



**UNIVERSIDADE FEDERAL DA FRONTEIRA SUL
CAMPUS CHAPECÓ
CURSO DE GRADUAÇÃO EM ENFERMAGEM**

BRUNA LAÍS HARDT

**ANÁLISE BIOQUÍMICA DO ESTRESSE OXIDATIVO E SISTEMA PURINÉRGICO
EM GESTANTES COM DIABETES MELLITUS GESTACIONAL**

CHAPECÓ- SC

2019

BRUNA LAÍS HARDT

**ANÁLISE BIOQUÍMICA DO ESTRESSE OXIDATIVO E SISTEMA PURINÉRGICO
EM GESTANTES COM DIABETES MELLITUS GESTACIONAL**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Curso de Enfermagem da Universidade Federal da Fronteira Sul, como requisito para obtenção do título de bacharel.

Orientador: Prof. Dra. Débora de Tavares Resende e Silva.

CHAPECÓ- SC

2019

BRUNA LAÍS HARDT

**ANÁLISE BIOQUÍMICA DO ESTRESSE OXIDATIVO E SISTEMA
PURINÉRGICO EM GESTANTES COM DIABETES MELLITUS
GESTACIONAL**

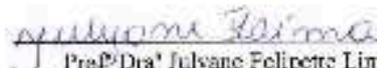
Trabalho de conclusão de curso de graduação apresentado como requisito para obtenção
de grau de Bacharel em Enfermagem da Universidade Federal da Fronteira Sul

Orientador: Prof.ª Dra.ª Débora Tavares do Resende e Silva

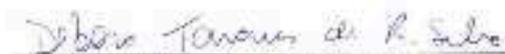
Este trabalho de conclusão de curso foi defendido e aprovado pela banca em:

09 / 12 / 2019

BANCA EXAMINADORA


Prof.ª Dra.ª Juliano Felipete Lima - UFFS


Prof.ª Ms. Érica de Brito Pitilin - UFFS


Prof.ª Dra.ª Débora Tavares do Resende e Silva

Dedico este trabalho a minha amada mãe que nunca mediu esforços para a realização dos meus sonhos, a ela minha eterna gratidão, você é meu maior exemplo de vida.

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus por estar sempre do meu lado, por seu amor incondicional e tornar tudo possível.

A família Marcolin por todo apoio, incentivo e auxílio, vocês foram fundamentais nesta minha conquista.

A minha orientadora Prof. Dr. Débora Tavares Resende e Silva, pelos 4 anos de convivência e aprendizado, tornando possível a execução deste trabalho.

A Prof. Dr. Aline Manica por toda atenção, carinho e suporte, me auxiliando desde a análise dos dados até a discussão deste trabalho. Agradeço imensamente, pois sem o teu auxílio nada teria sido possível.

A FAPESC pelo auxílio financeiro dado a esta pesquisa.

As minhas amigas que sempre se fizeram presentes. A Bianca que esteve comigo desde o início desta pesquisa. Em especial a Andressa pelos inúmeros momentos de alegria e por tudo que passamos juntas neste ano de 2019.

Bibliotecas da Universidade Federal da Fronteira Sul - UFFS

Event, Bruno Luis

ANÁLISE DA QUALIDADE DE SERVIÇOS DE ATENDIMENTO À SAÚDE: SISTEMA METRÍCA DA INDEPENDÊNCIA COMO INSTRUMENTO DE AVALIAÇÃO GERENCIAL / Bruno Luis Event. -- 2019. 13 f. ilus.

De onde veio: Curitiba. Sistema de Telemetria, dezembro de 2019.

Tecando na conclusão de Curso (conclusão) - Universidade Federal da Fronteira Sul, Curso de Engenharia, Cascavel, SC, 2019.

1. Complicações na gravidez. 2. Eclâmpsia eclâmpica. 3. Estresse oxidativo. 4. Silva, Débora do Tavares Rosendo E. orient. II. Universidade Federal da Fronteira Sul, Lins. Título.

Elaborada pelo sistema de Geração Automática de Ficha de classificação da Biblioteca UFFS com os dados fornecidos pela(s) autor(s).

RESUMO

A gestação é caracterizada como um período fisiológico em que ocorre uma maior sensibilidade a resistência à insulina e alterações no estresse oxidativo. A sinalização purinérgica se relaciona diretamente com a diabetes, pois tal condição modifica a concentração de ATP extracelular e o nível de degradação do ATP à adenosina. Desse modo, o objetivo deste estudo foi analisar o estresse oxidativo e sistema purinérgico em gestante com Diabetes Mellitus Gestacional (DMG) e compará-las com gestantes de Baixo Risco (BR). A pesquisa foi de abordagem quantitativa, de caráter experimental. O estudo foi realizado em dois momentos, primeiramente em uma clínica no Oeste de Santa Catarina, a qual atende gestantes com Diabetes Mellitus Gestacional (DMG). E em um segundo momento foi nos Centros de Saúde da Família de Chapecó. Resultados: O estresse oxidativo encontrou-se maior em gestantes de baixo risco quando comparado a DMG. Este fato ocorreu devido as defesas antioxidantes estarem aumentadas nas gestantes com DMG. No sistema purinérgico, houve diferença significativa nas gestantes com DMG quando comparada com gestantes de BR, observando-se uma alteração na hidrólise dos nucleotídeos pelas enzimas que estão nas plaquetas.

PALAVRAS-CHAVES: Complicações na gravidez. Diabetes gestacional. Estresse oxidativo.

ABSTRACT

Pregnancy is characterized as a physiological period in which there is a greater sensitivity to insulin resistance and changes in oxidative stress. Purinergic signaling is directly related to diabetes, as this condition modifies the concentration of extracellular ATP and the level of degradation of ATP to adenosine. Thus, the objective of this study was to analyze the oxidative stress and purinergic system in pregnant women with gestational diabetes mellitus (GDM) and compare them with low risk pregnant women (BR). The research was of quantitative approach, of experimental character. The study was conducted in two moments, first in a clinic in the west of Santa Catarina, which serves pregnant women with gestational diabetes mellitus (GDM). And in a second moment it was in the Chapecó Family Health Centers. Results: Oxidative stress was higher in low risk pregnant women when compared to GDM. This fact occurred because antioxidant defenses were increased in pregnant women with GDM. In the purinergic system, there was a significant difference in pregnant women with GDM when compared to pregnant women in BR, with a change in nucleotide hydrolysis by enzymes in platelets.

KEYWORDS: Pregnancy Complications. Gestational diabetes. Oxidative stress.

