goloni-Bertollo
Faculdade de Medicina de São José do Rio Preto

Dedico este trabalho, com carinho, aos meus pais,
por terem me ensinado a importância da educação.
Em especial, ao meu esposo Paulo, pelo incentivo e compreensão.

AGRADECIMENTOS

À Profa. Dra. Marly Aparecida Spadotto Balarin, minha querida coorientadora, pelo valioso ensino e dedicação.

À Profa. Dra. Sueli Riul da Silva, minha orientadora, pelo auxílio e aprendizado.

À Profa. Roseane Lopes da Silva Grecco, pelas sugestões fundamentais para a concretização desta pesquisa.

À Profa. Dra. Ana Carolina D'Arelli de Oliveira, pelas considerações relevantes para realização da pesquisa.

Ao Prof. Dr. Marco Fábio Prata Lima, pelas oportunas contribuições para a elaboração do trabalho.

À Profa. Dra. Eny Maria Goloni-Bertollo, pelas importantes sugestões.

À Profa. Dra. Marina Carvalho Paschoini, pelas importantes sugestões.

À equipe de enfermagem do setor de Ginecologia e Obstetrícia do HC-UFTM, pelo apoio.

Aos funcionários da Genética: Vera, Elaine e Ricardo, pelo apoio.

Às alunas do curso de Biomedicina: Lucila e Bruna, pela colaboração.

Ao meu esposo Paulo, pelo apoio e colaboração.

“Algo só é impossível até que alguém duvide e acabe provando o contrário”.

Albert Einstein

RESUMO

CUNHA, V. M. P. **Polimorfismos do gene VEGF em mulheres com síndromes hipertensivas na gestação.** 2010. 68 f. Dissertação (Mestrado em Atenção à Saúde) – Universidade Federal do Triângulo Mineiro, Uberaba (MG), 2010.

As síndromes hipertensivas da gestação são consideradas um problema de saúde pública, sendo a principal causa de morbi-mortalidade materno-fetal. O Fator de Crescimento do Endotélio Vascular (VEGF) é um dos fatores responsáveis pela regulação da implantação da placenta, através dos seus efeitos na remodelação vascular e na sobrevivência e invasão do trofoblasto. Polimorfismos do gene *VEGF* podem ser úteis como indicadores de suscetibilidade para as síndromes hipertensivas da gestação. O presente estudo objetivou identificar polimorfismos de gene *VEGF* +936C/T e -2578C/A. Trata-se de um estudo transversal e quantitativo; constituído por 120 mulheres distribuídas em quatro grupos: hipertensão arterial gestacional, hipertensão arterial crônica superposta à pré-eclâmpsia, pré-eclâmpsia e/ou eclâmpsia e grupo controle. A caracterização da amostra foi realizada mediante entrevista pré-estruturada e complementada por dados transcritos dos prontuários. Para a identificação dos polimorfismos foi realizada extração de DNA, amplificação das sequências pela Reação em Cadeia da Polimerase (PCR) com *primers* específicos e a análise por Polimorfismos de Comprimentos de Fragmentos de Restrição (RFLP). A análise estatística dos resultados foi realizada de forma descritiva e inferencial. Na presente casuística não foi observada associação do polimorfismo do gene *VEGF* +936C/T com as síndromes hipertensivas da gestação, embora haja uma frequência maior do alelo T no grupo de pacientes com pré-eclâmpsia. Já, para o polimorfismo *VEGF* -2578C/A observa-se diferença significativa entre os grupos controle e pré-eclâmpsia, sendo o alelo A mais frequente no controle (67%). Mais pesquisas são necessárias nesta área com uma amostra maior e análise de outros polimorfismos.

Palavras-chave: Gestação. Hipertensão. Polimorfismos. VEGF.

ABSTRACT

CUNHA, V. M. P. **Polimorphisms in gene VEGF in women with hypertensive syndromes during pregnancy.** 2010. 68 f. Dissertation (Master's degree in Health Care) – Universidade Federal do Triângulo Mineiro, Uberaba (MG), 2010.

Hypertensive syndromes during pregnancy are considered as a public health problem, being the main cause of maternal and fetal morbimortality. Vascular endothelial growth factor is one of the responsible factors for the regulation of the placental implantation through its effects in the vascular remodeling and in the survival and invasion of the trophoblast. Polimorphisms in gene VEGF can be useful as indicators of susceptibility for the hypertensive syndromes during pregnancy. This study aimed at identifying polimorphisms of gene VEGF +936C/T and -2578C/A. It is a cross-sectional, quantitative study; constituted by 120 women distributed in four groups: Gestational hypertension, superimposed preeclampsia, preeclampsia and/or eclampsia and control group. Characterization of the sample was shown in a pre-structured interview and complemented by data from the medical records. For the identification of the polimorphisms it was done DNA extraction, amplification of sequences by Polymerase chain reaction (PCR) with specific primers and analysis by restriction fragment length polymorphism (RFLP). Statistics analysis of the results was done in a descriptive and inferential way. In this casuistry it was not observed association of polymorphism of gene VEGF +936C/T with hypertensive syndromes of pregnancy, although there is a higher frequency of the T-allele in the group of patients with preeclampsia. However, for polymorphism VEGF -2578C/A it is observed a significant difference between control and preeclampsia groups, being A-allele more frequent in the control one (67%). Additional research is necessary, showing more samples and analysis of other polimorphisms.

Key words: Pregnancy. Hypertension. Polimorphisms. VEGF.

RESUMEN

CUNHA, V. M. P. **Polimorfismos del gene *VEGF* en mujeres con síndromes hipertensivos del embarazo.** 2010. 68 f. Disertación (Mestrado en Atención a la Salud) – Universidad Federal del Triângulo Mineiro, Uberaba (MG), 2010.

Las síndromes hipertensivas del embarazo son consideradas un problema de salud pública, siendo la principal causa de morbi-mortalidad materno-fetal. El Factor de Crecimiento del Endotelio Vascular (*VEGF*) es uno de los factores responsables por la regulación de la implantación de la placenta, través de sus efectos en la remodelación vascular y en la sobrevivencia e invasión del trofoblasto. Polimorfismos del gene *VEGF* pueden ser útiles como indicadores de susceptibilidad para las síndromes hipertensivas del embarazo. El presente estudio objetivó identificar polimorfismos del gene *VEGF* +936C/T y -2578C/A. Se trata de un estudio transversal y cuantitativo; constituido por 120 mujeres distribuidas en cuatro grupos: hipertensión arterial del embarazo, hipertensión arterial crónica superpuesta a la pre-eclámpsia, pre-eclámpsia y/o eclámpsia y grupo control. La caracterización de la muestra fue realizada mediante entrevista, pre-estructurada, y complementada por datos transcritos de los prontuarios. Para la identificación de los polimorfismos fue realizado extracción de DNA, amplificación de las secuencias por Reacción en Cadena de Polimerasa (PCR) con primers específicos y el análisis por Polimorfismos de Comprimientos de Fragmentos de Restricción (RFLP). El análisis estadístico de los resultados fue realizado de forma descriptiva e inferencial. En la presente casuística no fue observado asociación del polimorfismo del gene *VEGF* +936C/T con las síndromes hipertensivas del embarazo, aun que haya una frecuencia mayor del alelo T en el grupo de pacientes con pre-eclámpsia. Para el polimorfismo *VEGF* -2578C/A se observa diferencia significativa entre los grupos control y pre-eclámpsia, siendo el alelo A mas frecuente en el control (67%). Mas pesquisas son necesarias en esta área con una muestra mayor y análisis de otros polimorfismos.

Palabras Clave: Embarazo. Hipertensión. Polimorfismos. *VEGF*.

LISTA DE ABREVIATURAS

ATG	Angiotensina
C	Grupo controle
ECA	Enzima Conversora de Angiotensina
EDTA	Ácido Etilenodiaminotetraacético
HAC	Hipertensão Arterial Crônica
HAC+PE	Hipertensão Arterial Crônica superposta à pré-eclâmpsia
HAG	Hipertensão Arterial Gestacional
HELLP	<i>Haemolysis, Elevated Liver enzymes and Low Platelets</i>
kb	quilobases
M	Molar
mL	Mililitro
mM	Milimolar
MTHFR	Metilenotetrahidrofolato redutase
NAOH	Hidróxido de Sódio
ND	Não digerido
NHBPEP	<i>National High Blood Pressure Education Program</i>
PB	pares de bases
PCR	Reação em Cadeia da Polimerase
PE/E	Pré-eclâmpsia/eclâmpsia
pH	Potencial Hidrogeniônico
PIGF	Fator de Crescimento Placentário
PM	Peso Molecular
RFLP	Polimorfismo de Comprimento de Fragmento de Restrição
rpm	rotações por minuto
SHG	Síndromes Hipertensivas da Gestação
TE	TRIS-EDTA
TNF- α	Fator de Necrose Tumoral alfa
UFTM	Universidade Federal do Triângulo Mineiro
UTI-NEO	Unidade de Terapia Intensiva Neonatal
VEGF	Fator de Crescimento do Endotélio Vascular
χ^2	Qui-Quadrado
μL	Microlitro

LISTA DE TABELAS

Tabela 01	Frequência dos genótipos nos grupos de estudo e controle, do polimorfismo VEGF +936C/T. Uberaba, 2010.....	34
Tabela 02	Frequência dos genótipos nos grupos com síndromes hipertensivas da gestação e controle, do polimorfismo VEGF +936C/T. Uberaba, 2010.....	34
Tabela 03	Frequência do alelo T do polimorfismo do gene VEGF +936 C/T nos grupos de estudo e controle. Uberaba, 2010.....	35
Tabela 04	Frequência do alelo T do polimorfismo do gene VEGF +936 C/T nos grupos com síndromes hipertensivas da gestação e controle. Uberaba, 2010.....	36
Tabela 05	Frequência dos genótipos nos grupos de estudo, do polimorfismo VEGF +936C/T. Uberaba, 2010.....	36
Tabela 06	Frequência do alelo T do polimorfismo do gene VEGF +936C/T nos grupos de estudo. Uberaba, 2010.....	37
Tabela 07	Resultados das análises estatísticas entre cada grupo de estudo e o controle, considerando o polimorfismo do gene VEGF +936C/T. Uberaba, 2010.....	37
Tabela 08	Frequência dos genótipos nos grupos de estudo e controle, do polimorfismo VEGF -2578C/A. Uberaba, 2010.....	40
Tabela 09	Frequência dos genótipos nos grupos com síndromes hipertensivas da gestação e controle, do polimorfismo VEGF -2578C/A. Uberaba, 2010.....	40
Tabela 10	Frequência do alelo A do polimorfismo do gene VEGF -2578C/A nos grupos de estudo e controle. Uberaba, 2010.....	41
Tabela 11	Frequência do alelo A do polimorfismo do gene VEGF -2578C/A nos grupos com síndromes hipertensivas da gestação e controle. Uberaba, 2010.....	41
Tabela 12	Frequência dos genótipos nos grupos de estudo, do polimorfismo VEGF-2578 C/A. Uberaba, 2010.....	42
Tabela 13	Frequência do alelo A do polimorfismo do gene VEGF -2578C/A nos grupos de estudo. Uberaba, 2010.....	42
Tabela 14	Resultados das análises estatísticas entre cada grupo de estudo e o controle, considerando o polimorfismo do gene VEGF -2578C/A. Uberaba, 2010.....	43

Tabela 15	Frequência da combinação genotípica dos polimorfismos VEGF +936C/T e -2578C/A entre indivíduos dos grupos de estudo e do controle. Uberaba, 2010.....	44
Tabela 16	Frequência da combinação genotípica dos polimorfismos VEGF +936C/T e -2578C/A entre mulheres com síndromes hipertensivas e controle. Uberaba, 2010.....	45
Tabela 17	Frequência da combinação genotípica dos polimorfismos VEGF +936C/T e -2578C/A nos indivíduos do grupo de estudo. Uberaba, 2010.....	46

LISTA DE GRÁFICOS

Gráfico 01	Frequência dos grupos de estudo e controle na amostra estudada.....	29
Gráfico 02	Frequência dos genótipos do polimorfismo VEGF +936C/T na amostra.....	32
Gráfico 03	Frequência dos genótipos nos grupos de estudo e controle, do polimorfismo VEGF +936C/T.....	33
Gráfico 04	Frequência dos genótipos do polimorfismo VEGF -2578C/A na amostra.....	38

LISTA DE FIGURAS

Figura 01	Gel de agarose 3% com os produtos de PCR para o polimorfismo do VEGF +936 C/T.....	32
Figura 02	Gel de poliacrilamida 10% com os produtos de PCR (208pb), do polimorfismo VEGF +936C/T, digeridos pela enzima de restrição <i>NlaIII</i> , mostrando os genótipos T/T, C/T e C/C.....	33
Figura 03	Gel de agarose 3% com os produtos de PCR para o polimorfismo do VEGF -2578C/A.....	38
Figura 04	Gel de poliacrilamida 10% com os produtos de PCR (267pb), do polimorfismo VEGF -2578 C/A, digeridos pela enzima de restrição <i>BglII</i> , mostrando os genótipos A/A, C/A e C/C.....	39

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	15
1.1	SÍNDROMES HIPERTENSIVAS.....	15
1.2	GENÉTICA E SÍNDROMES HIPERTENSIVAS.....	19
1.2.1	Fator de Crescimento do Endotélio Vascular (VEGF).....	21
1.3	JUSTIFICATIVA.....	23
2	OBJETIVO.....	24
3	MATERIAL E MÉTODOS.....	25
3.1	TIPO DE ESTUDO.....	25
3.2	AMOSTRA.....	25
3.3	CRITÉRIOS DE EXCLUSÃO.....	25
3.4	COLETA DE SANGUE.....	25
3.5	ANÁLISE MOLECULAR.....	26
3.5.1	Extração de DNA.....	26
3.5.2	Reação em Cadeia da Polimerase (PCR) – Polimorfismos de Comprimento de Fragmentos de Restrição (RFLP).....	26
3.6	PROCESSAMENTO DOS DADOS E ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	27
3.7	ASPECTOS ÉTICOS.....	27
4	RESULTADOS.....	29
4.1	CARACTERIZAÇÃO DA AMOSTRA.....	29
4.2	POLIMORFISMO DO GENE <i>VEGF</i> POSIÇÃO +936C/T.....	32
4.3	POLIMORFISMO DO GENE <i>VEGF</i> POSIÇÃO -2578C/A.....	38
4.4	COMBINAÇÃO GENOTÍPICA.....	43
5	DISCUSSÃO.....	47
6	CONCLUSÃO.....	50
	REFERÊNCIAS.....	51
	ANEXO A.....	58
	ANEXO B.....	60
	ANEXO C.....	62
	APÊNDICE A.....	66

1 INTRODUÇÃO

As síndromes hipertensivas representam a principal complicação da gravidez, afetando 10% de todas as gestações. São consideradas um problema de saúde pública no mundo, sendo a principal causa de morbi-mortalidade materno-fetal dos países em desenvolvimento (PERAÇOLI; PARPINELLI, 2005; DULEY, 2009; JIM et al., 2010).

Para o consenso do *National High Blood Pressure Education Program* (NHBPEP) é fundamental diferenciar a hipertensão que antecede a gravidez, daquela que é uma condição específica da mesma. Na primeira, a elevação da pressão arterial é o aspecto fisiopatológico básico da doença, a segunda é resultado da má adaptação do organismo materno à gravidez, sendo a hipertensão apenas um de seus achados. Em 2000, o NHBPEP classificou as manifestações das síndromes hipertensivas da gestação como: hipertensão arterial crônica (HAC), hipertensão gestacional (HAG), pré-eclâmpsia/eclâmpsia (PE/E) e hipertensão arterial crônica superposta por pré-eclâmpsia (HAC+PE) (NHBPEP, 2000).

De acordo com a Organização Mundial da Saúde, dentre as síndromes hipertensivas ligadas à gestação, a pré-eclâmpsia é responsável por aproximadamente 60 mil mortes/ano (WHO, 2005). Estudos demonstram também que a hipertensão arterial sistêmica é a principal causa de morte obstétrica direta, ocorrendo em 18,5% dos casos (GAIO et al., 2001).

Nos últimos anos as pesquisas enfatizaram a patogênese dessas síndromes; no entanto, as opções de tratamento não apresentaram mudanças significativas. Estudos epidemiológicos revelam complicações a longo prazo da pré-eclâmpsia, como danos no sistema cardiovascular e em outros órgãos (FUNAI et al., 2005; BELLAMY et al., 2007; CARTY; DELLES; DOMINICZAK, 2010; JIM et al., 2010).

1.1 SÍNDROMES HIPERTENSIVAS

A hipertensão crônica na gravidez é definida como estado hipertensivo pré-existente ou ocorrido antes da vigésima semana, e ainda presente decorridas 12 semanas do pós-parto. Com taxa de incidência de 5% nas gestantes, é classificada

como leve (pressão arterial sistólica entre 140 a 159 mmHg e diastólica < 90 a 99 mmHg) ou grave (pressão arterial \geq 160/100 mmHg associado a lesão de órgãos alvos) (NHBPEP, 2000; JIM et al., 2010).

A hipertensão primária ou essencial representa a principal causa de hipertensão crônica na gravidez (90%); as causas secundárias (10%) são as doenças renais e as desordens endócrinas (SIBAI, 2002).

A hipertensão arterial crônica na gravidez está associada a complicações que causam danos materno-fetais como: descolamento de placenta, baixo peso ao nascimento, restrição de crescimento intrauterino, mortalidade perinatal e pré-eclâmpsia superajuntada. Estimativas indicam que cerca de 10 a 20% das grávidas com hipertensão pré-existente desenvolvem pré-eclâmpsia (SIBAI, 2002; GILBERT; YOUNG; DANIELSEN, 2007).

A pré-eclâmpsia é uma síndrome multissistêmica específica da gravidez, definida clinicamente como pressão arterial aumentada ($>$ 140/90 mmHg) e proteinúria que excede 300 mg/dia após a vigésima semana de gestação, podendo cursar também com edema (SAFTLAS et al., 1990; LIE et al., 1998; MURPHY; STIRRAT, 2000).

Afeta de 6 a 8% das grávidas, dependendo das características geográficas e demográficas da população, sendo responsável por aproximadamente 40% de partos prematuros (MEIS et al., 1998). Dentre as complicações desta doença podem ocorrer baixo peso, prematuridade e morte fetal; as maternas incluem falências renal e hepática, síndrome HELLP (*Haemolysis, Elevated Liver enzymes and Low Platelets*), edema cerebral e até morte (KENNY; BAKER, 1999; MUTTER; KARUMANCHI, 2007).

Os fatores de risco incluem: primíparas, múltiparas com novo parceiro, pré-eclâmpsia em gestações anteriores e idade materna (extremos do período procriativo). Algumas condições obstétricas que aumentam a massa placentária como gestação múltipla e mola hidatiforme também contribuem para o maior risco de pré-eclâmpsia (DUCKITT; HARRINGTON, 2005; BARTON; SIBAI, 2008; BDOLAH et al., 2008; KOGA et al., 2009). No entanto, o tabagismo está associado com reduzido risco para a síndrome (XIONG et al., 2000; ENGLAND et al., 2002).

O diagnóstico precoce e a intervenção são de importância vital em reduzir a mortalidade materna e fetal (CHAPPELL; MORGAN, 2006).

Apesar de existirem muitos estudos nessa área, a patogênese da pré-

eclâmpsia é pouco compreendida. Possíveis etiologias têm sido propostas, incluindo causas placentárias, imunológicas, genéticas e ambientais. Há consenso de que a placenta tem papel central na ocorrência dessa doença; pesquisas sugerem que o prejuízo na remodelação do fundo placentário é um defeito básico, que precede todas as outras mudanças patológicas na pré-eclâmpsia (MEEKINS et al., 1994; YOUNG; LEVINE; KARUMANCHI, 2010). Conseqüentemente, investigações têm associado anormalidades vasculares com pré-eclâmpsia (PRASMUSINTO et al., 2002).

A implantação da placenta é um processo complexo que requer a migração do trofoblasto em duas fases, chamadas de “ondas de invasão do trofoblasto”: a primeira ocorre durante a sexta e a oitava semana de gestação, limitando-se ao segmento decidual das artérias espiraladas do útero. A segunda onda de invasão atinge a porção miometrial das artérias espiraladas durante a décima - sexta e a vigésima semana de gestação. Nesse processo ocorre uma diferenciação do fenótipo epitelial para o endotelial, conhecido como pseudovasculogênese. Como resultado, as artérias perdem sua elasticidade e seu diâmetro aumenta. O baixo fluxo é aumentado para satisfazer à demanda intensa do crescimento fetal; essa invasão das artérias espiraladas pelo trofoblasto é essencial para o sucesso da gestação (VÁZQUEZ; FORTE; TEDESCO, 2004; ROBERTS; GAMMILL, 2005).

Na pré-eclâmpsia a remodelação vascular é inadequada, provavelmente pela invasão insuficiente do trofoblasto na segunda onda. Portanto, a dilatação vascular não ocorre nas artérias espiraladas e o fluxo sanguíneo uteroplacentário está diminuído, levando a hipóxia placentária local. Com isso, há uma liberação de fatores placentários e um desequilíbrio de fatores angiogênicos, causando disfunção endotelial que caracteriza a pré-eclâmpsia (LEE et al., 2007; GADONSKI; IRIGOYEN, 2008).

A pré-eclâmpsia é somente observada em mulheres grávidas, levando à conclusão de que a placenta é necessária para que ocorra essa doença. É também verificada na gestação molar na qual o feto está ausente, demonstrando-se que a placenta é suficiente para causar esta condição. A morbi-mortalidade fetal resulta exclusivamente da insuficiência placentária. Estas observações levam a investigações sobre se fatores circulantes produzidos pela placenta contribuem para esta doença. As placentas de mulheres com pré-eclâmpsia são mal desenvolvidas, provavelmente devido a hipóxia (LAM; LIM; KARUMANCHI, 2005; BDOLAH et al.,

2008; YOUNG; LEVINE; KARUMANCHI, 2010).

Há evidências de que a circulação de microfragmentos de sinciciotrofoblasto no plasma materno está aumentada na pré-eclâmpsia, com liberação de citocinas inflamatórias (KNIGHT et al., 1998).

Recentemente, novas descobertas sugerem que a pré-eclâmpsia está relacionada ao desequilíbrio de fatores angiogênicos circulantes, resultando em disfunção endotelial. A implicação desta teoria é que a pré-eclâmpsia seria uma doença primária do endotélio vascular, tendo como fatores de risco materno a obesidade, a resistência à insulina, a hiperlipidemia, a hipertensão, a doença renal e as trombofilias (THADHANI et al., 1999, 2004; WOLF et al., 2001, 2002; SAID; DEKKER, 2003).

Tradicionalmente esta síndrome é considerada resolvida após a dequitação; contudo, a disfunção endotelial pode persistir anos após o episódio, e mulheres que tiveram a doença apresentam risco aumentado para eventos cardiovasculares futuros, necessitando de monitorização contínua a longo prazo (CHAMBERS et al., 2001; FUNAI et al., 2005; BELLAMY et al., 2007; CARTY; DELLES; DOMINICZAK, 2010; JIM et al., 2010).

Atualmente, o desenvolvimento da pré-eclâmpsia é explicado como o resultado da combinação de fatores genéticos, nutricionais, ambientais, inflamatórios e imunológicos que levam a uma falha da invasão trofoblástica normal e remodelação das artérias uterinas espiraladas (SIBAI, 2003; PEGORARO et al., 2004).

Eclâmpsia é definida pela manifestação de crises convulsivas tônico-clônicas generalizadas e/ou coma, em gestante com hipertensão gestacional ou pré-eclâmpsia, na ausência de doenças neurológicas (WALKER, 2000). Pode ocorrer durante a gestação, na evolução do trabalho de parto e no puerpério. É comumente precedida pelos sinais e sintomas de eclâmpsia iminente, como distúrbios do sistema nervoso central (cefaleia frontal/occipital, torpor, obnubilação e alterações de comportamento), visuais (escotomas, visão embaçada e até amaurose) e gástricos (náuseas, vômitos e dor no hipocôndrio direito ou no epigástrico). É responsável por 60 a 100% das mortes maternas relacionadas à síndrome hipertensiva da gestação. Mundialmente, a incidência de eclâmpsia é de 1,3 para cada 1000 partos, com valor de 0,6‰ nos países desenvolvidos e 4,5‰ nos países em desenvolvimento (DOUGLAS; REDMAN, 1994; PERAÇOLI; PARPINELLI, 2005).

Hipertensão arterial crônica superposta por pré-eclâmpsia é caracterizada pelo aparecimento de proteinúria em mulheres com hipertensão antes da vigésima semana de gestação ou o aumento súbito da pressão; como também aquelas com hipertensão crônica que desenvolvem a síndrome HELLP ou cefaleia, alterações visuais ou dor epigástrica. A pré-eclâmpsia, isolada ou superposta à hipertensão arterial crônica, está associada aos piores resultados maternos e perinatais das síndromes hipertensivas (ROBERTS et al., 2003).

A hipertensão gestacional corresponde a casos com aumento de pressão sanguínea, sem proteinúria, após a vigésima semana de gravidez, retornando aos níveis tensionais normais no pós-parto (12 semanas) (SIBAI, 2003). De etiologia desconhecida, pode-se identificar mulheres suscetíveis ao desenvolvimento de hipertensão essencial a longo prazo (VILLAR et al., 2006).

A maioria dos estudos aborda somente pré-eclâmpsia e eclâmpsia devido aos piores prognósticos; as demais síndromes hipertensivas da gestação são pouco investigadas. O conhecimento da fisiopatologia, o diagnóstico precoce e a atuação precisa no momento adequado melhoram o prognóstico materno/perinatal, reduzindo as altas taxas de mortalidade materna, decorrentes dessas síndromes (PERAÇOLI; PARPINELLI, 2005).

O progresso na prevenção e no tratamento desta condição requer avanços na compreensão da fisiopatologia da doença em nível molecular (CHAPPELL; MORGAN, 2006). A descoberta de novos biomarcadores para detectar essas síndromes, antes do aparecimento dos sinais e sintomas clínicos, é uma proposta promissora (CARTY; DELLES; DOMINICZAK, 2008; HERTIG; LIERE, 2010). A Genética pode contribuir com novas opções que farão parte do arsenal terapêutico utilizado naquele que permanece sendo um dos maiores desafios médicos atuais (GADONSKI; IRIGOYEN, 2008).

1.2 GENÉTICA E SÍNDROMES HIPERTENSIVAS

Vários estudos utilizando diferentes modelos genéticos e estratégias de genes candidatos apontam para uma possível predisposição familiar no desenvolvimento das síndromes hipertensivas da gestação, principalmente a pré-eclâmpsia e eclâmpsia.

Um forte componente de herança tem sido demonstrado, embora com padrão desconhecido (MORGAN; WARD, 1999): mulheres nascidas de mães com pré-eclâmpsia possuem um risco aumentado dessa doença na sua gestação; homens nascidos de mulheres com pré-eclâmpsia possuem risco aumentado para serem pais de filhos nascidos de pré-eclâmpsia (CHESLEY; COOPER, 1986; CARR et al., 2005).

A genética tem um papel duplo nessa descoberta, podendo sugerir modelo de hipóteses e usando os genes candidatos para testá-las (CHAPPELL; MORGAN, 2006). Muitos investigaram um único polimorfismo em um único gene candidato; a minoria testou diversos genes, ou polimorfismos múltiplos em um ou mais genes.

Entre os genes candidatos estão incluídos aqueles que codificam fatores da coagulação, estresse oxidativo e substâncias vasoativas (WARD et al., 1993), bem como os envolvidos na função placentária (DIZON-TOWNSON et al., 1996) e citocinas inflamatórias (CHAPPELL; MORGAN, 2006).

Alterações nos elementos vasoativos do sistema renina-angiotensina poderiam possuir um papel significativo na fisiopatologia da pré-eclâmpsia, por exemplo, genes da angiotensina (ATG), da enzima conversora de angiotensina (ACE) e do óxido nítrico sintase endotelial (eNOS) (MEDICA; KASTRIN; PETERLIN, 2007).

Uma associação estatisticamente significativa com pré-eclâmpsia foi encontrada com os polimorfismos do gene da angiotensina (Met235Thr/AGT) tanto no modelo genético recessivo quanto no dominante; do gene ACE (intron 16 ins-del/ACE), considerando o modelo recessivo; e um efeito moderado para o polimorfismo do gene eNOS (Glu298Asp/eNOS) (MORRIS; EATON; DEKKER, 1996; MEDICA; KASTRIN; PETERLIN, 2007). Estudando o gene da prolilcarboxipeptidase, que é uma enzima reguladora do sistema renina-angiotensina, observou-se que a presença do alelo prolilcarboxipeptidase D acompanhada por hipertensão crônica estava associada com aumento de risco significativo para pré-eclâmpsia (WANG et al., 2006).

O gene do metilenotetrahidrofolato redutase (*MTHFR*) humano, localizado no cromossomo 1p36 (SOHDA et al., 1997), é importante para o metabolismo da homocisteína (POWERS et al., 1999). Estudos com o polimorfismo do gene *MTHFR* 677C/T e pré-eclâmpsia/eclâmpsia mostram resultados discrepantes, sugerindo possível fator de risco (KUPFERMINC et al., 2000) pouca ou nenhuma associação

significativa (PRASMUSINTO et al., 2002; PEGORARO et al., 2004; DÁVALOS et al., 2005) com pré-eclâmpsia/eclâmpsia.

Fator de Necrose Tumoral alfa (TNF- α) é uma potente citocina com ampla atividade pró-inflamatória tipo Th-1. Ele é produzido por monócitos ou macrófagos e outros tipos de células, como células T e B, células endometriais, implantes endometriais ectópicos e pelas vilosidades placentárias durante a gravidez. O gene do TNF- α está localizado no cromossomo 6p21.3 na região do complexo de histocompatibilidade principal. (STONEK et al., 2007).

Variações polimórficas na região promotora do gene do TNF- α são alvo de diversos estudos em diferentes populações e mostram associação ou não com síndromes hipertensivas da gestação (HEISKANEN et al., 2002; KAISER et al., 2004; PFAB et al., 2005; SAARELA et al., 2005; CANTO-CETINA et al., 2007; PAZARBASI et al., 2007).

Pesquisas para determinar a regulação do desenvolvimento vascular placentário e a expressão de fatores angiogênicos podem contribuir para o melhor entendimento das síndromes hipertensivas da gestação e sua heterogeneidade, fornecendo testes futuros para prever ou diagnosticá-las, bem como, estratégias terapêuticas no manuseio das mesmas (YOUNG; LEVINE; KARUMANCHI, 2010).

1.2.1 Fator de Crescimento do Endotélio Vascular (VEGF)

VEGF é um importante fator angiogênico, produzido por macrófagos, linfócitos T, células tumorais e pelo citotrofoblasto, e representa papel fundamental como regulador na proliferação celular endotelial e permeabilidade vascular; contribui para a manutenção funcional dos vasos e inibe a apoptose das células endoteliais (FERRARA; HENZEL, 1989). A inibição do VEGF desregula o balanço apoptose/proliferação, resultando em embriogênese defeituosa e danos graves nos tecidos maduros (KASAHARA et al., 2000).

Possui um importante papel na manutenção da integridade da barreira de filtração glomerular e sua inibição poderia levar a proteinúria (BDOLAH et al., 2004). Estudos relatam que pacientes recebendo antagonistas de VEGF para o tratamento de câncer podem desenvolver hipertensão, proteinúria e dano no endotélio

glomerular (KABBINAVAR et al., 2003; PATEL et al., 2008).

A família VEGF de proteínas inclui VEGF-A (VEGF), VEGF-B, VEGF-C, VEGF-D, fator de crescimento placentário (PIGF), e seus receptores VEGFR-1/Flt-1, VEGFR-2/KDR e VEGFR-3/Flt-4. Eles compartilham características típicas estruturais, porém, apresentam atividades biológicas diferentes (FERRARA; GERBER; LECOUTER, 2003).

O gene que codifica VEGF é altamente polimórfico, está localizado no cromossomo 6p21.3 e contém 14kb na região codificante com oito éxons e sete íntrons (VINCENTI et al., 1996). No mínimo, 30 polimorfismos foram descritos neste gene, sendo que alguns estão associados com a produção da proteína VEGF (WATSON et al., 2000; BÁNYÁSZ et al., 2006).

VEGF é um componente da regulação da implantação da placenta através dos seus efeitos na remodelação vascular e na sobrevivência e invasão do citotrofoblasto (BÁNYÁSZ et al., 2006), sendo que seus polimorfismos podem ser úteis como indicadores de suscetibilidade para as síndromes hipertensivas da gestação (SHIM et al., 2007). Baseado na predisposição genética, esta relação pode ser fortemente mostrada pela associação entre polimorfismos genéticos e aumento de risco para o desenvolvimento dessas síndromes (CNATTINGIUS et al., 2004).

Alguns desses, tais como o VEGF +405G/C e o VEGF -2578C/A podem ter um impacto na produção do VEGF nas células mononucleares do sangue periférico e em outros tecidos (SHAHBAZI et al., 2002). O alelo VEGF +405G, que é acompanhado pela alta capacidade de produção de VEGF, diminui o risco para pré-eclâmpsia severa.