LISTA DE GRÁFICOS

GRÁFICO 1: Níveis de TBARS.....	18
GRÁFICO 2: Níveis de Proteína Carbonil.....	18
GRÁFICO 3: Níveis de GSH.....	19
GRÁFICO 4: Níveis de Vitamina C.....	19
GRÁFICO 5: Níveis de PHS.....	19
GRÁFICO 6: Níveis de Mieloperoxidase.....	19
GRÁFICO 7: Níveis de Hidrólise de ATP de Plaquetas.....	20
GRÁFICO 8: Níveis de hidrólise de ADP nas Plaquetas.....	20
GRÁFICO 9: Níveis de Hidrólise AMP de Plaquetas.....	20
GRÁFICO 10: Níveis de Hidrólise da Adenosina de Plaquetas.....	20
GRÁFICO 11: Níveis de NPSH.....	21
GRÁFICO 12: Caracterização epidemiológica de gestantes que desenvolveram Diabetes Mellitus Gestacional pela idade da gestante.....	21
GRÁFICO 13: Caracterização epidemiológica de gestantes que desenvolveram Diabetes Mellitus Gestacional por idade gestacional.....	21

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	10
2. OBJETIVOS	11
2.1. OBJETIVO GERAL	11
2.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS	11
3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	12
3.1. DIABETES MELLITUS GESTACIONAL.....	12
3.2. ESTRESSE OXIDATIVO	12
3.3. SISTEMA PURINÉRGICO	13
4. MÉTODOLOGIA.....	15
4.1. PROCEDIMENTO DE COLETA DE DADOS.....	15
4.2. DIMENSÃO ÉTICA.....	16
4.3. ANÁLISE DOS DADOS	16
4.3.2 Estresse oxidativo	17
4.3.3 Sistema purinérgico.....	18
5. RESULTADOS	18
5.1. ESTRESSE OXIDATIVO	18
5.2. SISTEMA PURINÉRGICO	20
6. DISCUSSÃO	22
7. CONCLUSÃO.....	24
REFERÊNCIAS	26
APÊNDICES	29
ANEXOS	35

1. INTRODUÇÃO

A gestação é um período caracterizado como um dos mais importantes na vida de muitas mulheres e corresponde a complexas transformações tanto fisiológicas, como emocionais, interpessoais e sociais, sendo uma fase adaptativa no organismo, o qual se espera que nesse período não ocorram intercorrências, mas algumas mulheres podem apresentar algumas complicações durante a gestação. Entre as complicações mais graves, destaca-se a Diabetes Mellitus Gestacional (DMG) como sendo uma das causas mais comuns, o que impede uma evolução adequada da gestação e exacerba os índices de morbidade e mortalidade materna e perinatal (LUZ et al., 2015).

A DMG é caracterizada pelo nível de intolerância á carboidratos, tendo como resultado uma hiperglicemia variante, com diagnóstico durante a gestação. Pois, o surgimento dessa patologia é conseguinte pela elevação de hormônios contrarreguladores de insulina, fatores pre-determinantes (genético ou ambiental), e estresse fisiológico na gravidez (NETA et al., 2014).

A predominância da hiperglicemia na gestação varia em conformidade dos critérios de diagnósticos aplicados e da população avaliada. Estudos realizados nos últimos anos mostram uma predominância que varia de 1 a 37,7% e uma média mundial de 16,2%. Atualmente, calcula-se que um em cada seis nascimentos ocorra em mulheres com alguma condição de hiperglicemia na gestação, visto que 84% dos casos são consequentes da DMG (BRASIL, 2017).

Quando ocorre alterações nos mecanismos da fisiologia celular tanto na produção quanto na metabolização, o qual leva um aumento de concentração, pode se dizer que o sistema biológico está diante de uma situação de estresse oxidativo, tal fator tem sido associado as alterações fisiológicas analisadas na síndrome metabólica, como a resistência à insulina na Diabetes (TELES et al., 2015).

Em relação ao sistema purinérgico há evidências crescentes de que ele esteja envolvido no mal funcionamento das células β e das reações inflamatórias envolvidas na diabetes. (FONTINO; DAL BEN; ADINOLFI, 2018).

Diante do exposto, com a finalidade de contribuir no âmbito da pesquisa e futuramente a assistência prestada a gestante com DMG, propôs-se desenvolver o presente estudo, cujo objetivo foi analisar o estresse oxidativo e sistema purinérgico em gestantes com DMG e compará-

las com gestantes de Baixo Risco, entretanto a literatura disponibiliza número escasso de trabalhos relacionados a esses temas.

2. OBJETIVOS

2.1. OBJETIVO GERAL

Analisar o perfil epidemiológico de gestantes com diagnóstico de Diabetes mellitus Gestacional e os níveis bioquímicos.

2.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Avaliar os parâmetros bioquímicos do estresse oxidativo e do sistema purinérgico em gestantes com Diabetes Mellitus Gestacional;

3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1. DIABETES MELLITUS GESTACIONAL

A DMG é determinada pela intolerância aos carboidratos, que resulta em hiperglicemia de magnitude variável, seu início ou diagnóstico ocorre na gestação. A fisiopatologia da DMG sucede de uma elevação dos hormônios os quais são contra-reguladores da insulina, pelas condições que predispõe (genética e ambientais) e o estresse gerado na gravidez. O hormônio lactogênico placentário é o principal hormônio que está relacionado a resistência à insulina na gravidez, entretanto, outros hormônios também estão envolvidos como estrógeno, prolactina, cortisol e progesterona (MIRANDA; REIS, 2008).

É recomendado o rastreamento da DMG por conta de a doença ser assintomática e várias gestantes não apresentarem nenhum fator de risco relacionado à diabetes. Dessa forma, o rastreamento é efetuado no terceiro trimestre de gravidez, por volta da 24^a e 28^a semana de gestação. Existem controvérsias na literatura sobre a indicação do rastreamento universal (todas as gestantes) ou seletivo (gestantes de risco). Mas a organização Mundial da Saúde (OMS) recomenda que o rastreamento seja realizado por todas as gestantes (RENZ, 2013).

3.2. ESTRESSE OXIDATIVO

O estresse oxidativo é gerado a partir do desequilíbrio entre antioxidante e pro-oxidantes, onde as espécies antioxidantes estão em desvantagem (FERNANDES, 2012). Na vida aeróbica a oxidação é de suma importância pois produz radicais livres de forma natural, mas também pode ocorrer por alguma disfunção biológica. Desse modo, estes radicais livres são classificados de ERO (espécie reativas de oxigênio) e ERN (espécie reativas de nitrogênio). Atuam na produção de energia, regulação de crescimento celular, na imunidade e na defesa, sinalização intercelular, síntese nas substâncias biológicas, mas quando em excesso são nocivos (SANTOS, 2013).

Os danos deste excesso de ERO, alteram as biomoléculas e resultam em danos a lipídios e proteínas entre outras. E estão associados a várias patologias, como problemas pulmonares e diabetes mellitus tipo II (FERNANDES, 2012). Um dos marcadores mais utilizados para se analisar o dano lipídico é através do teste MDA (metabólico da quebra de peroxilipídeo), detectado através das substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS). Ele analisa os

produtos da oxidação lipídica, aminoácidos e açúcares, como também os pigmentos da produção da bile (LEAL, 2010).

Este excesso de radicais livres pode ser combatido pelos antioxidantes, os quais são produzidos pelo corpo ou na absorção de dieta. Os antioxidantes são caracterizados por regenerar ou evitar a oxidação de outras moléculas, porém necessitam de energia. Alguns sistemas enzimáticos são utilizados para a avaliação da presença de antioxidantes como por exemplo, a SOD (superóxido dismutase), catalase, glutatona (GSH) e a vitamina C entre outros (HALLIWELL et al., 2000).

3.3. SISTEMA PURINÉRGICO

O sistema purinérgico é amplamente expresso em mamíferos e controla uma grande quantidade de processos biológicos, regulando a diferenciação celular, a quimiotaxia, crescimento tumoral, ativando ou inibindo o sistema imune entre muitas outras atuações. Ele consiste em um conjunto de receptores, moléculas sinalizadoras (purinas) e enzimas associadas à membrana, os quais interagem em conjunto para manter a homeostase das células (BURNSTOCK; DI VIRGILIO, 2013).