Foi observado que a progressão da pré-eclâmpsia pode ser acelerada/modificada na presença dos polimorfismos VEGF -2578C/A e +936C/T que predispõem a baixa capacidade de produção de VEGF (PAPAZOGLU et al., 2004; BÁNYÁSZ et al., 2006; SHIM et al., 2007). Os genótipos do VEGF -460T/T e +405C/C apresentam aumento de risco para o desenvolvimento da síndrome HELLP (NAGY et al., 2008). Alguns estudos demonstraram concentração reduzida de VEGF circulante em mulheres com pré-eclâmpsia (MAYNARD et al., 2003; LEVINE et al., 2004).

VEGF como regulador essencial da angiogênese embrionária, possui também um papel central na patogênese de complicações perinatais. Foi analisado se os polimorfismos genéticos do VEGF estão associados com o risco de nascimentos

prematturos ou morbidades perinatais. Como conclusão, os resultados sugeriram que o polimorfismo *VEGF* +405G/C poderia estar associado com alto risco de nascimentos pré-termos e que *VEGF* -2578C/A poderia participar no desenvolvimento de complicações perinatais como enterocolite necrosante e falência renal aguda (BÁNYÁSZ et al., 2006). Observaram também que o polimorfismo do gene *VEGF* -1154G/A está associado a abortos recorrentes idiopáticos e o *VEGF* +936C/T associado com partos prematturos espontâneos (PAPAZOGLU et al., 2004).

Há uma teoria provocativa de que mulheres com história de pré-eclâmpsia têm um balanço antiangiogênico residual e podem ser protegidas do crescimento de tumores sólidos que usam *VEGF* e outros fatores angiogênicos para neovascularização, crescimento tumoral e metástase (VATTEN et al., 2002).

1.3 JUSTIFICATIVA

Considerando que as síndromes hipertensivas da gestação são um dos problemas mais importantes da prática obstétrica e de impacto epidemiológico com altas taxas de morbi-mortalidade materno-fetal, torna-se importante analisar os polimorfismos do gene *VEGF* nas posições -2578C/A e +936C/T, em nossa região, e assim contribuir para o melhor entendimento da condição e de sua evolução, permitindo um acompanhamento mais direcionado das gestantes, bem como a possibilidade da identificação de portadoras e riscos de desenvolver essas síndromes. O gene do *VEGF* foi selecionado por apresentar características sugestivas de associação com síndromes hipertensivas na gestação.

2 OBJETIVO

Identificar polimorfismos do gene *VEGF* nas posições -2578C/A e +936C/T em mulheres com gestação normal e com síndromes hipertensivas na gestação.

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 TIPO DE ESTUDO

Trata-se de um estudo seccional (transversal) e quantitativo.

3.2 AMOSTRA

Foram estudadas 88 mulheres, com idade igual ou superior a 18 anos, que apresentaram síndromes hipertensivas durante a gestação, atendidas no Hospital de Clínicas da Universidade Federal do Triângulo Mineiro (UFTM), após a assinatura do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE) (ANEXO A).

O grupo controle foi constituído por 32 mulheres que apresentaram duas ou mais gestações sem intercorrências, com filhos normais, após a assinatura do TCLE (ANEXO B).

3.3 CRITÉRIOS DE EXCLUSÃO

Mulheres com as mesmas condições clínicas e idade inferior a 18 anos, bem como aquelas que não possuíam informações completas sobre os dados avaliados; do grupo controle foram excluídas as mulheres que apresentaram síndromes hipertensivas e outras complicações.

3.4 COLETA DE SANGUE

Foram coletados 8mL de sangue periférico, por venopunção, em tubos (BD Vacutainer™) contendo EDTA. Esta coleta foi realizada por profissional habilitado e o material foi utilizado para extração de DNA. Os tubos foram transportados diretamente para o Laboratório de Citogenética e Genética Molecular Humana da Disciplina de Genética do Instituto de Ciências Biológicas e Naturais da UFTM.

A caracterização da amostra foi realizada mediante entrevista pré-estruturada com os sujeitos da pesquisa e complementada por dados transcritos dos prontuários (APÊNDICE A).

3.5 ANÁLISE MOLECULAR

3.5.1 Extração de DNA

Em um tubo cônico de 50 mL foram colocados 8mL de sangue total e adicionada solução de lise celular (solução de TE 20:5 – Tris HCl 1M, EDTA 0,5M pH=8,0, H₂O milli Q) até completar 30 mL. Em seguida, foi feita centrifugação a 3500rpm por 15 minutos a 10°C. O sobrenadante foi desprezado e o procedimento repetido por três vezes até obtenção de um *pellet* de leucócitos livre de hemácias, o qual foi transferido para microtubo de 2mL para posterior extração do DNA.

A extração do DNA, a partir do *pellet* de leucócitos, foi realizada pelo método de fenol/clorofórmio, acrescentando 10µL da solução de proteinase K (20mg/mL) e 25µL de SDS 10%; as amostras foram incubadas em banho-maria a 56°C, *overnight*, até dissolução completa do *pellet*. Em seguida foram acrescentados 400µL de fenol:clorofórmio:álcool isoamílico (25:24:1) e o tubo foi centrifugado a 15000rpm por dois minutos a 4°C. A fase superior foi recolhida, com o cuidado para que a camada branca (camada proteica) não fosse recolhida. Acrescentou-se fenol:clorofórmio (24:1) e o tubo foi novamente centrifugado a 15000rpm por dois minutos a 4°C. Novamente a fase superior foi recolhida e acrescentou-se 800µL de etanol 100% e 40µL de acetato de sódio 0,2M. Foi realizada mais uma centrifugação a 15000rpm por 20 minutos, acrescentado 1 mL de etanol 70% e o material foi misturado por inversão. A última centrifugação foi realizada a 15000rpm por dez minutos; o sobrenadante foi desprezado e o microtubo permaneceu secando *overnight*. O DNA foi ressuspendido em 200µL de NaOH 8mM e armazenado a -20°C.

3.5.2 Reação em Cadeia da Polimerase (PCR) – Polimorfismos de Comprimentos de Fragmentos de Restrição (RFLP)

- **Amplificação das sequências**

As amostras de DNA genômico foram submetidas à PCR, utilizando-se pares de *primers* específicos para o segmento de interesse. Para o gene *VEGF* +936C/T a sequência *sense* 5'- AAGGAAGAGGAGACTCTGCGCAGAGC – 3' e *anti-sense* 5'- AAATGTATGTATGTGGGTGGGTGTGTCTACAGG-3'. Para o gene *VEGF* -2578C/A foi 5'- GGGCCTTAGGACACCATAACC-3' e 5'- TGCCCCAGGGAACAAAGT-3',

respectivamente. A amplificação do produto de PCR das amostras foi visualizada por meio de eletroforese em gel de agarose 3% e coloração pelo GelRed (Biotium®).

- **Análise por RFLP**

Os produtos da PCR foram submetidos à digestão por enzimas de restrição específicas para cada polimorfismo em estudo: VEGF +936C/T pela enzima *NlaIII* (BioLabs®) e VEGF -2578C/A pela enzima *BglII* (BioLabs®). Em relação ao polimorfismo +936C/T para o alelo C formou-se um fragmento de 208 pb e para o T, 122 e 86 pb. Já para o -2578C/A, o alelo C, 267pb e o A 208 e 60pb.

O produto de digestão foi aplicado em gel de poliacrilamida 10% e os fragmentos descritos foram separados em eletroforese, corados pela prata e as imagens foram obtidas pelo Sistema de Captura de Imagens (L-PIX®). A análise foi feita através do tamanho dos fragmentos de restrição.

3.6 PROCESSAMENTO DOS DADOS E ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os dados foram compilados no *software* Excel® 4.0, utilizando sua planilha eletrônica para armazenamento. A análise estatística dos resultados foi realizada de forma descritiva e inferencial. Para variáveis quantitativas utilizou-se medidas de posição ou centralidade (média) e medidas de dispersão e variabilidade (desvio padrão). As variáveis categóricas foram analisadas através do *software* StatView® empregando-se frequências relativas, bem como análise de associação em tabelas de contingências χ^2 (qui-quadrado). Os valores foram considerados estatisticamente significativos quando $p \leq 0,05$.

3.7 ASPECTOS ÉTICOS

Foram considerados os aspectos éticos apontados na resolução 196/96 do Conselho Nacional de Saúde, sobre pesquisa envolvendo seres humanos, incorporando sob a ótica do indivíduo e da coletividade os quatros referenciais básicos da bioética: autonomia, não maledicência, beneficência e justiça, visando também, assegurar os deveres e os direitos que dizem respeito à comunidade científica, aos sujeitos da pesquisa e ao Estado (CNS, 1996).

O projeto foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da UFTM – Protocolo CEP nº 1115-08 (ANEXO C).

4 RESULTADOS

4.1 CARACTERIZAÇÃO DA AMOSTRA

A amostra de estudo foi composta por 120 mulheres divididas em quatro grupos de acordo com os critérios de classificação do NHBPEP (2000): **1) HAG:** pacientes portadoras de hipertensão arterial gestacional **2) HAC+PE:** pacientes portadoras de hipertensão crônica superposta a pré-eclâmpsia **3) PE/E:** pacientes portadoras de pré-eclâmpsia/eclâmpsia e **4) C:** grupo controle.

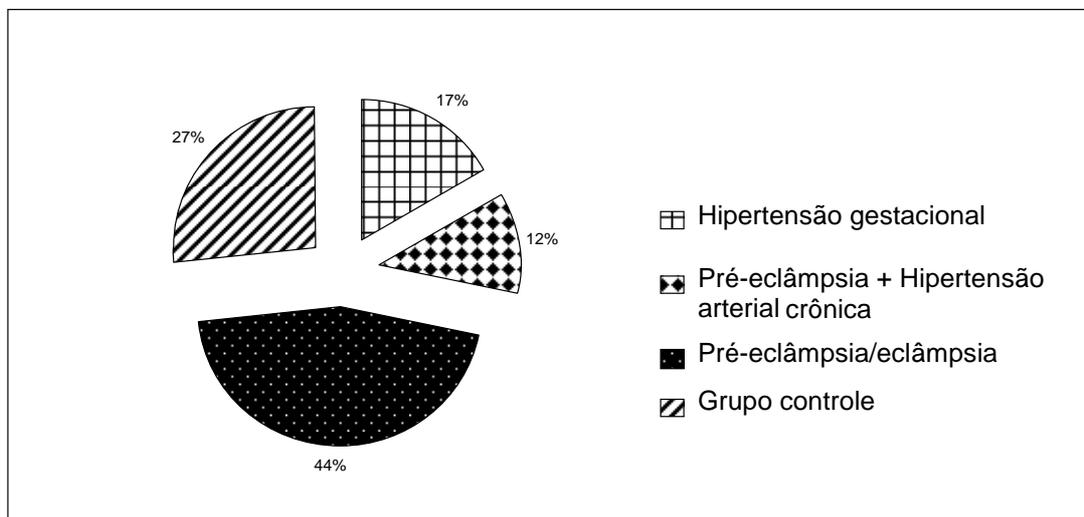


Gráfico 1- Frequência dos grupos de estudo e controle na amostra estudada.

O grupo 1 (HAG) foi composto por 20 mulheres (27%), com idade média de $28,5 \pm 6,64$ anos. No que se refere à etnia, oito (40%) eram negras e 12 (60%) não negras, sendo a maioria não tabagista: 17 (85%). A média de gestações foi de $3,25 \pm 2,61$, sendo sete (35%) primíparas. Todas as mulheres (100%) estavam fazendo ou fizeram pré-natal. Não houve relatos de doenças crônicas, etilismo, uso de drogas ou gestação múltipla. Na amostra, sete (35%) tinham história de aborto.

A maioria das gestantes: nove (45%) realizou o exame de proteinúria, com média de 105,37 mg/24horas (mínimo de 82 mg/24h e máximo de 297 mg/24h); no entanto, 11 (55%) não fizeram o exame devido ao fato de o parto ocorrer no mesmo período, porém, elas realizaram análise qualitativa da urina através do exame tipo I. A média da pressão arterial sistólica foi de 155mmHg (mínima de 100mmHg e

máxima 230mmHg) e da diastólica 101mmHg (mínima de 80mmHg e máxima 150mmHg).

A maioria das gestações encerrou-se por partos cesarianos e apenas cinco (28%) por partos vaginais. Ao que se refere à idade gestacional no momento do parto, duas (17%) estavam com menos de 34 semanas, três (33%) entre 34 a 37 semanas e 13 (50%) com mais de 37 semanas. A média do índice de APGAR de primeiro minuto de vida dos recém-nascidos foi de 7,3 pontos (mínimo de 0 e máximo de 10 pontos) e do quinto minuto de 8,5 pontos (mínimo de 0 e máximo de 10 pontos); ainda, um (5%) era natimorto. A média do peso dos recém-nascidos foi de 3.072g±706g. Foram encaminhados ao alojamento conjunto 14 (70%) dos recém-nascidos, três (15%) foram internados na Unidade de Terapia Intensiva Neonatal (UTI-NEO) ou Berçário, um (5%) foi a óbito e dois (10%) ainda não nasceram.

O grupo 2 (HAC+PE) foi composto por 14 mulheres (12%) com idade média de 33±6,8 anos. No que se refere à etnia, quatro (28,6%) eram negras e dez (71,4%) não negras, sendo a maioria não tabagista: 13 (93%). A média de gestações foi de 2,5± 1,2, sendo três (21%) primíparas. Todas as mulheres (100%) estavam fazendo ou fizeram pré-natal, sendo que uma (7%) estava com gestação múltipla. Não houve histórico de etilismo e uso de drogas. Na amostra, duas (14%) tinham história de aborto e 14 (100%) relataram possuir alguma doença crônica.

Todas as 14 gestantes (100%) realizaram o exame de proteinúria, com média de 767 mg/24horas (mínimo de 312 mg/24h e máximo de 5009 mg/24h). A média da pressão arterial sistólica foi de 149mmHg (mínima de 100mmHg e máxima 180 mmHg) e da diastólica 96 mmHg (mínima de 70mmHg e máxima 120mmHg).

Todas as gestações encerraram-se por partos cesarianos, 14 (100%). Ao que se refere à idade gestacional no momento do parto, seis (43%) estavam entre 34 a 37 semanas e oito (57%) mais que 37 semanas. A média do índice de APGAR de primeiro minuto de vida dos recém-nascidos foi de 8,7 pontos (mínimo de 8 e máximo de 9 pontos) e do quinto minuto de 9,4 pontos (mínimo de 9 e máximo de 10 pontos). A média do peso dos recém-nascidos foi de 3.122±695g. Foram encaminhados ao alojamento conjunto oito (57%) dos recém-nascidos e seis (43%) foram internados na UTI-NEO ou no Berçário.

O grupo 3 (PE/E) foi composto por 54 (44% da amostra) pacientes portadoras de pré-eclâmpsia/eclâmpsia com idade média de 26,8±6,4 anos. No que se refere à etnia, sete (13%) eram negras e 47(87%) não negras. A média de gestações entre

as mulheres do grupo foi de $1,9 \pm 1,2$, sendo que 25 (46%) eram primíparas, 48 (89%) não tabagistas e quatro (7%) possuem alguma doença crônica. Todas as mulheres (100%) fizeram ou estavam fazendo pré-natal. Não houve relato de etilismo, uso de drogas ou gestação múltipla. Na amostra, 12 (22%) tinham história de aborto.

A maioria das gestantes, 46 (85%), realizou o exame de proteinúria, com média de 1965 mg/24horas (mínimo de 310 mg/24h e máximo de 7315 mg/24h); no entanto, oito (15%) não fizeram o exame devido ao fato de o parto ocorrer no mesmo período, porém, elas realizaram análise qualitativa da urina através do exame tipo I, tendo como resultados: uma (13%) ++/4+, seis (74%) +++/4+ e uma (13%) ++++/4+. A média da pressão arterial sistólica foi de 157mmHg (mínima de 100mmHg e máxima 210mmHg) e da diastólica 105mmHg (mínima de 70mmHg e máxima 140mmHg). Dentre algumas complicações maternas ocorreram, em sete mulheres (13%) a síndrome HELLP, em três (6%) iminência de eclâmpsia e duas (4%) evoluíram para eclâmpsia.

A maioria das gestações (45 - 85%) encerrou-se por partos cesarianos e apenas oito (15%) por partos vaginais. Ao que se refere à idade gestacional no momento do parto, 19 (36%) estavam com menos de 34 semanas, 19 (36%) entre 34 a 37 semanas e 15 (29%) mais que 37 semanas. A média do índice de APGAR de primeiro minuto de vida dos recém-nascidos foi de 7,8 pontos (mínimo de 0 e máximo de 10 pontos) e do quinto minuto de 8,8 pontos (mínimo de 0 e máximo de 10 pontos); ainda, dois (5,6%) eram natimortos. A média do peso dos recém-nascidos foi de 2157 ± 944 g. Foram encaminhados ao alojamento conjunto, 21 (39%) dos recém-nascidos, 30 (55%) foram internados na UTI-NEO ou no Berçário, dois (4%) foram a óbito e um (2%) ainda não nasceu. Neste grupo, 40 (74%) mulheres referiram história familiar de hipertensão e/ou hipertensão na gestação e as demais 14 (26%) desconhecem a informação ou não houve casos na família. Os relatos de hipertensão específica na gestação foram de 29 (54%).

O grupo 4 (C) foi constituído por 32 mulheres (27% da amostra) que apresentaram duas ou mais gestações sem intercorrências, com filhos saudáveis.

4.2 POLIMORFISMO DO GENE *VEGF* POSIÇÃO +936C/T

O DNA genômico, para o polimorfismo do gene *VEGF* +936C/T, foi amplificado com o *primer* específico, em todas as amostras e tendo como produto, fragmento de 208 pb (Figura 1).

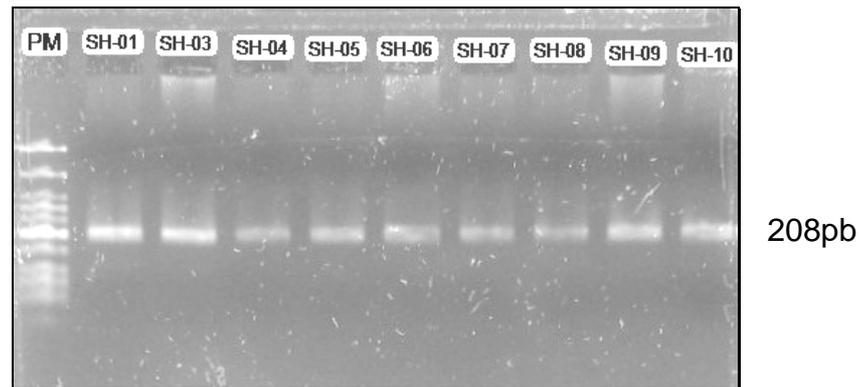


Figura 1- Gel de agarose 3% com os produtos de PCR para o polimorfismo do VEGF +936 C/T. Peso Molecular (PM)= 25 pb. Amostras 1 a 10 todas pertencentes ao grupo de estudo.

As amostras 32, 34, 36, 39, 41, 72, 78, 80 e 92 foram excluídas da análise devido à não amplificação do DNA. As 111 amostras amplificadas foram submetidas à digestão pela enzima *NlaIII*, por três horas a 37°C, seguida de eletroforese em gel de poliacrilamida 10%. A frequência dos genótipos nesta amostra foram: C/C 79 (71%), C/T 28 (25%) e T/T 4 (4%) e está representada no Gráfico 2.

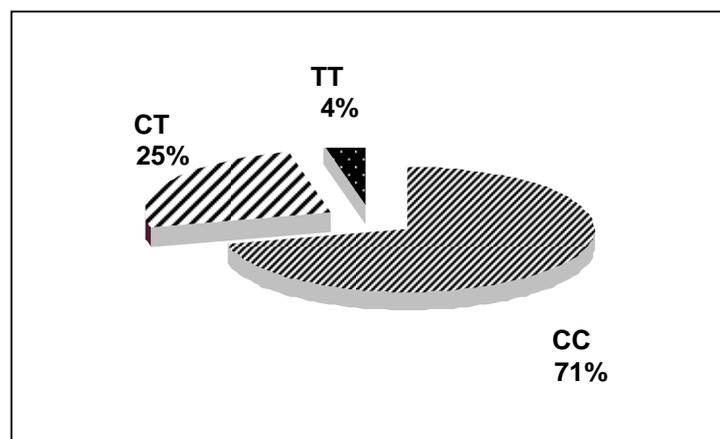


Gráfico 2- Frequência dos genótipos do polimorfismo VEGF +936C/T na amostra.

A Figura 2 mostra o produto de PCR após a digestão pela enzima de restrição *NlaIII* em gel de poliacrilamida a 10%. Os indivíduos com genótipos C/C apresentam uma banda com fragmentos de 208 pb, os C/T com três bandas e fragmentos de 208, 122 e 86 pb, os T/T com duas bandas de fragmentos de 122 e 86 pb.

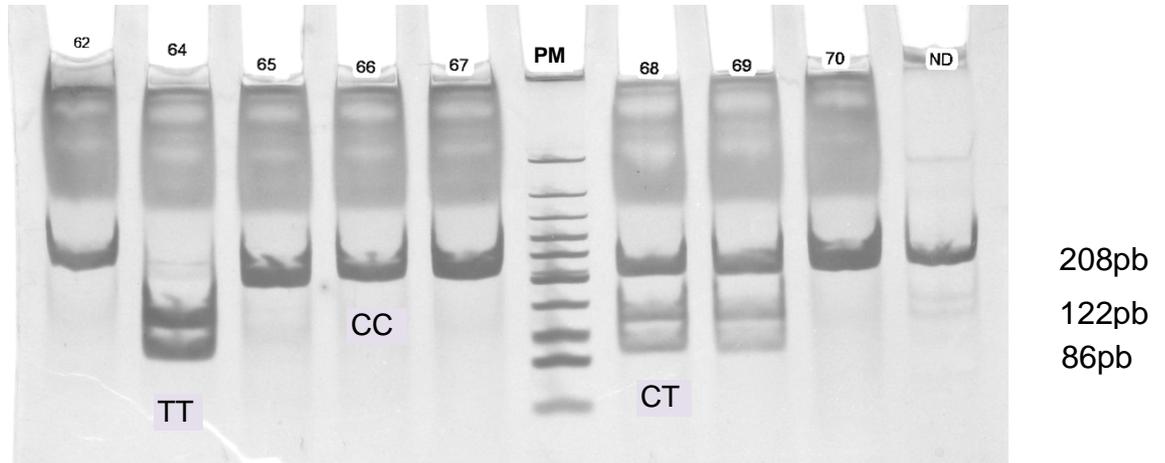


Figura 2- Gel de poliacrilamida 10% com os produtos de PCR (208pb), do polimorfismo VEGF +936C/T, digeridos pela enzima de restrição *NlaIII*, mostrando os genótipos T/T, C/T e CC. Peso Molecular (PM)=25pb; produto não digerido (ND).

As frequências dos genótipos C/C, C/T e T/T do polimorfismo do gene *VEGF* +936C/T nos grupos de estudo e do controle são mostradas na Tabela 1 e no Gráfico 3. As diferenças não foram estatisticamente significativas ($\chi^2=4,8$; $p=0,56$).

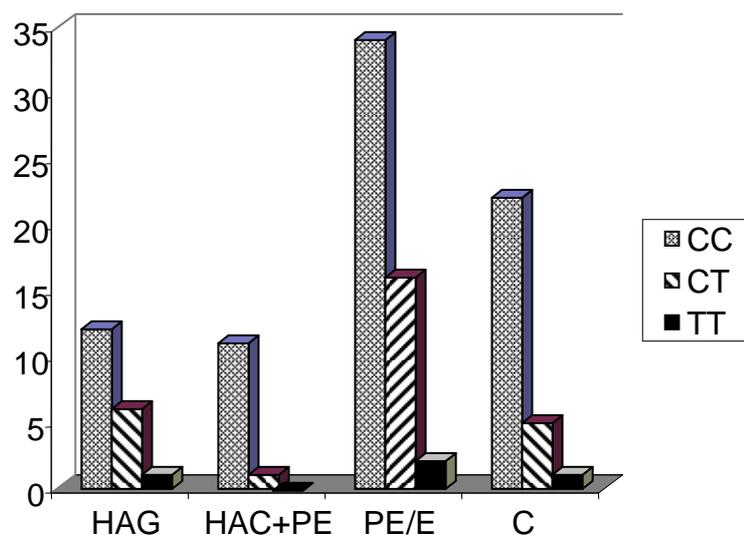


Gráfico 3- Frequência dos genótipos nos grupos de estudo e controle, do polimorfismo VEGF +936C/T. Hipertensão arterial gestacional (HAG); hipertensão arterial crônica superposta a pré-eclâmpsia (HAC+PE); pré-eclâmpsia/eclâmpsia (PE/E); grupo controle (C).

Tabela 1- Frequência dos genótipos nos grupos de estudo e controle, do polimorfismo VEGF +936C/T. Uberaba, 2010.

Condição	Genótipos						Total	
	C/C		C/T		T/T			
	N	%	N	%	N	%	N	%
HAG	12	15	6	21	1	25	19	17
HAC+PE	11	14	1	4	0	0	12	11
PE/E	34	43	16	57	2	50	52	47
C	22	28	5	18	1	25	28	25
Total	79	71,2	28	25,2	4	3,6	111	100

$\chi^2=4,8$; $p=0,56$

HAG=Hipertensão arterial gestacional; HAC+PE= hipertensão arterial crônica superposta a pré-eclâmpsia; PE/E =pré-eclâmpsia/eclâmpsia; C=grupo controle.

As frequências dos genótipos C/C, C/T e T/T do polimorfismo do gene *VEGF* +936C/T das síndromes hipertensivas da gestação e do grupo controle são mostradas na Tabela 2. As diferenças não foram estatisticamente significativas ($\chi^2=1,09$; $p=0,58$).

Tabela 2- Frequência dos genótipos nos grupos com síndromes hipertensivas da gestação e controle, do polimorfismo VEGF +936C/T. Uberaba, 2010.

Condição	Genótipos						Total	
	C/C		C/T		T/T			
	N	%	N	%	N	%	N	%
SHG	57	72	23	82	3	75	83	75
C	22	28	5	18	1	25	28	25
Total	79	71,2	28	25,2	4	3,6	111	100

$\chi^2=1,09$; $p=0,58$

SHG=Síndromes hipertensivas da gestação; C=grupo controle.

Considerando a presença ou não do alelo T, não foi observada diferença estatisticamente significativa ($\chi^2=4,6$; $p=0,19$), apesar de uma incidência maior nas portadoras de PE/E (56%) (Tabela 3).

Em relação à presença ou não do alelo T, analisando as SHG em conjunto e o grupo controle, observa-se uma frequência maior nas portadoras de SHG (81%), embora não tenha diferença estatisticamente significativa ($\chi^2=0,99$; $p=0,31$) (Tabela 4).

As frequências dos genótipos C/C, C/T e T/T do polimorfismo do gene *VEGF* +936C/T nos grupos de estudo são mostradas na Tabela 5. As diferenças não foram estatisticamente significativas ($\chi^2=3,6$; $p=0,47$).

Considerando a presença ou não do alelo T, não foi observada diferença estatisticamente significativa ($\chi^2=3,5$; $p=0,17$), apesar de uma frequência maior nas portadoras de PE/E (69%) (Tabela 6).

Tabela 3- Frequência do alelo T do polimorfismo do gene *VEGF* +936 C/T nos grupos de estudo e controle. Uberaba, 2010.

Condição	Genótipos				Total	
	C_/TT		CC			
	N	%	N	%	N	%
HAG	7	22	12	15	19	17
HAC+PE	1	3	11	14	12	11
PE/E	18	56	34	43	52	47
C	6	19	22	28	28	25
Total	32	28,8	79	71,2	111	100

$\chi^2=4,6$; $p=0,19$

HAG=Hipertensão arterial gestacional; HAC+PE= hipertensão arterial crônica superposta a pré-eclâmpsia; PE/E =pré-eclâmpsia/eclampsia; C=grupo controle.

Tabela 4- Frequência do alelo T do polimorfismo do gene *VEGF* +936 C/T nos grupos com síndromes hipertensivas da gestação e controle. Uberaba, 2010.

Condição	Genótipos				Total	
	C_/TT		CC		N	%
	N	%	N	%		
SHG	26	81	57	72	83	75
C	6	19	22	28	28	25
Total	32	28,8	79	71,2	111	100

$$\chi^2=0,99; p=0,31$$

SHG=Síndromes hipertensivas da gestação; C= grupo controle.

Tabela 5 - Frequência dos genótipos nos grupos de estudo, do polimorfismo *VEGF* +936C/T. Uberaba, 2010.

Condição	Genótipos						Total	
	C/C		C/T		T/T		N	%
	N	%	N	%	N	%		
HAG	12	21	6	26	1	33	19	23
HAC+PE	11	19	1	4	0	0	12	14
PE/E	34	60	16	70	2	67	52	63
Total	57	68,7	23	27,7	3	3,6	83	100

$$\chi^2=3,6; p=0,47$$

HAG=Hipertensão arterial gestacional; HAC+PE= hipertensão arterial crônica superposta a pré-eclâmpsia; PE/E =pré-eclâmpsia/eclâmpsia.

Tabela 6- Frequência do alelo T do polimorfismo do gene *VEGF* +936C/T nos grupos de estudo. Uberaba, 2010.

Condição	Genótipos				Total	
	C_/TT		CC		N	%
	N	%	N	%		
HAG	7	27	12	21	19	23
HAC+PE	1	4	11	19	12	14
PE/E	18	69	34	60	52	63
Total	26	31,3	57	68,7	83	100

$$\chi^2=3,5; p=0,17$$

HAG=Hipertensão arterial gestacional; HAC+PE= hipertensão arterial crônica superposta a pré-eclâmpsia; PE/E =pré-eclâmpsia/eclâmpsia.

Cada grupo de estudo foi avaliado separadamente em relação ao controle e para este polimorfismo não foi encontrada diferença estatística significativa (Tabela 7).

Tabela 7 – Resultados das análises estatísticas entre cada grupo de estudo e o controle, considerando o polimorfismo do gene *VEGF* +936C/T. Uberaba, 2010.

CONDIÇÃO	χ^2	p	
HAG x C	1,36	0,51	ns
HAG x C (presença do alelo T)	1,34	0,25	ns
HAC+PE x C	1,11	0,57	ns
HAC+PE x C (presença do alelo T)	0,99	0,32	ns
PE/E x C	1,61	0,45	ns
PE/E x C (presença do alelo T)	1,51	0,22	ns

HAG=Hipertensão arterial gestacional; HAC+PE= hipertensão arterial crônica superposta a pré-eclâmpsia; PE/E =pré-eclâmpsia/eclâmpsia; C= grupo controle; ns= não significativo.

4.3 POLIMORFISMO DO GENE *VEGF* POSIÇÃO -2578C/A

O DNA genômico, para o polimorfismo do gene *VEGF* -2578C/A, foi amplificado com o *primer* específico em todas as amostras e tendo como produto, fragmento de 267 pb (Figura 3).

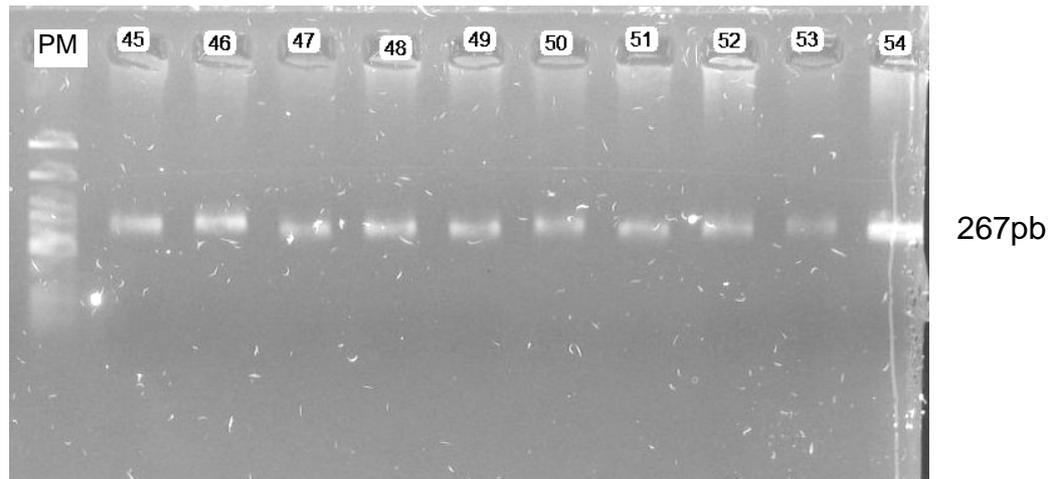


Figura 3- Gel de agarose 3% com os produtos de PCR para o polimorfismo do VEGF -2578C/A. Peso Molecular (PM)= 25 pb. Amostras 45 a 54, todas pertencentes ao grupo de estudo.