As Purinas são moléculas fundamentais não apenas para a regulação energética ou como precursoras de ácidos nucleicos, mas também como sinalizadoras extracelulares funcionais em todas as células de um organismo humano (DI VIRGILIO, 2012). As células em homeostase não apresentam quantidades significativas de purinas extracelulares, mas em tecidos com lesão ou outros distúrbios, ATP é lançado ao meio extracelular por meio de danos na membrana inespecíficos ou proteínas transmembranas, como conexinas, panexinas, transportadores abc e por grânulos secretores. Se esse acúmulo de ATP será benéfico ou prejudicial ao indivíduo, isso depende da sua concentração, da taxa de degradação para adenosina e da expressão de receptores P2 pelas células (BURNSTOCK; BOEYNAEMS, 2014).

Uma vez no espaço extracelular, o ATP disponível é rapidamente hidrolisado a ADP e AMP, pela enzima Ectonucleosídeo Trifosfato Difosfohidrolase (NTPDase/CD39) ou pela enzima Ectonucleotideo Pirofosfatase (E-NPP) e em seguida transformado em adenosina, pela enzima 5'-Ectonucleotidase (CD73). Se o ATP não for degradado, ele se ligará aos receptores P2, que são subdivididos em P2X (P2X1-7), composto por canais iônicos (promovem influxo de Na⁺, K⁺, Ca²⁺, e Mg²⁺), e P2Y, acoplado à proteína G. Oito subtipos P2Y foram identificados em humanos: P2Y1, P2Y2, P2Y4, P2Y6, P2Y11, P2Y12, P2Y13, e P2Y14, os quais

apresentam grande heterogeneidade quanto ao agonista, tipo de proteína G associada e via de sinalização intracelular desencadeada. Por exemplo, os subtipos P2Y1, P2Y12, e P2Y13 são ativados principalmente pelo ADP, enquanto a pirimidina UDP é o agonista de P2Y6 e o ATP ativa P2Y11. Os receptores P2X apenas apresentam alta afinidade pelo ATP. As ações biológicas da adenosina, por sua vez, são mediadas por quatro receptores metabotrópicos classificados como P1, sendo eles: A1, A2a, A2b e A3 (FERRARI; MALAVASI; ANTONIOLI, 2017).

A diabetes afeta 1 em cada 3 adultos no mundo (WHO, 2016) e está classificada em dois grupos: diabetes tipo 1 (T1D) e diabetes tipo 2 (T2D). T1D é o produto do ataque imunológico às células beta (β) produtoras de insulina, localizadas no pâncreas. Já T2D é caracterizada pela resistência à insulina e à disfunção das células β , derivada de um processo inflamatório crônico. Em ambos os tipos, a hiperglicemia é responsável por complicações micro e macrovasculares a longo prazo, responsáveis pela alta morbidade e mortalidade associada a essa doença (FONTINO; DAL BEN; ADINOLFI, 2018).

Durante a gravidez, as mulheres podem desenvolver a chamada diabetes gestacional, que ocorre em cerca de 7% das gestações (AMERICAN DIABETES ASSOCIATION, 2004). A diabetes gestacional é caracterizada pelo metabolismo anormal de D-glicose e alteração na sinalização da insulina na circulação fetoplacental. Também inclui aumento da captação do aminoácido catiônico L-arginina, substrato para a síntese de óxido nítrico nas veias umbilicais humanas (GUZMÁN-GUTIÉRREZ, E.; ARMELLA, A.; TOLEDO, F. et al.; 2016). Suas causas não estão completamente elucidadas, mas há evidências de que a obesidade favorece o desenvolvimento de diabetes gestacional (SUSAN, Y. et al.; 2007).

O ATP interfere na secreção de insulina ativando receptores P2 na membrana das células β pancreáticas, e esse efeito depende da glicemia do indivíduo. Em linhagens de insulinoma (INS-1) de ratos, a ativação de receptores P2X3 causou redução na secreção de insulina independentemente da concentração de glicose. A ativação de receptores P2Y4 demonstrou estimular a secreção de insulina independentemente da concentração de glicose sanguínea. Já o estímulo dos receptores P2Y1 e P2Y6 demonstrou inibição da liberação de insulina na presença de altas concentrações de glicose, enquanto outros estudos evidenciaram que a ativação de P2Y1 e P2Y6 estimula a secreção de insulina quando em baixas concentrações de glicose (FONTINO; DAL BEN; ADINOLFI, 2018).

A atividade do receptor P2X7 está envolvida em reações imune e na secreção de IL-1 β , cuja expressão e liberação está aumentada em ilhotas pancreáticas afetadas por T2D, contribuindo com a doença. O bloqueio de IL-1 β por antagonistas (IL-1Ra) mostrou melhora nos níveis de glicose e no funcionamento das células β , principalmente por reduzir a inflamação nas

ilhas. No entanto, a literatura atual está distante de ser conclusiva sobre a via P2X7 na etiologia da T2D. A expressão de das enzimas CD39, ADA2 e CD73 demonstrou estar aumentada nas células de pacientes com T2D. Estudos também demonstraram que esses pacientes apresentam maior porcentagem de A2a nas células TCD8 (FONTINO; DAL BEN; ADINOLFI, 2018).

Em geral, há evidências crescentes de que o sistema purinérgico está envolvido na etiologia do mal funcionamento das células β e das reações inflamatórias envolvidas na diabetes. Até o momento, CD39, CD73, P2X7, P2X3 e ADA são os principais candidatos terapêuticos para o tratamento de T1D, enquanto P2X7, A2B e A1 são melhores para T2D (FONTINO; DAL BEN; ADINOLFI, 2018).

4. MÉTODOLOGIA

A pesquisa foi de abordagem quantitativa, de caráter experimental. O estudo foi realizado em dois momentos, primeiramente em uma clínica no Oeste de Santa Catarina, a qual atende gestantes com Diabetes Mellitus Gestacional (DMG). Sendo que, ela é uma clínica de referência em gestação de alto risco, um serviço com convênio com o sistema único de saúde (SUS). E em um segundo momento foi nos Centros de Saúde da Família de Chapecó. Os critérios de inclusão para a pesquisa foram as gestantes com DMG que realizaram o acompanhamento na clínica do município de Chapecó/SC, com idade superior a 18 anos. Gestantes de Baixo Risco (BR) que realizaram o acompanhamento nos Centros de Saúde da Família em Chapecó. Já como critérios de exclusão foram as gestantes com Diabetes Mellitus Crônica, síndrome hipertensiva crônica e outras comorbidades e que tenham idade inferior a 18 anos.

4.1. PROCEDIMENTO DE COLETA DE DADOS

A coleta de dados foi realizada no período de junho a dezembro de 2018. Participaram da pesquisa 26 gestantes, pois foi o número máximo que aceitaram participar, sendo 13 gestantes com DMG e as outras 13 gestantes de BR. Primeiramente foi analisado a lista de gestantes que estavam realizando o acompanhamento do pré-natal, na clínica e nos Centro de saúde da Família, abordamos cada gestante individualmente para conversar, fazendo um convite e em seguida explicando o propósito da pesquisa e a importância da sua participação. Somente foi realizada a coleta de dados após as participantes assinarem o Termo de Consentimento Livre e

Esclarecido (TCLE) (APENDICE I). Posteriormente foi coletados alguns dados (APENDICE II) e em seguida uma coleta de sangue para análise bioquímica do estresse oxidativo e sistema purinérgico.