As amostras 32, 34, 36, 39, 41, 66, 72, 80, 92 e 94 foram excluídas da análise devido à não amplificação do DNA. Os genótipos encontrados nas 110 mulheres foram: C/C 51 (46%), C/A 45 (41%) e A/A 14 (13%) (Gráfico 4).

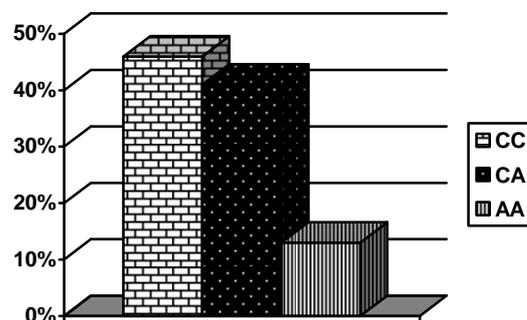


Gráfico 4- Frequência dos genótipos do polimorfismo VEGF -2578C/A na amostra.

O polimorfismo do VEGF -2578C/A foi comparado entre os indivíduos do grupo de estudo e do controle. A figura 4 mostra o produto de PCR após a digestão

pela enzima de restrição *Bgl*II em gel de poliacrilamida a 10%. Os indivíduos com genótipos C/C apresentam uma banda com fragmentos de 267 pb, os C/A com três bandas e fragmentos de 267, 208 e 60 pb, os A/A com duas bandas de fragmentos de 208 e 60 pb.

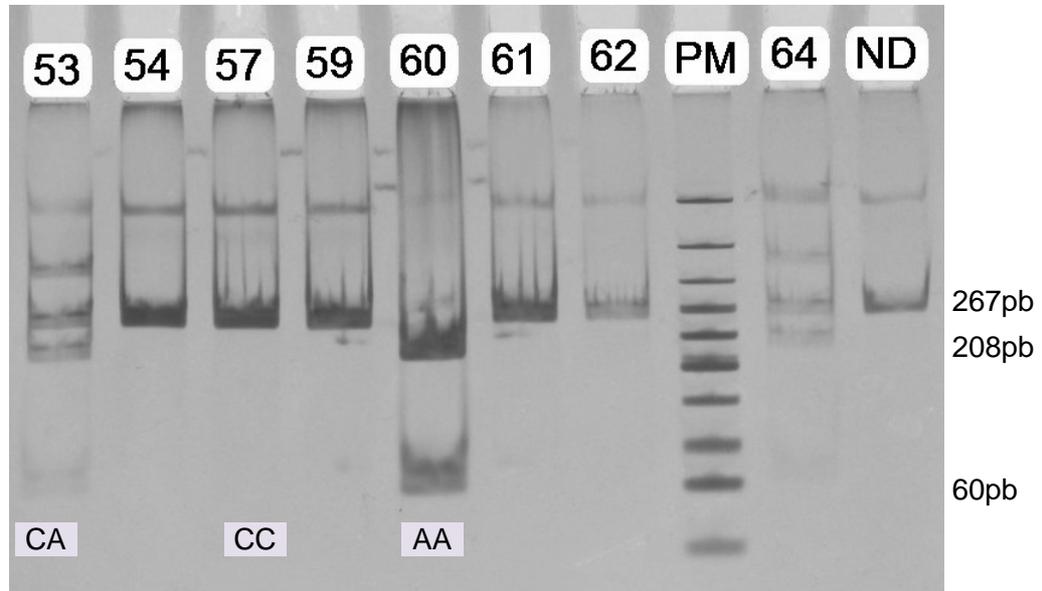


Figura 4- Gel de poliacrilamida 10% com os produtos de PCR (267pb), do polimorfismo VEGF -2578 C/A, digeridos pela enzima de restrição *Bgl*II, mostrando os genótipos A/A, C/A e C/C. Peso Molecular (PM)=25pb; produto não digerido (ND).

As frequências dos genótipos C/C, C/A e A/A do polimorfismo do gene *VEGF* -2578C/A nos grupos de estudo e do controle são mostradas na Tabela 8. As diferenças não foram estatisticamente significativas ($\chi^2=8,2$; $p=0,2$).

As frequências dos genótipos C/C, C/A e A/A do polimorfismo do gene *VEGF* -2578C/A das síndromes hipertensivas da gestação e do grupo controle são mostradas na Tabela 9. As diferenças não foram estatisticamente significativas ($\chi^2=5,05$; $p=0,08$).

Considerando a presença ou não do alelo A, não foi observada diferença estatisticamente significativa ($\chi^2=7,2$; $p=0,65$), apesar de uma frequência maior no grupo de PE/E (37%) (Tabela 10).

Em relação à presença ou não do alelo A, analisando as SHG em conjunto e o grupo controle, observa-se uma frequência maior no grupo das SHG (69%), embora não tenha diferença estatisticamente significativa ($\chi^2=2,4$; $p=0,11$) (Tabela 11).

Tabela 8- Frequência dos genótipos nos grupos de estudo e controle, do polimorfismo VEGF-2578 C/A. Uberaba, 2010.

Condição	Genótipos						Total	
	C/C		C/A		A/A			
	N	%	N	%	N	%	N	%
HAG	7	14	8	18	4	29	19	17
HAC+PE	5	10	5	11	2	14	12	11
PE/E	30	59	16	35,5	6	43	52	47
C	9	17	16	35,5	2	14	27	25
Total	51	46,3	45	41	14	12,7	110	100

$$\chi^2=8,2; p=0,2$$

HAG=Hipertensão arterial gestacional; HAC+PE= hipertensão arterial crônica superposta a pré-eclâmpsia; PE/E =pré-eclâmpsia/eclâmpsia; C=grupo controle.

Tabela 9- Frequência dos genótipos nos grupos com síndromes hipertensivas da gestação e controle, do polimorfismo VEGF -2578C/A. Uberaba, 2010.

Condição	Genótipos						Total	
	C/C		C/A		A/A			
	N	%	N	%	N	%	N	%
SHG	42	82	29	64	12	86	83	75
C	9	18	16	36	2	14	27	25
Total	51	46,3	45	41	14	12,7	110	100

$$\chi^2=5,05; p=0,08$$

SHG= Síndromes hipertensivas da gestação; C= grupo controle.

Tabela 10- Frequência do alelo A do polimorfismo do gene *VEGF* -2578C/A nos grupos de estudo e controle. Uberaba, 2010.

Condição	Genótipos				Total	
	C_/AA		CC			
	N	%	N	%	N	%
HAG	12	20	7	14	19	17
HAC+PE	7	12	5	10	12	11
PE/E	22	37	30	59	52	47
C	18	31	9	17	27	25
Total	59	53,6	51	46,4	110	100

$\chi^2=7,2$; $p=0,65$; HAG=Hipertensão arterial gestacional; HAC+PE= hipertensão arterial crônica superposta a pré-eclâmpsia; PE/E =pré-eclâmpsia/eclampsia; C=grupo controle.

Tabela 11- Frequência do alelo A do polimorfismo do gene *VEGF* -2578C/A nos grupos com síndromes hipertensivas da gestação e controle. Uberaba, 2010.

Condição	Genótipos				Total	
	C_/AA		CC			
	N	%	N	%	N	%
SHG	41	69	42	82	83	75
C	18	31	9	18	27	25
Total	59	53,6	51	46,4	110	100

$\chi^2=2,4$; $p=0,11$
SHG= Síndromes hipertensivas da gestação; C= grupo controle.

As frequências dos genótipos C/C, C/A e A/A do polimorfismo do gene *VEGF* -2578C/A nos grupos de estudo são mostradas na Tabela 12. As diferenças não foram estatisticamente significativas ($\chi^2=3$; $p=0,55$).

Considerando a presença ou não do alelo A, não foi observada diferença estatisticamente significativa ($\chi^2=2,9$; $p=0,2$), apesar de uma incidência maior no grupo de PE/E (54%), conforme Tabela 13.

Tabela 12- Frequência dos genótipos nos grupos de estudo, do polimorfismo VEGF-2578 C/A. Uberaba, 2010.

Condição	Genótipos						Total	
	C/C		C/A		A/A			
	N	%	N	%	N	%	N	%
HAG	7	17	8	27	4	33	19	23
HAC+PE	5	12	5	17	2	17	12	14
PE/E	30	71	16	56	6	50	52	63
Total	42	50,6	29	35	12	14,4	83	100

$\chi^2=3$; $p=0,55$

HAG=Hipertensão arterial gestacional; HAC+PE= hipertensão arterial crônica superposta a pré-eclâmpsia; PE/E =pré-eclâmpsia/eclâmpsia.

Tabela 13- Frequência do alelo A do polimorfismo do gene VEGF -2578C/A nos grupos de estudo. Uberaba, 2010.

Condição	Genótipos				Total	
	C_/AA		CC			
	N	%	N	%	N	%
HAG	12	29	7	17	19	23
HAC+PE	7	17	5	12	12	14
PE/E	22	54	30	71	52	63
Total	41	100	42	100	83	100

$\chi^2=2,9$; $p=0,2$

HAG=Hipertensão arterial gestacional; HAC+PE= hipertensão arterial crônica superposta a pré-eclâmpsia; PE/E =pré-eclâmpsia/eclâmpsia.

Cada grupo de estudo foi avaliado separadamente em relação ao controle, sendo que para o polimorfismo -2578C/A não foi encontrado diferença estatística significativa para a hipertensão arterial gestacional e para a hipertensão crônica superposta a pré-eclâmpsia. No entanto, encontrou-se diferença significativa entre os grupos da pré-eclâmpsia e controle, no que se refere à distribuição dos genótipos e à presença do alelo A (Tabela 14). O grupo controle apresentou percentual maior (67%) para a presença do alelo A em relação ao grupo de pré-eclâmpsia (42%).

Tabela 14- Resultados das análises estatísticas entre cada grupo de estudo e o controle, considerando o polimorfismo do gene *VEGF* -2578C/A. Uberaba, 2010.

CONDIÇÃO	χ^2	p	
HAG x C	2,26	0,32	ns
HAG x C (presença do alelo A)	0,06	0,80	ns
HAC+PE x C	1,33	0,51	ns
HAC+PE x C (presença do alelo A)	0,25	0,61	ns
PE/E x C	5,99	0,04*	s
PE/E x C (presença do alelo A)	4,22	0,04*	s

HAG=Hipertensão arterial gestacional; HAC+PE= hipertensão arterial crônica superposta a pré-eclâmpsia; PE/E =pré-eclâmpsia/eclâmpsia; C= grupo controle; ns= não significativo; s=significativo.

4.4 COMBINAÇÃO GENOTÍPICA

Analisando a combinação genotípica dos polimorfismos do gene *VEGF* +936C/A e *VEGF* -2578C/A e comparando os grupos de estudo e controle, não houve diferença estatisticamente significativa ($\chi^2=18,3$; $p=0,79$) (Tabela 15). Entretanto, observa-se uma frequência maior da combinação CCCA na amostra (33%). Considerando os grupos de SHG e controle separadamente, a combinação mais frequente foi respectivamente: CCCC (31%) e CCCA (50%) (Tabela 16).

Tabela 15- Frequência da combinação genotípica dos polimorfismos VEGF +936C/T e -2578C/A entre indivíduos dos grupos de estudo e do controle. Uberaba, 2010.

Combinação Genotípica VEGF +936/-2578	Condição								Total	
	HAG		HAC+PE		PE/E		C			
	N	%	N	%	N	%	N	%	N	%
CCAA	2	10,5	2	17	4	8	2	8	10	9
CCCA	6	32	5	42	12	23	13	50	36	33
CCCC	4	21	4	33	18	34	6	23	32	29
CTAA	1	5	0	0	2	4	0	0	3	3
CTCA	2	10,5	0	0	3	6	1	4	6	6
CTCC	3	16	1	8	11	21	3	11	18	16
TTAA	1	5	0	0	0	0	0	0	1	1
TTCA	0	0	0	0	1	2	1	4	2	2
TTCC	0	0	0	0	1	2	0	0	1	1
Total	19	17,4	12	11	52	47,7	26	23,9	109	100

$$\chi^2=18,3; p=0,79$$

HAG=Hipertensão arterial gestacional; HAC+PE= hipertensão arterial crônica superposta a pré-eclâmpsia; PE/E =pré-eclâmpsia/eclâmpsia; C=grupo controle.

Tabela 16- Frequência da combinação genotípica dos polimorfismos VEGF +936C/T e -2578C/A entre mulheres com síndromes hipertensivas e controle. Uberaba, 2010.

Combinação Genotípica VEGF +936/-2578	Condição				Total	
	SHG		C			
	N	%	N	%	N	%
CCAA	8	10	2	8	10	9
CCCA	23	28	13	50	36	33
CCCC	26	31	6	23	32	29
CTAA	3	4	0	0	3	3
CTCA	5	6	1	4	6	6
CTCC	15	18	3	11	18	16
TTAA	1	1	0	0	1	1
TTCA	1	1	1	4	2	2
TTCC	1	1	0	0	1	1
Total	83	76	26	24	109	100

$\chi^2=6,5$; $p=0,59$
 SHG= Síndromes hipertensivas da gestação; C= grupo controle.

Analisando a combinação genotípica dos polimorfismos do gene *VEGF* +936C/A e *VEGF* -2578C/A e comparando os grupos de estudo, não houve diferença estatisticamente significativa ($\chi^2=10,5$; $p=0,8$). Entretanto, observa-se uma frequência maior da combinação CCCC na amostra (31%). Considerando os grupos de SHG (HAG, HAC+PE e PE/E), a combinação mais frequente foi respectivamente: CCCA (31%), CCCA (42%) e CCCC(34%), conforme Tabela 17.

Tabela 17- Frequência da combinação genotípica dos polimorfismos VEGF +936C/T e -2578C/A nos indivíduos do grupo de estudo. Uberaba, 2010.

Combinação Genotípica VEGF +936/-2578	Condição							
	HAG		HAC+PE		PE/E		Total	
	N	%	N	%	N	%	N	%
CCAA	2	11	2	17	4	8	8	10
CCCA	6	31	5	42	12	23	23	28
CCCC	4	21	4	33	18	34	26	31
CTAA	1	5	0	0	2	4	3	4
CTCA	2	11	0	0	3	6	5	6
CTCC	3	16	1	8	11	21	15	18
TTAA	1	5	0	0	0	0	1	1
TTCA	0	0	0	0	1	2	1	1
TTCC	0	0	0	0	1	2	1	1
Total	19	23	12	14,4	52	62,6	83	100

$$\chi^2=10,5; p=0,8$$

HAG=Hipertensão arterial gestacional; HAC+PE= hipertensão arterial crônica superposta a pré-eclâmpsia; PE/E =pré-eclâmpsia/eclâmpsia.

5 DISCUSSÃO

O VEGF é um importante fator angiogênico e representa papel fundamental como regulador na proliferação celular endotelial e permeabilidade vascular. O gene que codifica o *VEGF* é altamente polimórfico e seus polimorfismos funcionais podem ser úteis como indicadores de suscetibilidade para as síndromes hipertensivas da gestação (SHIM et al., 2007).

Polimorfismos funcionais possuem um efeito na regulação da expressão do gene, podendo influenciar nas diferenças individuais da suscetibilidade e gravidade da doença, e atuam sozinhos ou em conjunto com outros polimorfismos (JIN et al., 2005). Segundo alguns autores, a expressão do gene *VEGF* está aumentada na pré-eclâmpsia (LYALL et al., 1997; GEVA et al., 2002; ZHOU et al., 2002). Alguns estudos sugerem uma forte relação entre variantes polimórficas do gene *VEGF* e síndromes hipertensivas gestacionais, no entanto, outros mostram resultados discrepantes.

No presente estudo foram analisadas as frequências das variantes polimórficas do gene *VEGF* nas posições +936C/T e -2578C/A em portadoras de síndromes hipertensivas da gestação e grupo controle.

Considerando os três genótipos (C/C, C/T e T/T) do gene *VEGF* +936C/T, não foi observada diferença estatisticamente significativa. Contudo, o genótipo C/C apresentou maior frequência na amostra (71%). Resultados semelhantes foram observados em um estudo realizado com mulheres gregas, sendo 42 mulheres com pré-eclâmpsia e 73 do grupo controle. Entretanto, em um estudo na Coreia verificou-se que o genótipo C/C esteve mais presente no grupo controle (209 mulheres) e na pré-eclâmpsia (110 pacientes), com diferença estatisticamente significativa (SHIM et al., 2007). No presente estudo o grupo controle é pequeno, não permitindo, assim, verificar resultados estatisticamente significativos.

Em relação à presença do alelo T observou-se uma maior frequência no grupo das pacientes com pré-eclâmpsia (56%), mas essa diferença não foi estatisticamente significativa. Dois estudos encontraram incidência maior do alelo T no grupo de pacientes com pré-eclâmpsia em relação ao controle; no entanto, um apresentou diferença estatisticamente significativa (SHIM et al., 2007) e o outro não (PAPAZOGLU et al., 2004).