4.2. DIMENSÃO ÉTICA

O presente estudo estava vinculado ao Macroprojeto “Síndromes hipertensivas gestacionais (SHR): Análise da correlação clínica com as repercussões do leito vascular placentário de gestantes de alto risco”, o qual possui aprovação pelo comitê de ética em pesquisa (CEP) da Universidade Federal da Fronteira Sul (UFFS), e foi registrado mediante a Plataforma Brasil. CAAE: 67328417.3.0000.5564 (ANEXO I). Respeitando a resolução n° 466 de 12 de dezembro de 2012 do Conselho Nacional de Saúde, que considera o respeito pela dignidade humana e proteção da vida aos participantes de pesquisa científica que envolvem seres humanos (BRASIL, 2012). Após o projeto foi apresentado para os responsáveis do serviço de saúde-Secretaria da Saúde do município de Chapecó, os quais assinaram a solicitação de autorização para a implementação do projeto de pesquisa (ANEXO II). As participantes que aceitaram participar da pesquisa assinaram a TCLE em duas vias, sendo que uma ficou com a participante e a outra com a responsável pela pesquisa no período de cinco anos, após esse período todos os arquivos armazenados tanto físico como digital serão destruídos/deletados.

4.3. ANÁLISE DOS DADOS

A sequência de locação das amostras de sangue foi codificada com a letra G (gestante) e seguido de número de acordo com a ordem de coleta. Os dados obtidos foram tabulados em uma planilha do Libre Office, em seguida, foram submetidos aos testes estatísticos adequados para cada amostra. A análise estatística foi realizada da seguinte forma: as diferenças entre os grupos, em relação às variáveis do estudo, foram avaliadas por análise de variância ANOVA. Dessa forma, quando as amostras não apresentaram distribuição normal, foram submetidas à análise de variância ANOVA, pelo teste de Kruskal-Wallis. E quando houve diferença, os grupos foram comparados entre si com correção de Student-Newman-Keuls para variáveis paramétricas e correção de Dunn para variáveis não paramétricas. Os resultados foram apresentados com média±desvio padrão, para variáveis paramétricas, e sob a forma de mediana e faixa de variação para variáveis não paramétricas. Foram consideradas estatisticamente significantes as

diferenças em que a probabilidade de rejeição da hipótese de nulidade foi menor que 5% ($p < 0,05$).

4.3.1 Separação da amostra de sangue:

O plasma rico em plaquetas foi preparado pelo método de Pilla e col. modificado por Lunkes e col. O sangue total foi coletado com citrato de sódio como anticoagulante e centrifugado a 1500 rpm por 10 minutos. Depois, o plasma rico em plaquetas foi centrifugado a 5000 rpm por 30 minutos e lavado com tampão HEPES 3,5 mM, pH 7,0 pelo menos duas vezes. Os sedimentos de plaquetas foram suspensos em tampão HEPES e a proteína foi ajustada para 0,4-0,6 mg / mL.

4.3.2 Estresse oxidativo:

- Determinação das substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS) foi de acordo com Ohkawa e colaboradores (1979). A formação de malondialdeído, pela quebra de ácidos graxos poliinsaturados, é um conveniente método para se determinar o grau de peroxidação lipídica.
- Atividade da glutathione peroxidase (GPx) foi de acordo com Paglia e Valentine (1967). Sua função é como enzima antioxidante contra o estresse oxidativo.
- O teste do óxido nítrico, que detecta a presença de nitrito orgânico na amostra foi realizado de acordo com protocolo de Choi et al. (2012).
- As análises de carbonilação proteica foram segundo protocolos descritos por Levine et al. (1990). As proteínas estão entre os principais alvos para oxidantes devido a sua alta velocidade para várias reações com ERs e sua abundância nos sistemas biológicos.
- A atividade da enzima mieloperoxidase (MPO), foi de acordo com Suzuki et al (1983). A MPO é uma heme enzima produzida por mediadores inflamatórios e liberada a partir de leucócitos no local da lesão, portanto a MPO reflete a ativação de ambos neutrófilos e linfócitos. Essa enzima tem papel fundamental na produção de ER e na sinalização celular.
- Os níveis plasmáticos de vitamina C foram determinados segundo Galley et al. (1996). Este método objetiva a geração de um cromógeno laranja produzido através da reação da vitamina C com a dinitrofenilhidrazina a 37°C, que pode ser medido espectrofotometricamente a 520 nm.

- A quantificação dos grupamentos tióis, biomarcador clássico de estresse oxidativo, foi de acordo com Ellman (1959).

4.3.3 Sistema purinérgico:

A atividade das enzimas foi realizada pelos métodos descritos, com modificações: E-NTP-Dase, determinada segundo Pilla et al. (1996) modificado por Lunkes et al. (2003) e a atividade da enzima ADA segundo método descrito por Giusti (1984).

Os dados obtidos foram analisados pelo software GraphPad Prism 6.0 (programa estatístico) através do teste T de Student.

5. RESULTADOS

5.1. ESTRESSE OXIDATIVO

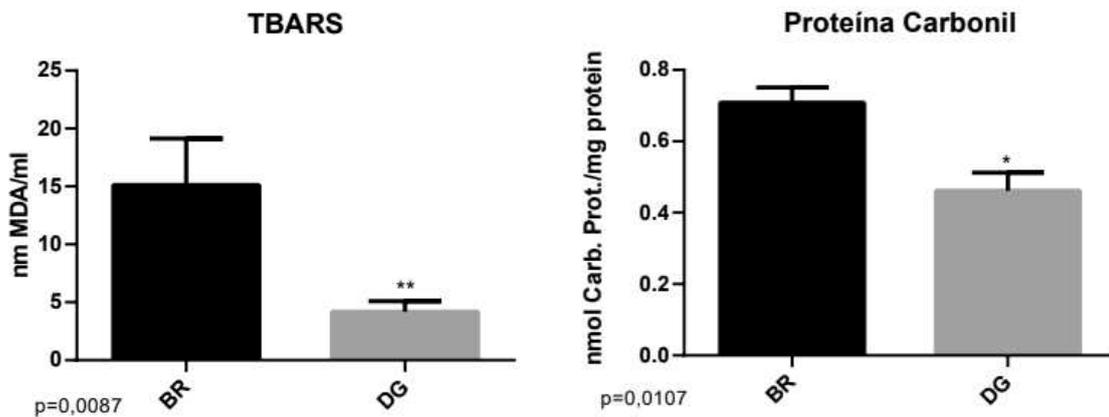


GRÁFICO 1: Níveis de TBARS. Os níveis de TBARS foram significativamente elevados nas gestantes de BR quando comparado a gestantes com DMG.

GRÁFICO 2: Níveis de Proteína Carbonil. Os níveis da Proteína Carbonil foram significativamente elevados nas gestantes de BR quando comparado a gestantes com DMG.

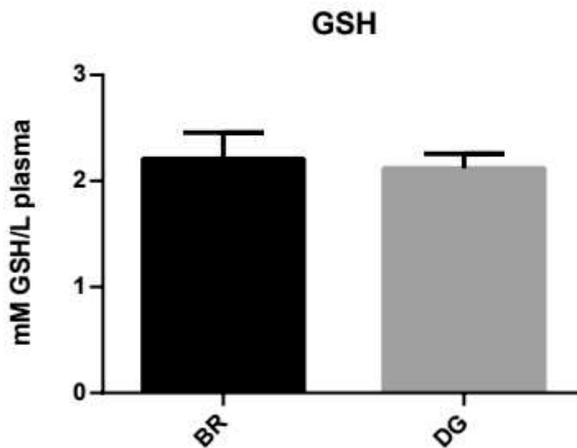


GRÁFICO 3: Níveis de GSH: Não houve diferença significativa da GSH entre os dois grupos estudados.

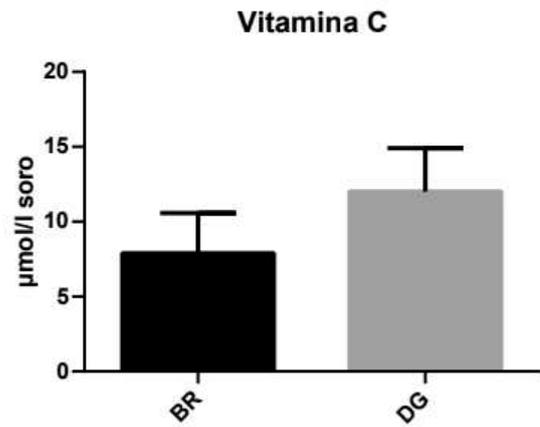


GRÁFICO 4: Níveis de Vitamina C: Nos níveis de vitamina C observou-se uma tendência ao aumento desta vitamina em gestantes com DMG em relação as BR.

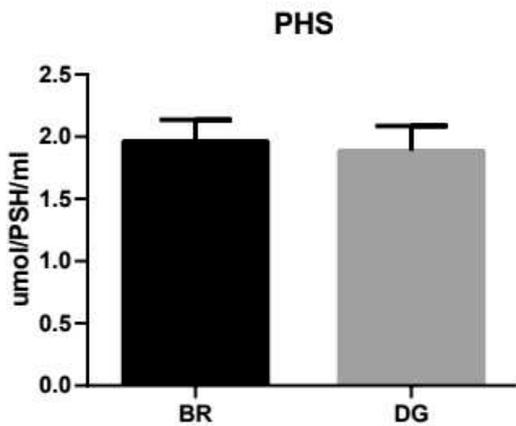


GRÁFICO 5: Níveis de PHS: Não houve diferença significativa do PHS entre os dois grupos analisados.

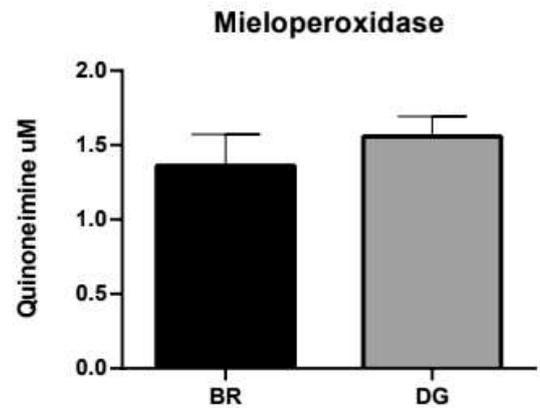


GRÁFICO 6: Níveis de Mieloperoxidase: Não houve diferença significativa da Mieloperoxidase entre os dois grupos.

5.2. Sistema purinérgico

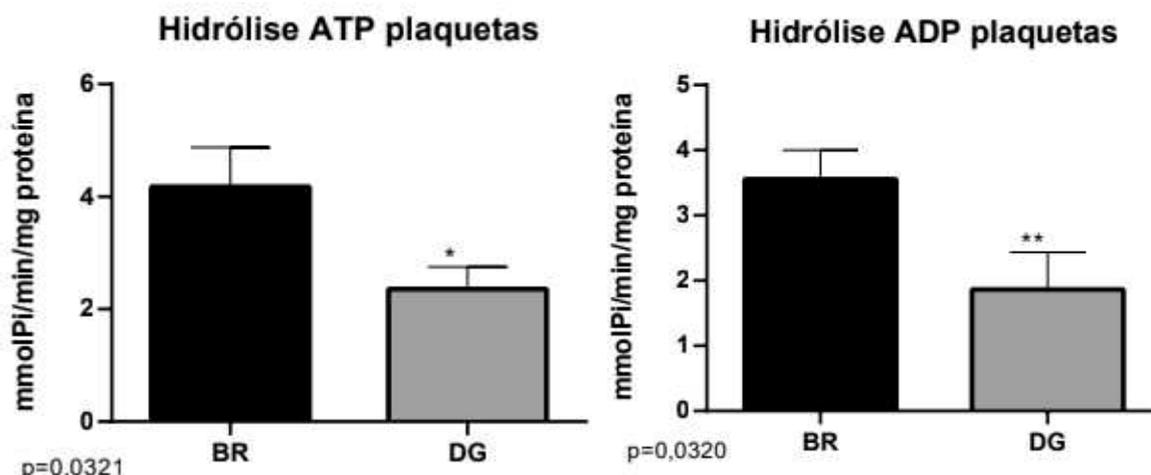


GRÁFICO 7: Níveis de Hidrólise de ATP de Plaquetas: Observou-se uma diminuição significativa na hidrólise de ATP de plaquetas em gestantes com DMG em relação as de BR.

GRÁFICO 8: Níveis de hidrólise de ADP nas Plaquetas: Observou-se uma diminuição significativa na hidrólise de ADP de plaquetas em gestantes com DMG em

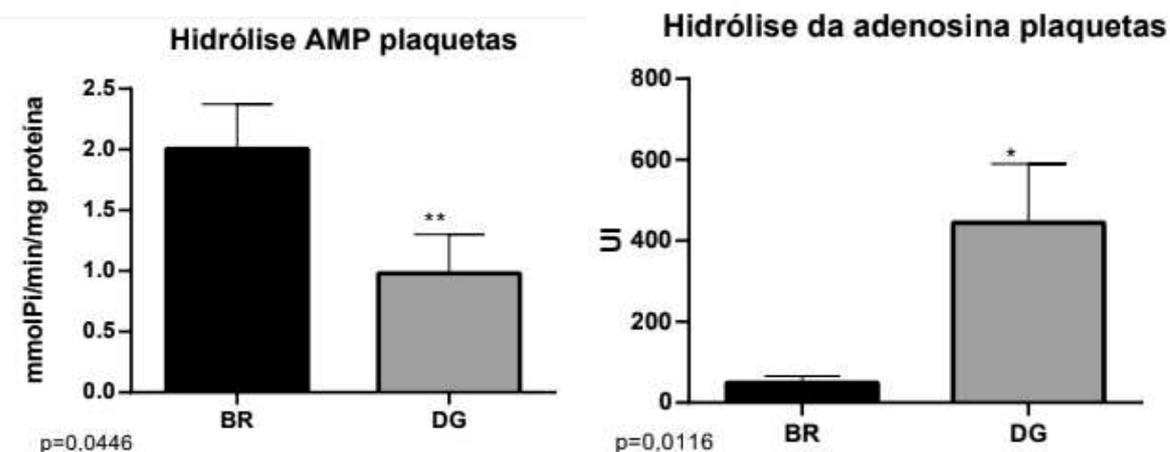


GRÁFICO 9: Níveis de Hidrólise AMP de Plaquetas: Observou-se uma diminuição significativa na hidrólise de AMP de plaquetas em gestantes com DMG em relação as de BR.

GRÁFICO 10: Níveis de Hidrólise da Adenosina de Plaquetas. Observou-se um aumento significativo na hidrólise de Adenosina de plaquetas em gestantes com DMG em relação as de BR.