Considerando os três genótipos (C/C, C/A e A/A) do gene *VEGF* -2578C/A, não houve diferença estatisticamente significativa, sendo que o C/C apresentou maior frequência na amostra total (46%). Analisando os grupos separadamente observou-se frequências diferentes: C/A na HAG; C/C e C/A na HAC+PE; C/C na PE+E; e C/A no C. Bányász et al. (2006) encontraram resultados semelhantes em um estudo realizado na Hungria com 84 primíparas com pré-eclâmpsia grave e 96 primíparas saudáveis.

Já em um estudo realizado com mulheres brasileiras (SANDRIM et al., 2009), constituído de três grupos: HAG (101 pacientes), PE (94 pacientes) e controle (108 pacientes) observou-se uma incidência maior do genótipo C/A na amostra. Considerando os grupos HAG, PE e Controle evidenciou-se maior frequência nos genótipos C/A, C/A e C/C, respectivamente; e Papazoglou et al. (2004) encontraram uma frequência maior do genótipo C/A nos grupos controle e de pré-eclâmpsia; ambos sem diferença estatisticamente significativa. Apesar dos resultados do presente trabalho não mostrarem, também, diferença estatística significativa entre a frequência genotípica dos grupos, os genótipos observados diferem dos encontrados por esses autores. Considerando que as síndromes hipertensivas da gestação é uma doença complexa e vários fatores podem estar envolvidos para o seu desenvolvimento, a correlação da expressão do gene *VEGF* com os genótipos poderia auxiliar no entendimento dessa condição clínica.

Em relação à presença do alelo A notou-se uma maior frequência no grupo das pacientes com pré-eclâmpsia (37%), quando foram analisados grupo controle em relação às síndromes hipertensivas da gestação em conjunto, mas a diferença não foi significativa. No entanto, avaliando separadamente os grupos de estudo em relação ao controle, observa-se diferença significativa entre pré-eclâmpsia e controle, sendo que a presença do alelo A foi significativamente mais frequente no grupo controle (67%). Apesar de Nagy et al. (2008) observarem, em síndrome HELLP, também a presença do alelo A mais frequente no grupo controle, a diferença não foi significativa. Dados contraditórios foram encontrados por Sandrim et al. (2009), em que a presença do alelo A foi mais frequente nas pacientes com hipertensão gestacional, porém a diferença não foi significativa.

Considerando apenas os grupos com síndromes hipertensivas da gestação, os três genótipos (C/C, C/T e T/T) do *VEGF* +936 C/T, não houve também diferença estatisticamente significativa. Contudo, o C/C apresentou maior frequência (68,7%).

No que se refere à presença do alelo T, a maior frequência foi no grupo de pré-eclâmpsia (69%).

Avaliando os três genótipos (C/C, C/A e A/A) do VEGF -2578C/A, no grupo de estudo, não houve diferença significativa. Contudo, o C/C apresentou maior frequência (50,6%). No que se refere à presença do alelo A, a maior incidência foi no grupo de pré-eclâmpsia (54%), resultados diferentes dos observados por Sandrim et al. (2009).

Apesar de não ter encontrado associação significativa entre o polimorfismo VEGF na posição +936C/T com as síndromes hipertensivas da gestação, o estudo continua; será aumentado o tamanho da amostra tanto das mulheres com a síndrome como do grupo controle. Em estudos de associação genética é necessário considerar algumas falhas, como possíveis vieses na seleção dos participantes, desconhecimento da função do gene e a necessidade de grandes amostras. Mesmo assim, resultados negativos devem ser considerados, bem como a realização de metanálises para validação dos achados (TRAINA et al., 2010).

Neste estudo observa-se que a distribuição dos genótipos do polimorfismo VEGF na posição -2578C/A foi significativamente diferente entre mulheres com pré-eclâmpsia e as do grupo controle, sendo a presença do alelo A mais frequente no grupo controle, sugerindo a possibilidade da portadora do alelo A apresentar menor suscetibilidade para o desenvolvimento de pré-eclâmpsia. É possível que o número reduzido do grupo controle esteja influenciando nestes resultados, que podem ser modificados após o aumento da amostra.

O objetivo da identificação dos mecanismos fisiopatológicos das síndromes hipertensivas da gestação visa a estratégias futuras para a prevenção e o tratamento dessas condições (CHAPPELL; MORGAN, 2006). Portanto, a composição de uma amostra maior, mais homogênea e utilizando outros polimorfismos contribuirão para uma melhor compreensão dos fatores genéticos envolvidos nessas síndromes.

Considerando que as síndromes hipertensivas da gestação são um problema de saúde pública, a identificação de polimorfismos genéticos associados à suscetibilidade para essa condição clínica, possibilitará um cuidado diferenciado às gestantes. Conseqüentemente, as complicações serão menores para o binômio mãe-filho, contribuindo para a redução da morbi-mortalidade materno-fetal.

6 CONCLUSÃO

Na presente casuística não há associação do polimorfismo do gene *VEGF* +936C/T com as síndromes hipertensivas da gestação, embora haja uma frequência maior do alelo T no grupo de pacientes com pré-eclâmpsia.

Para o polimorfismo do gene *VEGF* -2578C/A observa-se diferença significativa entre os grupos controle e pré-eclâmpsia, sendo que o alelo A apresentou percentual maior (67%) no controle.

Mais pesquisas são necessárias nesta área com uma amostra maior e análise de outros polimorfismos.

REFERÊNCIAS

- BÁNYÁSZ, I. et al. Genetic polymorphisms of vascular endothelial growth factor in severe pré-eclampsia. **Mol. Hum. Reprod.**, Oxford, v. 12, n. 4, p. 233-236, 2006.
- BARTON, J. R.; SIBAI, B. M. Prediction and prevention of recurrent preeclampsia. **Obstet. Gynecol.**, New York, v. 112, n. 2, pt. 1, p. 359-72, 2008.
- BDOLAH, Y. et al. Circulating angiogenic proteins in trisomy 13. **Am. J. Obstet. Gynecol.**, St. Louis, v. 194, n. 1, p. 239-45, 2004.
- BDOLAH, Y. et al. Twin pregnancy and the risk of preeclampsia: bigger placenta or relative ischemia? **Am. J. Obstet. Gynecol.**, St. Louis, v.198, n. 4, p. 428.e1-428.e6, 2008.
- BELLAMY, L. et al. Pre-eclampsia and risk of cardiovascular disease and cancer in later life: systematic review and meta-analysis. **BMJ**, London, v. 335, n. 7627, p. 974, 2007.
- CANTO-CETINA, T. et al. Analysis of C-850T and G-308A polymorphisms of the tumor necrosis factor-alpha gene in Maya-Mestizo women with preeclampsia. **Hypertens. Pregnancy**, New York, v. 26, n. 3, p. 283-91, 2007.
- CARR, D. B. et al. A sister's risk: family history as a predictor of preeclampsia. **Am. J. Obstet. Gynaecol.**, Bristol, v. 193, n. 3S, p. 965-72, 2005.
- CARTY, D. M.; DELLES, C.; DOMINICZAK, A. F. Novel biomarkers for predicting preeclampsia. **Trends Cardiovasc. Med.**, New York, v. 18, n. 5, p. 186-94, 2008.
- _____. Preeclampsia and future maternal health. **J. Hypertens.**, London, v. 28, n. 7, p. 1349-55, 2010.
- CHAMBERS, J. C. et al. Association of maternal endothelial dysfunction with preeclampsia. **JAMA**, Chicago, v. 285, n. 12, p. 1607-12, 2001.
- CHAPPELL, S.; MORGAN, L. Searching for genetic clues to the causes of pre-eclampsia. **Clin. Sci.**, London, v. 110, n. 4, p. 443-58, 2006.
- CHESLEY, L. C.; COOPER, D. W. Genetics of hypertension in pregnancy: possible single gene control of pre-eclampsia and eclampsia in the descendants of eclamptic women. **Br. J. Obstet. Gynaecol.**, Oxford, v. 93, n. 9, p. 898-908, 1986.
- CNATTINGIUS, S. et al. Maternal and fetal genetic factors account for most of familial aggregation of pre-eclampsia: a population-based Swedish cohort study. **Am. J. Med. Genet. A.**, Oxford, v. 130A, n. 4, p. 365-71, 2004.

DÁVALOS, I. P. et al. Methylenetetrahydrofolate reductase C677T polymorphism and Factor V Leiden variant in Mexican women with preeclampsia/eclampsia. **Blood Cells Mol. Dis.**, La Jolla, v. 35, n. 1, p. 66-9, 2005.

DIZON-TOWNSON, D. S. et al. The factor V Leiden mutation may predispose women to severe preeclampsia. **Am. J. Obstet. Gynecol.**, St. Louis, v. 175, n. 4, pt. 1, p. 902-5, 1996.

DOUGLAS, K. A.; REDMAN, C. W. Eclampsia in the United Kingdom. **BMJ**, London, v. 309, n. 6966, p. 1395-400, 1994.

DUCKITT, H.; HARRINGTON, D. Risk factors for pre-eclampsia at antenatal booking: systematic review of controlled studies. **Br. Med. J.**, London, v. 330, n. 7491, p. 549-50, 2005.

DULEY, L. The global impact of pre-eclampsia and eclampsia. **Semin. Perinatol.**, New York, v. 33, n. 3, p. 130-7, 2009.

ENGLAND, L. J. et al. Smoking before pregnancy and risk of gestational hypertension and preeclampsia. **Am. J. Obstet. Gynecol.**, St. Louis, v. 186, n. 5, p. 1035-40, 2002.

FERRARA, N.; HENZEL, W. J. Pituitary follicular cells secrete a novel heparin-binding growth factor specific for vascular endothelial cells. **Biochem. Biophys. Res. Commun.**, New York, v. 161, n. 2, p. 851-8, 1989.

FERRARA, N.; GERBER, H. P.; LECOUTER, J. The biology of VEGF and its receptors. **Nat. Med.**, New York, v. 9, n. 6, p. 669-76, 2003.

FUNAI, E. F. et al. Long-term mortality after pre-eclampsia. **Epidemiology**, Cambridge, v. 16, n. 2, p. 206-15, 2005.

GADONSKI, G.; IRIGOYEN, M. C. C. Aspectos fisiológicos da hipertensão arterial na gravidez. **Hipertensão**, São Paulo, v. 11, n. 1, p. 4-8, 2008.

GAIO, D. S. et al. Hypertensive disorders in pregnancy: frequency and associated factors in a cohort of Brazilian women. **Hypertens. Pregnancy**, New York, v. 20, n. 3, p. 269-81, 2001.

GEVA, E. et al. Human placental vascular development: vasculogenic and angiogenic (branching and nonbranching) transformation is regulated by vascular endothelial growth factor-A, angiopoietin-1, and angiopoietin-2. **J. Clin. Endocrinol. Metab.**, Springfield, v. 87, n. 9, p. 4213-24, 2002.

GILBERT, W. M.; YOUNG, A. L.; DANIELSEN, B. Pregnancy outcomes in women with chronic hypertension: a population-based study. **J. Reprod. Med.**, Chicago, v. 52, n. 11, p. 1046-51, 2007.

HEISKANEN, J. et al. Polymorphism in the Tumor Necrosis Factor- α Gene in Women with Preeclampsia. **J. Assist. Reprod. Genet.**, New York, v. 19, n. 5, p. 220-3, 2002.

HERTIG, A.; LIERE, P. New markers in preeclampsia. **Clin. Chim. Acta**, Amsterdam, v. 411, n. 21-22, p. 1591-5, 2010.

JIM, B. et al. Hypertension in pregnancy: a comprehensive update. **Cardiol. Rev.**, Baltimore, v. 18, n. 4, p. 178-89, 2010.

JIN, Q. et al. Vascular endothelial growth factor polymorphisms in relation to breast cancer development and prognosis. **Clin. Cancer Res.**, Denville, v. 11, n. 10, p. 3647-53, 2005.

KABBINAVAR, F. et al. Phase II, randomized trial comparing bevacizumab plus fluorouracil (FU)/leucovorin (LV) with FU/LV alone in patients with metastatic colorectal cancer. **J. Clin. Oncol.**, New York, v. 21, n. 1, p. 60-5, 2003.

KAISER, T. et al. Association of the TNF2 allele with eclampsia. **Gynecol. Obstet. Invest.**, New York, v. 57, n. 4, p. 204-9, 2004.

KASAHARA, Y. et al. Inhibition of VEGF receptors causes lung cell apoptosis and emphysema. **J. Clin. Invest.**, New Haven, v. 106, n. 11, p. 1311-9, 2000.

KENNY, L.; BAKER, P. N. Maternal pathophysiology in pre-eclampsia. **Baillieres Best Pract. Res. Clin. Obstet. Gynaecol.**, London, v. 13, n. 1, p. 59-75, 1999.

KNIGHT, M. et al. Shedding of syncytiotrophoblast microvilli into the maternal circulation in pre-eclamptic pregnancies. **Br. J. Obstet. Gynaecol.**, London, v. 105, n. 6, p. 632-40, 1998.

KOGA, K. et al. Elevated serum soluble fms-like tyrosine kinase 1 (sFlt1) level in women with hydatidiform mole. **Fertil. Steril.**, New York, v. 94, n. 1, p. 305-8, 2009.

KUPFERMINC, M. J. et al. Severe preeclampsia and high frequency of genetic thrombophilic mutations. **Obstet. Gynecol.**, New York, v. 96, n. 1, p. 45-9, 2000.

LAM, C.; LIM, K. H.; KARUMANCHI, S. A. Circulating angiogenic factors in the pathogenesis and prediction of preeclampsia. **Hypertension**, Dallas, v. 46, n. 5, p. 1077-85, 2005.

LEE, E. S. et al. The levels of circulating vascular endothelial growth factor and soluble FLT-1 in pregnancies complicated by preeclampsia. **J. Korean Med. Sci.**, Seoul, v. 22, n. 1, p. 94-8, 2007.

LEVINE, R. J. et al. Circulating angiogenic factors and the risk of preeclampsia. **N. Engl. J. Med.**, Boston, v. 350, n. 7, p. 672-83, 2004.

LIE, R. T. et al. Fetal and maternal contributions to risk of pre-eclampsia: population based study. **BMJ**, London, v. 316, n. 7141, p. 1343-7, 1998.

LYALL, F. et al. Suppression of serum vascular endothelial growth factor immunoreactivity in normal pregnancy and in pre-eclampsia. **Br. J. Obstet. Gynaecol.**, London, v. 104, n. 2, p. 223-8, 1997.

MAYNARD, S. E. et al. Excess placental soluble fms-like tyrosine kinase 1 (sFlt1) may contribute to endothelial dysfunction, hypertension, and proteinuria in preeclampsia. **J. Clin. Invest.**, New Haven, v. 111, n. 5, p. 649-58, 2003.

MEDICA, I.; KASTRIN, A.; PETERLIN, B. Genetic polymorphisms in vasoactive genes and preeclampsia: a meta-analysis. **Eur. J. Obstet. Gynecol. Reprod. Biol.**, Amsterdam, v. 131, n. 2, p. 115-26, 2007.

MEEKINS, J. W. et al. A study of placental bed spiral arteries and trophoblast invasion in normal and severe pre-eclamptic pregnancies. **Br. J. Obstet. Gynaecol.**, London, v. 101, n. 8, p. 669-74, 1994.

MEIS, P. J. et al. The preterm prediction study: risk factors for indicated preterm births: Maternal-Fetal Medicine Units Network of the National Institute of Child Health and Human Development. **Am. J. Obstet. Gynecol.**, St. Louis, v. 178, n. 3, p. 562-7, 1998.

MORGAN, T.; WARD, K. New insights into the genetics of preeclampsia. **Semin. Perinatol.**, New York, v. 23, n. 1, p. 14-23, 1999.

MORRIS, N. H.; EATON, B. M.; DEKKER, G. Nitric oxide, the endothelium, pregnancy and pre-eclampsia. **Br. J. Obstet. Gynaecol.**, London, v. 1996, n. 1, p. 4-15, 1996.

MURPHY, D. J.; STIRRAT, G. M. Mortality and morbidity associated with early-onset preeclampsia. **Hypertens. Pregnancy**, New York, v. 19, n. 2, p. 221-31, 2000.

MUTTER, W. P.; KARUMANCHI, S. A. Molecular Mechanisms of Preeclampsia. **Microvasc. Res.**, New York, v. 75, n. 1, p. 1-8, 2007.

NAGY, B. et al. Vascular endothelial growth factor (VEGF) polymorphisms in HELLP syndrome patients determined by quantitative real-time PCR and melting curve analyses. **Clin. Chim. Acta**, Amsterdam, v. 389, n. 1-2, p. 126-31, 2008.