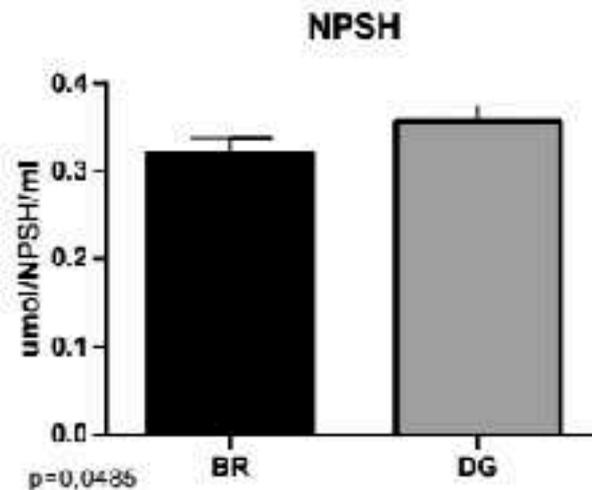
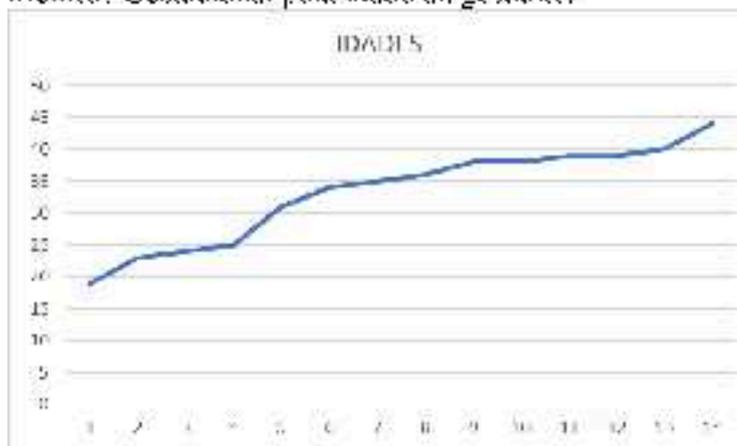


GRÁFICO 11: Níveis de NPSH. Não houve diferença significativa de NPSH entre os dois grupos analisados.

GRÁFICO 12: Caracterização epidemiológica de gestantes que desenvolveram Diabetes Mellitus Gestacional pela idade da gestante.



FONTE: Autora do estudo

GRÁFICO 13: Caracterização epidemiológica de gestantes que desenvolveram Diabetes Mellitus Gestacional por idade gestacional.



FONTE: Autora do estudo

6. DISCUSSÃO

A gestação é caracterizada como um período fisiológico em que ocorre uma maior sensibilidade a resistência à insulina e alterações no estresse oxidativo, pois é na placenta onde acontece uma produção de hormônios diabetogênicos, os quais participam na formação de EROs. Em gestações de baixo risco, esta produção é reparada através do aumento de antioxidantes. Mas, nos casos de diabetes esta produção aumentada, excede as defesas antioxidantes, alterando os níveis de estresse oxidativo (RODRIGUES, 2017).

Às análises bioquímicas do estresse oxidativo em gestantes com DMG já foram observadas na literatura por meio do aumento da peroxidação lipídica, a redução de antioxidantes enzimáticos como por exemplo a catalase e não enzimáticos como a Vitamina C (RODRIGUES, 2016).

Em nosso estudo, a concentração de TBARS foi significativamente menor em gestantes com DMG quando comparado as de BR, tal resultado foi similar citado por outros autores (ROMERO et al., 2010; LEAL, 2010). Em outro estudo com ratas, observou-se que os níveis de TBARS encontraram-se elevados em ratas diabéticas quando comparadas as de controle (RUDGE et al, 2013). Tal resultado comprova, o que Suárez et al (2007), descreveu em seu estudo, que as gestantes com DM ocorrem uma maior concentração de estresse oxidativo.

A Proteína Carbonil (PC) trata-se de um marcador, onde é avaliado os danos as proteínas, através de oxidantes. Estudos mostram uma pequena correlação entre este marcador e o controle glicêmico, observando-se um prejuízo na diabetes mellitus tipo 2. (LI et al 2016). Em nosso estudo, a concentração da PC foi significativamente maior nas gestantes de BR quando comparada às DMG. Li et al (2016), em seu estudo mostrou uma elevação do estresse oxidativo entre 16 e 20 semanas anteriormente ao diagnóstico de DMG, tal elevação pode dar-se antes mesmo do início da DMG e aumentar no decorrer da gestação. Desse modo, tal aumento pode auxiliar no desenvolvimento desta patologia.

A glutathiona (GSH) atua na proteção das lesões causadas pelos metais como o íon ferro, como também na eliminação de resíduos da peroxidação lipídica. Sua diminuição prejudica o funcionamento de outras enzimas antioxidantes, tendo como resultado dano nas células, subsidiando para a patologia da Diabetes Mellitus (LIRA et al., 2015). Não houve diferença significativa da GSH entre esses dois grupos neste estudo.

A vitamina C na DMG indica que as modificações que ocorrem em sua concentração podem estar relacionadas ao fato da toxicidade do oxigênio a sensibilidade do endotélio vascular. Através da concentração da Vitamina C pode-se avaliar a predisposição dos antioxidantes

na quebra da cadeia e dessa forma inibir a formação da peroxidação lipídica. Em nosso estudo foi maior em gestantes com DMG, contradizendo outros estudos (SUHAIL, 2010).

Os tióis são antioxidantes que atuam na proteção contra as espécies reativas de oxigênio. Sua verificação propicia uma observação indireta sobre as defesas antioxidantes. Estudos recentes mostraram que a homeostase anormal dos tióis, está relacionado a várias doenças dentre elas diabetes tipo I e DMG (AKTUN et al, 2018). Nas concentrações dos grupos Tióis não foi observado alterações significativas, tal fato foi similar a outros estudos (RUDGE et al, 2013).

A sinalização purinérgica se relaciona diretamente com a diabetes, pois tal condição modifica a concentração de ATP extracelular e o nível de degradação do ATP à adenosina (FONTINO, C.; DAL BEN, D.; ADINOLFI, E., 2018). Em nosso estudo houve diferença significativa de ATP entre os dois grupos. No estudo de Leal (2006), ele avaliou a hidrólise de ATP em gestantes normais, com hipertensão e diabetes e comparou a mulheres não grávidas e identificou que esse aumento de ATP possivelmente ocorreu devido a própria gravidez.

A agregação plaquetária só é promovida a partir da ativação das plaquetas, em decorrência dessa ativação o ATP é liberado. Dessa forma, é significativo a participação de um mecanismo enzimático que hidrolise o ADP na circulação, pois auxilia na delimitação na agregação plaquetária, evitando assim a formação de trombos. A agregação plaquetária induzida pelo ADP é resultado da sinalização de dois tipos de receptores de nucleotídeos que são ligados a proteína-G (P2Y₁ e P2T_{AC}). Desse modo, alguns estudos mostram que nucleotídeos extracelulares podem estar atuando como mensageiros, nos mecanismos hemostáticos e vasculares, nas células inflamatórias, nos sistemas exócrino e endócrino, entre outros (LEAL, 2006).

Muitos mediadores estão envolvidos no processo de agregação plaquetária como a trombina, epinefrina, tromboxanos, colágeno e o ADP. Quando ocorre a adesão das plaquetas nas células endoteliais, começa o processo de reparação por meio da liberação de mediadores. Dentre eles, o ADP, o qual atua na amplificação e propagação da resposta das plaquetas em relação a agregação plaquetária (BORN, 1962).

Em nosso estudo houve diferença significativa do ADP quando comparado as gestantes com DMG em relação as de BR. No estudo de Stefanello (2016), realizado com ratas tratadas com agente hiperglicemiante estreptozotocina, houve um aumento do ADP na agregação plaquetária. Sabe-se que a insulina é uma molécula sinalizadora como também inibidora da ativação plaquetária, uma das vias da qual inibe é o receptor P2Y₁₂ na formação do AMPc (FERREIRA et al., 2006). Quando em baixa quantidade ou quando as células são resistentes a ela, a

insulina não consegue desempenhar suas funções na inibição da agregação plaquetária. Desse modo, pacientes diabéticos tendem a ter uma maior agregação plaquetária. Entretanto, nosso estudo houve diminuição da hidrólise de AMP nas gestantes com DMG, fato similar citado em outros estudos (STEFANELLO, 2016).

No estudo de Lunkes et al (2004) com ratas diabéticas, as quais foram induzidas pelo aloxan (análogo tóxico da glicose, que desencadeia diabete tipo 1), esta indução mostrou que a elevação dos níveis de glicose, pode estar relacionado ao aumento de hidrólise dos nucleotídeos com maior produção de adenosina.

A adenosina (ADA), nos vasos sanguíneos, provém de nucleotídeos que são liberados das plaquetas (DONOSO et al., 2005). Em relação ao sistema purinérgico, constata-se que a redução do transporte de adenosina leva ao aumento nos níveis extracelulares deste nucleosídeo no endotélio das veias umbilicais. O endotélio de tais veias umbilicais exibe atividades elevadas dos receptores A1a e A2a dependendo dos níveis de insulina, o que representa que a adenosina pode estar atuando como auxiliar dos efeitos biológicos da insulina na diabetes gestacional (GUZMÁN-GUTIÉRREZ, E.; ARMELLA, A.; TOLEDO, F. et al.; 2016). Em nosso estudo a hidrólise da adenosina de plaquetas foi maior nas gestantes com DMG quando comparado as de BR. No estudo de Chelliah e Arumalla (2017), eles encontraram um aumento da atividade da adenosina em gestantes normais e com DMG em relação a um grupo de mulheres não gestantes, e sugeriram que este aumento ocorreu devido a um desequilíbrio das citocinas.

Leal (2006), sugeriu em seu estudo que o aumento da hidrólise de ATP, ADP e AMP nas gestantes hipertensas, DMG e normais em relação as mulheres não grávidas ocorra para auxiliar no parto ou no puerpério na precaução de alterações na hemostasia.

A amostra do nosso estudo foi constituída por 13 gestantes, as idades das gestantes variaram de 19 a 44 anos. Com idades gestacionais de 37 a 40 semanas de gestação, dentre elas 4 (30,8%) são nulíparas, e 9 (69,2%) multíparas.

7. CONCLUSÃO

- A Diabetes Mellitus gestacional provocou alterações oxidativas nas pacientes analisadas, sugerimos que tais alterações tenham ocorrido devido as defesas antioxidantes estarem aumentadas
- O gráfico observado nas gestantes com DMG quando comparada com gestantes de BR foi uma alteração na hidrólise dos nucleotídeos pelas enzimas que estão nas plaquetas.

- Este estudo foi de suma importância para uma melhor compreensão dos mecanismos moleculares na DMG, auxiliando talvez para futuros alvos terapêuticos e na qualidade do cuidado prestado para estas pacientes.

REFERÊNCIAS

- AKTUN LH, AYKANAT Y, EREL Ö, NEŞELIOĞLU S, OLMUSCELİK O. **A Study Over Thiol Disulfide Homeostasis in Cord Blood in Women With Gestational Diabetes**. *J Family Reprod Health*. 2018;12(4):217–222.
- BRASIL. ORGANIZAÇÃO PAN-AMERICANA DA SAÚDE/ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DA SAÚDE (OPAS/OMS) NO BRASIL. . **Rastreamento E Diagnóstico De Diabetes Mellitus Gestacional No Brasil**. Brasília: All Type Assessoria Editorial Ltda, 2017. 36 p. Disponível em: <<https://www.diabetes.org.br/profissionais/images/pdf/diabetes-gestacional-relatorio.pdf>>. Acesso em: 10 out. 2019.
- BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Atenção a Saúde. **Gestação de alto risco: manual técnico. Departamento de Ações Programáticas Estratégicas**. Brasília, DF, 5 ed., 2012. Disponível em: <http://bvsmms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/manual_tecnico_gestacao_alto_risco.pdf>. Acesso em: 07 dez, 2018
- BURNSTOCK, G.; BOEYNAEMS, J.M. **Purinergic signalling and immune cells. Purinergic Signalling** 10, nº4, 2014.
- BURNSTOCK, G.; DI VIRGILIO, F. “Purinergic Signalling and Cancer”. **Purinergic Signalling** 9, nº 4, 2013.
- DONOSO, Verónica et al. Um receptor de adenosina 2B medeia a vasoconstrição coriônica humana e os sinais através da cascata de ácido araquidônico. **American Journal Of Physiology-heart And Circulatory Fisiology**, Chile, v. 288, n. 5, p.3-9, 2005. Disponível em: <<https://www.physiology.org/doi/full/10.1152/ajpheart.00548.2004>>. Acesso em: 14 out. 2019.
- DI VIRGILIO, F. Purines, **Purinergic Receptors, and Cancer**. American Association for Cancer Research, 2012.
- Diretrizes da Sociedade Brasileira de Diabetes, 2014. **Capítulo 8- Tratamento do Diabetes Gestacional e da Gestante com Diabetes**. Disponível em : <<https://www.diabetes.org.br/ebook/component/k2/item/59-tratamento-do-diabetes-gestacional-e-da-gestante-com-diabetes>>. Acesso em: 07 dez, 2018
- Diretrizes da Sociedade Brasileira de Diabetes, 2014-2015. Disponível em: <<https://www.diabetes.org.br/profissionais/images/pdf/diabetes-tipo-2/002-Diretrizes-SBD-Classificacao-pg5.pdf>>. Acesso em: 07 dez, 2018
- CHELLIAH, Selvakumar; ARUMALLA, Veerendra Kumar. Study of Adenosine Deaminase Activity and Inflammatory Status in Gestational Diabetes Mellitus. **International Journal Of Biotechnology And Biochemistry**, India, v. 13, n. 3, p.225-235, 2017. Disponível em: <https://www.ripublication.com/ijbb17/ijbbv13n3_04.pdf>. Acesso em: 12 out. 2019.
- FERRARI, D.; MALAVASI, F.; ANTONIOLI, L. A Purinergic Trail for Metastases. **Trends in Pharmacological Sciences** 38, 2017.

FONTINO, C.; DAL BEN, D.; ADINOLFI, E. Emerging Roles of Purinergic Signaling in Diabetes. **Medical Chemistry**, 2018.

GUZMÁN-GUTIÉRREZ, E.; ARMELLA, A.; TOLEDO, F. et al. Insulin requires A1 adenosine receptors expression to reverse gestational diabetes-increased L-arginine transport in human umbilical vein endothelium. **Purinergic Signalling**, 2016.

HALLIWELL, B.; CLEMENT, M. V.; LONG, L. H. Hydrogen peroxide in the human body. **Febs Letters**, v. 486, n. 1, p. 10-13, 2000.

HOD, M. et al. The International Federation of Gynecology and Obstetrics (FIGO) Initiative on gestational diabetes mellitus: A pragmatic guide for diagnosis, management, and care. **Int J Gynaecol Obstet**, v.131, n.3, p.173-211, 2015. Disponível em: <https://www.worlddiabetesfoundation.org/sites/default/files/FIGO_Initiative_on_GDM.pdf>. Acesso em: 07 dez, 2018

LEAL, Claudio Alberto Martins. **Atividade das enzimas ntpdase e 5'- nucleotidase em plaquetas de gestantes normais e de alto risco**. 2006. 80 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Farmácia, Programa de Pós-graduação em Ciências Farmacêuticas, Área de Concentração em Análises Clínicas e Toxicológicas, Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, 2006. Disponível em: <<https://repositorio.ufsm.br/bitstream/handle/1/5916/Claudio.pdf?sequence=1&isAllowed=y>>. Acesso em: 20 out. 2019.