NHBPEP. Report of National High Blood Pressure Education Program Working Group on High Blood Pressure in Pregnancy. **Am. J. Obstet. Gynecol.**, St. Louis, v. 183, n. 1, p. S1-S22, 2000.

PAPAZOGLU, D. et al. Vascular endothelial growth factor gene polymorphisms and pre-eclampsia. **Mol. Hum. Reprod.**, Oxford, v. 10, n. 5, p. 321-4, 2004.

PATEL, T. V. et al. A preeclampsia-like syndrome characterized by reversible hypertension and proteinuria induced by the multitargeted kinase inhibitors sunitinib and sorafenib. **J. Natl. Cancer Inst.**, Bethesda, v. 100, n. 4, p. 282-4, 2008.

PAZARBAZI, A. et al. Polymorphisms in the Tumor Necrosis Factor- α Gene in Turkish Women with Pre-eclampsia and Eclampsia. **Acta Med. Okajama**, v. 61, n. 3, p. 153-60, 2007.

PEGORARO, R. J. et al. Methylenetetrahydrofolate reductase gene polymorphisms in black South Africans and the association with pre-eclampsia. **Acta Obstet. Gynecol. Scand.**, Lund, v. 83, n. 5, p. 449-54, 2004.

PERAÇOLI, J. C.; PARPINELLI, M. A. Síndromes hipertensivas da gestação: identificação de casos graves. **Rev. Bras. Ginecol. Obstet.**, São Paulo, v. 27, n. 10, p. 627-34, 2005.

PFAB, T. et al. Impact of genes related to immune tolerance and inflammation (tumour necrosis factor- α , interleukin-6) on blood pressure, protein excretion and oedema in pregnancy. **J. Hypertens.**, London, v. 23, n. 12, p. 2187-91, 2005.

POWERS, R. W. et al. Methylenetetrahydrofolate reductase polymorphism, folate, and susceptibility to pre-eclampsia. **J. Soc. Gynecol. Investig.**, New York, v. 6, n. 2, p. 74-9, 1999.

PRASMUSINTO, D. et al. The methylenetetrahydrofolate reductase 677C \rightarrow T polymorphism and pre-eclampsia in two populations. **Obstet. Gynecol.**, New York, v. 99, n. 6, p. 1085-92, 2002.

ROBERTS, J. M. et al. Summary of the NHLBI Working Group on Research on Hypertension During Pregnancy. **Hypertens. Pregnancy**, New York, v. 22, n. 2, p. 109-27, 2003.

ROBERTS, J. M.; GAMMILL, H. S. Preeclampsia: recent insights. **Hypertension**, Dallas, v. 46, n. 6, p. 1243-9, 2005.

SAARELA, T. et al. Tumour necrosis factor- α gene haplotype is associated with pre-eclampsia. **Mol. Hum. Reprod.**, Oxford, v. 11, n. 6, p. 437-40, 2005.

SAFTLAS, A. F. et al. Epidemiology of preeclampsia and eclampsia in the United States, 1979-1986. **Am. J. Obstet. Gynecol.**, St. Louis, v. 163, n. 2, p. 460-5, 1990.

SAID, J.; DEKKER, G. Pre-eclampsia and thrombophilia. **Best Pract. Res. Clin. Obstet. Gynaecol.**, Amsterdam, v. 17, n. 3, p. 441-58, 2003.

SANDRIM, V. C. et al. Vascular endothelial growth factor genotypes and haplotypes are associated with pre-eclampsia but not with gestational hypertension. **Mol. Hum. Reprod.**, Oxford, v. 15, n. 2, p. 115-20, 2009.

SHAHBAZI, M. et al. Vascular endothelial growth factor gene polymorphisms are associated with acute renal allograft rejection. **J. Am. Soc. Nephrol.**, Baltimore, v. 13, n. 1, p. 260-4, 2002.

SHIM, J. Y. et al. Vascular endothelial growth factor gene +936 C/T polymorphism is associated with preeclampsia in Korean women. **Am. J. Obstet. Gynecol.**, St. Louis, v. 197, n. 3, p. 271-274, 2007.

SIBAI, B. M. Chronic hypertension in pregnancy. **Obstet. Gynecol.**, New York, v. 100, n. 2, p. 369-77, 2002.

SIBAI, B. M. Diagnosis and management of gestational hypertension and preeclampsia. **Obstet. Gynecol.**, New York, v. 102, n. 1, p. 181-92, 2003.

SOHDA, S. et al. Methylenetetrahydrofolate reductase polymorphism and preeclampsia. **J. Med. Genet.**, London, v. 34, n. 6, p. 525-6, 1997.

STONEK, F. et al. A tumor necrosis Factor- α promoter Polimorphism and pregnancy complications: results of a prospective cohort study in 1652 pregnant women. **Reprod. Sci.**, Thousand Oaks, v. 14, n. 5, p. 425-9, 2007.

THADHANI, R. et al. High body mass index and hypercholesterolemia: risk of hypertensive disorders of pregnancy. **Obstet. Gynecol.**, New York, v. 94, n. 4, p. 543-50, 1999.

THADHANI, R. et al. First trimester placental growth factor and soluble fms-like tyrosine kinase 1 and risk for preeclampsia. **J. Clin. Endocrinol. Metab.**, Springfield, v. 89, n. 2, p. 770-5, 2004.

TRAINA, E. et al. Polimorfismo do gene dos receptores de progesterona e o aborto espontâneo de repetição. **Rev. Bras. Ginecol. Obstet.**, São Paulo, v. 12, n. 5, p. 229-33, 2010.

VATTEN, L. J. et al. Pre-eclampsia in pregnancy and subsequent risk for breast cancer. **Br. J. Cancer**, London, v. 87, n. 9, p. 971-3, 2002.

VÁZQUEZ, M. L.; FORTE, W. C. N. ; TEDESCO, J. J. A. Quantificação das populações e subpopulações de linfócitos em gestantes com pré-eclâmpsia. **Rev. Bras. Ginecol. Obstet.**, São Paulo, v. 26, n. 8, p. 619-24, 2004.

VILLAR, J. et al. Preeclampsia, gestational hypertension and intrauterine growth restriction, related or independent conditions? **Am. J. Obstet. Gynecol.**, St. Louis, v. 194, n. 4, p. 921-931, 2006.

VINCENTI, V. et al. Assignment of the vascular endothelial growth factor gene to human chromosome 6p21.3. **Circulation**, Dallas, v. 93, n. 8, p. 1493-5, 1996.

XIONG, X. et al. Maternal smoking and preeclampsia. **J. Reprod. Med.**, Chicago, v. 45, n. 9, p. 727-32, 2000.

YOUNG, B. C.; LEVINE, R. J.; KARUMANCHI, S. A. Pathogenesis of preeclampsia. **Annu. Rev. Pathol.**, Palo Alto, v. 5, p. 173-92, 2010.

WALKER, J. J. Pre-eclampsia. **Lancet**, London, v. 356, n. 9237, p. 1260-65, 2000.

WANG, L. et al. Prolylcarboxypeptidase gene, chronic hypertension, and risk of preeclampsia. **Obstet. Gynecol.**, New York, v. 195, n. 1, p. 162-71, 2006.

WARD, K. et al. A molecular variant of angiotensinogen associated with preeclampsia. **Nat. Genet.**, New York, v. 4, n. 1, p. 59-61, 1993.

WATSON, C. J. et al. Identification of polymorphisms within the vascular endothelial growth factor (VEGF) gene: correlation with variation in VEGF protein production. **Cytokine**, Philadelphia, v. 12, n. 8, p. 1232-5, 2000.

WOLF, M. et al. Obesity and preeclampsia: the potential role of inflammation. **Obstet. Gynecol.**, New York, v. 98, n. 5, pt. 1, p. 757-62, 2001.

WOLF, M. et al. First trimester insulin resistance and subsequent preeclampsia: a prospective study. **J. Clin. Endocrinol. Metab.**, Springfield, v. 87, n. 4, p. 1563-8, 2002.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. **World Health Report 2005**: make every mother and child count. 2005. Disponível em: <<http://www.who.int/whr/2005/em/index.html>>. Acesso em: 11 jan. 2008.

ZHOU, Y. et al. Vascular endothelial growth factor ligands and receptors that regulate human cytotrophoblast survival are dysregulated in severe preeclampsia and hemolysis, elevated liver enzymes, and low platelets syndrome. **Am. J. Pathol.**, Philadelphia, v. 160, n. 4, p. 1405-23, 2002.



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
UNIVERSIDADE FEDERAL DO TRIÂNGULO MINEIRO

Disciplina de Genética – DCB

Praça Manoel Terra, 330 – 38 015-050 – Uberaba, Minas Gerais.

Fone:34 – 3318 5434 – e-mail: genética@dcb.uftm.edu.br

ANEXO A - TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO
(Para o grupo estudado)

TERMO DE ESCLARECIMENTO

TÍTULO DO PROJETO: “Polimorfismos do gene *VEGF* em mulheres com síndromes hipertensivas na gestação”.

Você tem ou teve pressão alta na gestação, doença ainda não muito esclarecida quanto sua causa, e está sendo convidada a participar do estudo: “Polimorfismos do gene *VEGF* em mulheres com síndromes hipertensivas na gestação”. Os avanços na área da saúde ocorrem através de estudos como este, por isso a sua participação é importante. O objetivo desta pesquisa é identificar um gene alterado que causa pressão alta na gestação e caso você participe, será necessário fazer exame de sangue. Não será feito nenhum procedimento que lhe traga risco à sua vida. Você poderá ter algum desconforto quando receber uma picada para colher o sangue do seu braço.

Você poderá obter todas as informações que quiser e poderá se recusar a participar da pesquisa ou retirar seu consentimento a qualquer momento, sem prejuízo no seu atendimento. Pela sua participação no estudo, você não receberá qualquer valor em dinheiro e não terá qualquer despesa relacionada à realização da pesquisa. Seu nome não aparecerá em qualquer momento do estudo, pois você será identificada com um número.



**MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
UNIVERSIDADE FEDERAL DO TRIÂNGULO MINEIRO**

Disciplina de Genética – DCB

Praça Manoel Terra, 330 – 38 015-050 – Uberaba, Minas Gerais.

Fone:34 – 3318 5434 – e-mail: genética@dcb.uftm.edu.br

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE, APÓS ESCLARECIMENTO

TÍTULO DO PROJETO: “Polimorfismos do gene VEGF em mulheres com síndromes hipertensivas na gestação”.

Eu, _____, li e/ou ouvi o esclarecimento acima e compreendi para que serve o estudo e qual procedimento a que serei submetida. A explicação que recebi esclarece os riscos e benefícios do estudo. Eu entendi que sou livre para interromper minha participação a qualquer momento, sem justificar minha decisão e que isso não afetará meu tratamento. Sei que meu nome não será divulgado, que não terei despesas e não receberei dinheiro por participar do estudo. Eu concordo em participar do estudo.

Uberaba,//.....

Assinatura da voluntária

Documento de identidade

Assinatura do pesquisador responsável

Assinatura do pesquisador orientador

Telefone de contato dos pesquisadores: _____

Em caso de dúvida em relação a esse documento, você pode entrar em contato com o Comitê Ética em Pesquisa da Universidade Federal do Triângulo Mineiro, pelo telefone 3318-5854.



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
UNIVERSIDADE FEDERAL DO TRIÂNGULO MINEIRO

Disciplina de Genética – DCB

Praça Manoel Terra, 330 – 38 015-050 – Uberaba, Minas Gerais.

Fone:34 – 3318 5434 – e-mail: genética@dcb.uftm.edu.br

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO
(Para o grupo controle)

TÍTULO DO PROJETO: “Polimorfismos do gene *VEGF* em mulheres com síndromes hipertensivas na gestação”.

Estamos estudando pressão alta na gestação, doença ainda não muito esclarecida quanto à sua causa. Nessa pesquisa é necessário comparar os dados com um grupo controle. Como você teve ou tem uma gestação normal está sendo convidada a participar do grupo controle do estudo: “Polimorfismos do gene *VEGF* em mulheres com síndromes hipertensivas na gestação”. Os avanços na área da saúde ocorrem através de estudos como este, por isso a sua participação é importante. O objetivo desta pesquisa é identificar um gene alterado que causa pressão alta na gestação e caso você participe, será necessário fazer exame de sangue. Não será feito nenhum procedimento que lhe traga risco à sua vida. Você poderá ter algum desconforto quando receber uma picada para colher o sangue do seu braço.

Você poderá obter todas as informações que quiser e poderá não participar da pesquisa ou retirar seu consentimento a qualquer momento, sem prejuízo no seu atendimento. Pela sua participação no estudo, você não receberá qualquer valor em dinheiro, mas terá a garantia de que todas as despesas necessárias para a realização da pesquisa não serão de sua responsabilidade. Seu nome não aparecerá em qualquer momento do estudo, pois você será identificada com um número.



**MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
UNIVERSIDADE FEDERAL DO TRIÂNGULO MINEIRO**

Disciplina de Genética – DCB

Praça Manoel Terra, 330 – 38 015-050 – Uberaba, Minas Gerais.

Fone:34 – 3318 5434 – e-mail: [genética@dcb.uftm.edu.br](mailto:genetica@dcb.uftm.edu.br)

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE, APÓS ESCLARECIMENTO

TÍTULO DO PROJETO: Polimorfismos do gene *VEGF* em mulheres com síndromes hipertensivas na gestação.

Eu, _____, li e/ou ouvi o esclarecimento acima e compreendi para que serve o estudo e qual procedimento a que serei submetida. A explicação que recebi esclarece os riscos e benefícios do estudo. Eu entendi que sou livre para interromper minha participação a qualquer momento, sem justificar minha decisão e que isso não afetará meu tratamento. Sei que meu nome não será divulgado, que não terei despesas e não receberei dinheiro por participar do estudo. Eu concordo em participar do estudo.

Uberaba,//.....

Assinatura da voluntária

Documento de identidade

Assinatura do pesquisador responsável

Assinatura do pesquisador orientador

Telefone de contato dos pesquisadores: _____

Em caso de dúvida em relação a esse documento, você pode entrar em contato com o Comitê Ética em Pesquisa da Universidade Federal do Triângulo Mineiro, pelo telefone 3318-5854.

ANEXO C



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
UNIVERSIDADE FEDERAL DO TRIÂNGULO MINEIRO – Uberaba(MG)
COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA-CEP
Parecer Consubstanciado
PROTOCOLO DE PROJETO DE PESQUISA COM ENVOLVIMENTO DE SERES HUMANOS

IDENTIFICAÇÃO

TÍTULO DO PROJETO: IDENTIFICAÇÃO DE POLIMORFISMOS DOS GENES VEGF E TNF- α EM MULHERES COM SÍNDROMES HIPERTENSIVAS NA GESTAÇÃO.

PESQUISADOR(A) RESPONSÁVEL : PROFA. DRA. MARLY APARECIDA SPADOTTO BALARIN

INSTITUIÇÃO ONDE SE REALIZARÁ A PESQUISA: UFTM

DATA DE ENTRADA NO CEP/UFTM: 24/03/2008

PROTOCOLO CEP/UFTM: 1115

SUMÁRIO DO PROJETO

1. OBJETIVOS

Identificar polimorfismos do gene VEGF -2578 C/A, +936 C/T e +405 G/C em mulheres com gestação normal e com síndromes hipertensivas.

2 - Identificar polimorfismos do promotor do gene TNF alfa em mulheres com gestação normal e com síndromes hipertensivas.

2. JUSTIFICATIVA

As síndromes hipertensivas são doenças responsáveis por 6 a 8% das complicações gestacionais (NHBPEP, 2000). No Brasil é considerado um problema de saúde pública, sendo a principal causa de morbi-mortalidade materna e fetal (PERAÇOLI; PAPPINELLI, 2005).

Para o consenso do *National High Blood Pressure Education Program* (NHBPEP) é fundamental diferenciar a hipertensão que antecede a gravidez, daquela que é uma condição específica da mesma. Na primeira, a elevação da pressão arterial é o aspecto fisiopatológico básico da doença, a segunda é resultado da má adaptação do organismo materno à gravidez, sendo a hipertensão apenas um de seus achados. Em 2000, o NHBPEP classificou as manifestações das síndromes hipertensivas da gestação, como: hipertensão arterial crônica, hipertensão gestacional, pré-eclâmpsia/eclâmpsia e hipertensão arterial crônica superposta por pré-eclâmpsia (NHBPEP, 2000).

A maioria dos estudos aborda somente pré-eclâmpsia e eclâmpsia devido aos piores prognósticos, as demais síndromes hipertensivas da gestação são pouco investigadas. O conhecimento da fisiopatologia, o diagnóstico precoce e a atuação precisa no momento adequado melhoram o prognóstico materno/perinatal, reduzindo as altas taxas de mortalidade materna, decorrentes dessas síndromes (PERAÇOLI; PAPPINELLI, 2005).

Apesar de muitos estudos nessa área, a patogênese da pré-eclâmpsia é mal compreendida. Pesquisas sugerem que essa doença está relacionada ao desequilíbrio de fatores angiogênicos circulantes, resultando em disfunção endotelial, infarto placentário e trombose intervlosa. Portanto, pode ser considerada uma doença primária do endotélio vascular e apresenta como fatores de risco materno a obesidade, a resistência à insulina, hiperlipidemia, hipertensão, doença renal e trombofilias (MORGAN; WARD, 1999, SAID; DEKKER, 2003; THADHANI et al., 2004, 1999; WOLF et al., 2001, 2002).

Considerando que as síndromes hipertensivas da gestação são um dos problemas mais importantes da prática obstétrica e de impacto epidemiológico com altas taxas de morbi-mortalidade materno-fetal torna-se importante analisar esses polimorfismos em nossa região e assim contribuir para o melhor entendimento da condição e de sua evolução.

3. DESCRIÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DA AMOSTRA

Serão estudadas 60 mulheres que apresentaram ou apresentam síndromes hipertensivas durante a gestação, atendidas no Ambulatório Maria da Glória e/ou Hospital Escola da UFTM.

O grupo controle será constituído por 60 mulheres que apresentaram gestação sem intercorrências (síndromes hipertensivas).

4. CRITÉRIOS DE INCLUSÃO E EXCLUSÃO

Mulheres com idade inferior a 18 anos.

Praça Dr. Thomaz Uilhôa, 380 (Prédio do Colégio Nossa Senhora das Dores) – 2º andar – Abadia – Cep: 38025-050
 Uberaba-MG - TELEFAX: 34-3318-5854
 E-mail: cep@prodepe.uftm.edu.br



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
UNIVERSIDADE FEDERAL DO TRIÂNGULO MINEIRO – Uberaba(MG)
COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA-CEP
Parecer Consubstanciado
PROTOCOLO DE PROJETO DE PESQUISA COM ENVOLVIMENTO DE SERES HUMANOS

IDENTIFICAÇÃO

TÍTULO DO PROJETO: IDENTIFICAÇÃO DE POLIMORFISMOS DOS GENES VEGF E TNF- α EM MULHERES COM SÍNDROMES HIPERTENSIVAS NA GESTAÇÃO.
PESQUISADOR(A) RESPONSÁVEL : PROFA. DRA. MARLY APARECIDA SPADOTTO BALARIN
INSTITUIÇÃO ONDE SE REALIZARÁ A PESQUISA: UFTM
DATA DE ENTRADA NO CEP/UFTM: 24/03/2008
PROTOCOLO CEP/UFTM: 1115

5. ADEQUAÇÃO DA METODOLOGIA

COLETA DE SANGUE PERIFÉRICO

Após a aprovação do projeto pelo comitê de ética em pesquisa com seres humanos da uftm, o estudo será explicado à paciente e solicitado sua anuência e assinatura do termo de consentimento livre e esclarecido. serão coletadas de cada mulher 10 ml de sangue periférico em tubos de coleta à vácuo estéril, com edta. os tubos serão transportados diretamente para o laboratório de citogenética e genética molecular humana da disciplina de genética - dcB da uftm. o material genético dos indivíduos será utilizado única e exclusivamente para a realização deste projeto.

ANÁLISE MOLECULAR

1. LISE DE CÉLULAS

A massa de hemácias e leucócitos será submetida à lise osmótica. O material será transferido para um tubo cônico de 50mL. Em seguida, será centrifugado a 1500 rpm, durante 10 minutos para a retirada do plasma. Então, o tampão de lise TE 20:5 (TRIS-EDTA), composto por Tris-HCl 1M e EDTA 0,5M, pH 8,0 será acrescentado até completar o volume para 45mL. As amostras serão submetidas a uma agitação em vórtex para que as hemácias sejam lisadas mais facilmente. O passo seguinte será a centrifugação a 4000 rpm, durante 15 minutos, a temperatura ambiente. Ao final de cada centrifugação, o sobrenadante rico em lisado de hemácias será desprezado e o volume será completado para 45mL com o tampão TE 20:5. Os procedimentos serão repetidos até que se obtenha um sedimento de leucócitos o mais livre possível de hemácias. Esse sedimento será transferido para um microtubo *Bio free* de 2mL (SARSTEDT), livre de enzimas, como DNAses e RNAses, que possam comprometer o DNA a ser extraído. Será adicionado, ainda, 1mL de tampão TE 20:5 e as amostras serão centrifugadas a 14000rpm. O sobrenadante será desprezado e as amostras armazenadas a -20°C para posterior extração de DNA genômico.

2. EXTRAÇÃO DE DNA GENÔMICO PELO MÉTODO DO FENOL-CLOROFÓRMIO

Ao sedimento armazenado, serão adicionados 200µL de SDS (dodecil sulfato de sódio) 10% e 65µL de proteinase K (20µg/mL). As amostras serão incubadas *overnight* a temperatura ambiente. No dia seguinte, as amostras serão agitadas em vórtex até o deslocamento do sedimento. Serão adicionados 1900µL de acetato de sódio e a mistura será homogeneizada por meio de inversão suave. O fenol-clorofórmio-álcool-isoamílico 25:24:1 será acrescentado em um volume de 5mL. Haverá a homogeneização em agitador orbital por 20 minutos. Em seguida, centrifugação a 3000 rpm por 20 minutos a temperatura ambiente. O DNA solubilizado encontrar-se-á no sobrenadante (fase aquosa) e será retirado com o auxílio de uma pipeta. Será, então, transferido para outro tubo tipo EPPENDORF de 2,0mL, onde será precipitado com etanol 100%. Haverá novamente uma centrifugação a 4500xg por 10 minutos a temperatura ambiente. O sobrenadante será desprezado e a amostra será lavada por três vezes com etanol 70%. Em seguida, o DNA será solubilizado em 300µL de hidróxido de sódio (NaOH) 8mM. Para verificar se o DNA extraído possui boa qualidade, uma eletroforese em gel de agarose 1% será realizada. Em seguida, as amostras serão estocadas em *freezer* a -20°C.

3. PCR (REAÇÃO EM CADEIA DA POLIMERASE) –RFLP (POLIMORFISMOS DE COMPRIMENTOS DE FRAGMENTOS DE RESTRIÇÃO)

Praça Dr. Thomaz Ulhôa, 380 (Prédio do Colégio Nossa Senhora das Dores) – 2º andar – Abadia – Cep: 38025-050
 Uberaba-MG - TELEFAX: 34-3318-5854
 E-mail: cep@prodepe.uftm.edu.br



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
UNIVERSIDADE FEDERAL DO TRIÂNGULO MINEIRO – Uberaba(MG)
COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA-CEP
Parecer Consubstanciado
PROTOCOLO DE PROJETO DE PESQUISA COM ENVOLVIMENTO DE SERES HUMANOS

IDENTIFICAÇÃO

TÍTULO DO PROJETO: IDENTIFICAÇÃO DE POLIMORFISMOS DOS GENES VEGF E TNF- α EM MULHERES COM SÍNDROMES HIPERTENSIVAS NA GESTAÇÃO.
PESQUISADOR(A) RESPONSÁVEL : PROFA. DRA. MARLY APARECIDA SPADOTTO BALARIN
INSTITUIÇÃO ONDE SE REALIZARÁ A PESQUISA: UFTM
DATA DE ENTRADA NO CEP/UFTM: 24/03/2008
PROTOCOLO CEP/UFTM: 1115

Para avaliação da presença dos polimorfismos será realizada a PCR, com utilização de *primers* específicos, seguida pela análise de restrição, com utilização de enzima de restrição apropriada. Os primers e enzimas de restrição utilizados serão:

"Primer"	Seqüência (5'-3')	T _m (°C)	Enzimas
VEGF +405 G/C	F-5'- CCGACGGCTTGGGGAGATTG-3' R-5'- CGGCGTCACCCCCAAAAG-3'	60°C	<i>BsmFI</i>
VEGF + 936 C/T	F- 5'- AAGGAAGAGGAGACTCTGCGCAGAGC – 3' R- 5'- TAAATGTATGTATGTGGGTGGGTGTGTCTACAGG-3'	62°C	<i>NLaIII</i>
VEGF – 2578 C/A	F-5'- GGGCCTTAGGACACCATAACC-3' R-5'- TGCCCCAGGGAACAAAGT-3'	57°C	<i>BgIII</i>
TNF- α -308	F- 5' AGG CAA TAG GTT TTG AGG GCC AT 3' R- 5' TCC TCC CTG CTC CGA TTC CG 3'	54°C	<i>NcoI</i>

ANÁLISE DOS RESULTADOS

A investigação molecular será realizada pela análise do tamanho dos fragmentos em gel de poliacrilamida.

ANÁLISE ESTATÍSTICA

A análise dos resultados será realizada de forma descritiva.

6. ADEQUAÇÃO DAS CONDIÇÕES

A infra-estrutura do laboratório de Genética da UFTM conta com 2 capelas de fluxo laminar, 1 fotomicroscópio, 1 invertomicroscópio, 1 microscópio de fluorescência, 8 microscópios de luz, estufa para cultura, centrífugas, centrífuga refrigerada, freezer, freezer -70°C, banho-maria, estufa de secagem e esterilização, autoclave, sistema de purificação de água por osmose reversa, pHmetro, termociclador, cubas de eletroforese vertical e horizontal, fonte de eletroforese.

7. ANÁLISE DE RISCOS E BENEFÍCIOS

O único desconforto será a picada da agulha para coleta de sangue, imprescindível para a pesquisa. Para que não ocorra perda de confidencialidade, os indivíduos serão identificados por letras e números, mantendo assim sigilo e privacidade.

8. RETORNO DE BENEFÍCIOS PARA O SUJEITO E/OU PARA A COMUNIDADE

Considerando que as síndromes hipertensivas da gestação são um problema importante da prática obstétrica e de impacto epidemiológico com altas taxas de morbi-mortalidade materno/fetal, a identificação de polimorfismos moleculares associados a essas enfermidades permitirá um acompanhamento mais direcionado, bem como a possibilidade da identificação de portadoras e riscos de desenvolver essas síndromes.

9. JUSTIFICATIVA DE SUSPENSÃO TERAPÊUTICA ("Wash out") – Não pertinente.

10. JUSTIFICATIVA DO USO DE PLACEBO – Não pertinente.

11. ORÇAMENTO FINANCEIRO DETALHADO DA PESQUISA

Contrapartida:

O laboratório tem infra-estrutura para o desenvolvimento do projeto, conforme detalhado no item J.

Praça Dr. Thomaz Ulhôa, 380 (Prédio do Colégio Nossa Senhora das Dores) – 2º andar – Abadia – Cep: 38025-050
 Uberaba-MG - TELEFAX: 34-3318-5854
 E-mail: cep@prodepe.uftm.edu.br



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
UNIVERSIDADE FEDERAL DO TRIÂNGULO MINEIRO – Uberaba(MG)
COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA-CEP
Parecer Consubstanciado
PROTOCOLO DE PROJETO DE PESQUISA COM ENVOLVIMENTO DE SERES HUMANOS

IDENTIFICAÇÃO

TÍTULO DO PROJETO: IDENTIFICAÇÃO DE POLIMORFISMOS DOS GENES VEGF E TNF- α EM MULHERES COM SÍNDROMES HIPERTENSIVAS NA GESTAÇÃO.
PESQUISADOR(A) RESPONSÁVEL : PROFA. DRA. MARLY APARECIDA SPADOTTO BALARIN
INSTITUIÇÃO ONDE SE REALIZARÁ A PESQUISA: UFTM
DATA DE ENTRADA NO CEP/UFTM: 24/03/2008
PROTOCOLO CEP/UFTM: 1115

Material de consumo: dNTP, primers, agarose, enzimas de restrição, taq polimerase, reagentes em geralR\$ 15.000,00

Material de uso de bancada.....R\$ 5.000,00

Valor TotalR\$ 20.000,00

12. FORMA E VALOR DA REMUNERAÇÃO DO PESQUISADOR

O pesquisador não terá remuneração além daquela referente ao cargo de professor da UFTM.

13. ADEQUAÇÃO DO TERMO DE CONSENTIMENTO E FORMA DE OBTÊ-LO

O termo de consentimento livre e esclarecido será obtido após esclarecimentos a respeito dos objetivos da pesquisa e forma de obtenção das amostras, por um dos pesquisadores participantes do projeto.

14. ESTRUTURA DO PROTOCOLO – O protocolo foi adequado para atender às determinações da Resolução CNS 196/96.

15. COMENTÁRIOS DO RELATOR, FRENTE À RESOLUÇÃO CNS 196/96 E COMPLEMENTARES

PARECER DO CEP : Aprovado

(O relatório anual ou final deverá ser encaminhado um ano após o início do processo).

DATA DA REUNIÃO: 18/04/2008

João Batista Ribeiro
 Coordenador

APÊNDICE A



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
UNIVERSIDADE FEDERAL DO TRIÂNGULO MINEIRO

Disciplina de Genética – DCB

Praça Manoel Terra, 330 – 38 015-050 – Uberaba, Minas Gerais.

Fone:34 – 3318 5434 – e-mail: genetica@dcb.uftm.edu.br

INSTRUMENTO DE COLETA DE DADOS: FORMULÁRIO

**POLIMORFISMOS DO GENE *VEGF* EM MULHERES COM SÍNDROMES
HIPERTENSIVAS NA GESTAÇÃO**

RG.: _____

RGENÉTICA: _____

Data: ___/___/___

I – Identificação

Nome: _____

Data de nascimento: ___/___/___ Idade: ____ Cor: () Negra () Não negra

Natural de: _____

Procedência: _____

Situação conjugal: _____

Grupo sanguíneo: _____

Cônjuge: _____

Data de nascimento: ___/___/___ Idade: ____ Cor: () Negra () Não negra

Natural de: _____

Procedência: _____

Grupo sanguíneo: _____

Escolaridade	Propósito	Cônjuge	Ocupação	Propósito	Cônjuge

Endereço: _____

CEP _____

Telefones: _____

II - Informações complementares

Exames laboratoriais:

Série vermelha: _____

Série branca: _____

Plaquetas: _____

Proteinúria: _____

Outros exames:

Pressão arterial: _____

Pulso: _____

Diagnóstico:

Hipertensão arterial gestacional

Pré-eclâmpsia/eclâmpsia

Hipertensão arterial crônica superposta por pré-eclâmpsia

III - Anamnese

A) História clínica:

B) Paridade: G _____ P _____ AE _____ AP _____

C) Dados da gravidez atual:

Pré-natal: sim () não () número de consultas: _____

Gestação múltipla: sim () não ()

Medicações na gestação _____

Medicações no hospital _____

Parto: () normal () cesárea

Idade gestacional no parto: DUM _____ US _____

Peso do Rn ao nascer _____ RCIU: sim () não ()

APGAR: 1º minuto _____ 5º minuto de vida _____

Destino do Rn: () Alojamento Conjunto () Berçário/UTI-Pediátrico () Óbito

IV- Heredograma

V- Antecedentes familiares

- Recorrência familiar de hipertensão.

VI - Antecedentes pessoais

- Femininos: () ndn () doença crônica _____
 () exposição frequente à radiação por motivos profissionais ou outros
 () uso crônico de bebida alcoólica () tabagismo () uso de drogas
 () antecedentes pessoais de hipertensão
 () outros _____

- Masculinos: () ndn () doença crônica _____
 () exposição frequente à radiação por motivos profissionais ou outros
 () uso crônico de bebida alcoólica () tabagismo () uso de drogas
 () antecedentes pessoais de hipertensão
 () outros _____

VII- Resumo dos achados:

**Catálogo na fonte: Biblioteca da Universidade Federal do
Triângulo Mineiro**

C98p Cunha, Valquíria Maria de Paula
Polimorfismos do gene *VEGF* em mulheres com síndromes hipertensivas
na gestação / Valquíria Maria de Paula Cunha. -- 2010.
68 f. : tab. ; graf. ; fig.

Dissertação (Mestrado em Atenção à Saúde) - Universidade Federal do
Triângulo Mineiro, Uberaba, MG, 2010.
Orientadoras: Prof^ª. Dr^ª. Sueli Riul da Silva e Prof^ª. Dr^ª. Marly Aparecida
Spadotto Balarin.

I. Gestantes. 2. Hipertensão. 3. Polimorfismo genético. I. Título.
II. Universidade Federal do Triângulo Mineiro. III. Silva, Sueli Riul.
IV. Balarin, Marly Aparecida Spadotto.

CDU 618.2-082:616.12-008.331.1