LUZ, B. G. et al. O perfil das gestantes de alto risco acompanhadas no pré-natal da policlínica de Divinópolis-MG, no biênio 2013-14. **J Health Biol Sci**, v.3, n.3, p.137-143, 2015. Disponível em: <<http://periodicos.unichristus.edu.br/index.php/jhbs/article/view/177/119>>. Acesso em: 07 dez, 2018

MIRANDA, P.a.c; REIS, R. Diabetes mellitus gestacional. **Revista da Associação Médica Brasileira**, [s.l.], v. 54, n. 6, p.471-486, dez. 2008. Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/ramb/v54n6/v54n6a06.pdf>>. Acesso em: 13 dez. 18.

RENZ, P. B. **Avaliação do desempenho diagnóstico do teste de Hemoglobina Glicada (A1c) para detecção de Diabetes mellitus em gestantes**. 2013. 50 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Medicina, Universidade Federal do Rio Grande do Sul Faculdade de Medicina, Porto Alegre, 2013.

SILVA, Jean C et al. Impacto do tratamento intensivo do diabetes melito gestacional no peso do recém nascido. **Arquivos Catarinenses de Medicina**, Joinville – Sc, v. 39, n. 1, p.27-28, 2010. Disponível em: <<http://www.acm.org.br/acm/revista/pdf/artigos/781.pdf>>. Acesso em: 20 out. 2019.

SUSAN, Y. et al. Maternal Obesity and Risk of Gestational Diabetes Mellitus. **Diabetes Care**, 2007.

VALVERDE, A. C. **Diabetes Gestacional: Causas, Sintomas, Formas De Tratamento E O Papel Do Exercício Físico**. 2015. 25 f. TCC (Graduação) - Curso de Educação Física, Universidade do Vale do Paraíba Faculdade de Educação e Artes Curso de Educação Física, São José dos Campos, 2015.

WHO - World Health Organization. World Health Day 2016: **Global Report on Diabetes**. Geneva, 2016.

SILVA, Amanda L. da et al. Desfechos neonatais de acordo com diferentes terapêuticas do diabetes mellitus gestacional,. **J. Pediatr.** (Rio J.), Porto Alegre, v. 93, n. 1, p. 87-93, Feb. 2017. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_art-text&pid=S0021-75572017000100087&lng=en&nrm=iso>. Acesso em 25 Nov. 2019.

NETA, Francisca Adrielle Vieira et al. Avaliação do perfil e dos cuidados no pré-natal de mulheres com diabetes mellitus gestacional. **Revista da Rede de Enfermagem do Nordeste**, Fortaleza, v. 15, n. 5, p.3-4, 2014. Disponível em: <<https://www.re-dalyc.org/pdf/3240/324032944012.pdf>>. Acesso em: 10 out. 2019.

STEFANELLO, Naiara. **Efeito do ácido clorogênico, cafeína e café nas alterações oxidativas e no sistema purinérgico de ratos diabéticos induzidos por estreptozotocina.** 2016. 222 f. Tese (Doutorado) - Curso de Ciências Biológicas, Curso de Doutorado do Programa de Pós-graduação em Ciências Biológicas: Bioquímica Toxicológica do Centro de Ciências Naturais e Exatas, Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, 2016. Disponível em: <https://repositorio.ufsm.br/bitstream/handle/1/17979/TES_PPGCBBT_2016_STEFANELLO_NAIARA.pdf?sequence=1&isAllowed=y>. Acesso em: 15 out. 2019.

TELES, Yanna Carolina Ferreira et al. O papel do estresse oxidativo na síndrome metabólica. **J Health Sci Inst.**, Paraíba, v. 1, n. 33, p.89-93, 2015. Disponível em: <https://www.unip.br/presencial/comunicacao/publicacoes/ics/edicoes/2015/01_jan-mar/V33_n1_2015_p89a93.pdf>. Acesso em: 10 out. 2019.

CHOI W.S, et al. The regulatory effect of veratric acid on NO production in LPS-stimulated RAW264.7 macrophage cells. **Cell Immunol.** v. 280, n.2, p. 164-170, 2012.

ELLMAN, G. L. Tissue sulfhydryl groups. **Arch Biochem Biophys**, v.82, n.1, p.70-77. 1959.
GALLEY H, et al. The effects of intravenous antioxidants in patients with septic shock. **Free Radic Biol Med.** 23(5): 768-74. 1996.

GIUSTI, G. ET AL. Colorimetric method. In: HU, B. (Ed.). *Methods of Enzymatic Analysis.* [s.l.] **Weinheim Verlag Chemie**, 1984. p. 315–323.

LEVINE R. L. et al. (1990): Determination of carbonyl content in oxidatively modified proteins. **Methods Enzymol.** 186, 464—478.

LUNKES, G. I. et al. Enzymes that hydrolyze adenine nucleotides in diabetes and associated pathologies. **Thrombosis Research**, v. 109, n. 4, p. 189–194, 2003.

OHKAWA, H.; OHISHI, N.; YAGI, K. Assay for lipid peroxidation in animal tissues by thiobarbituric acid reaction. **Annals of Biochemistry**, v. 95, p. 351–358, 1979.

PAGLIA, D. E.; VALENTINE, W. N. Studies on the quantitative and qualitative characterization of erythrocyte glutathione peroxidase. **Lab Clin Med.**, v. 70, p.158–169, 1967.

PILLA, C. et al. ATP diphosphohydrolase activity (apyrase, EC 3.6.1.5) in human blood platelets. **Platelets**, v. 7, n. 4, p. 225–30, 1996.

APÊNDICE I

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO (TCLE): Para Gestante Portadora De Diabetes Mellitus Gestacional

ANÁLISE BIOQUÍMICA DO SISTEMA PURINÉRGICO EM GESTANTES COM DIABETES MELLITUS GESTACIONAL

Prezado participante,

Você está sendo convidado(a) a participar da pesquisa Análise bioquímica do estresse oxidativo e sistema purinérgico em gestantes com Diabetes Mellitus Gestacional.

Desenvolvida por Bruna Laís Hardt, discente do curso de graduação em Enfermagem da Universidade Federal da Fronteira Sul (UFFS), Campus de Chapecó, sob orientação da Professora Dra. Débora Tavares Resende e Silva.

O objetivo central do estudo é: Analisar os componentes do sangue (obtidos através de uma amostra de sangue), para poder correlacioná-los às repercussões no estresse oxidativo e sistema purinérgico de gestantes com Diabetes Mellitus Gestacional (DMG) e gestantes de baixo risco.

O convite a sua participação se deve à condição de estar gestante, ser portadora de DMG. Considera-se a sua participação muito importante, pois serão analisados o sangue coletado e assim se terá o conhecimento do perfil da gestante diabética.

Sua participação não é obrigatória e você tem plena autonomia para decidir se quer ou não participar, bem como desistir da colaboração neste estudo quando desejar, sem necessidade de qualquer explicação e sem nenhuma forma de penalização. Você não será penalizado de nenhuma maneira caso decida não consentir sua participação, ou desista da mesma. Contudo, ela é muito importante para a execução da pesquisa.

Você não receberá remuneração e nenhum tipo de recompensa nesta pesquisa, sendo sua participação voluntária.

Serão garantidas a confidencialidade e a privacidade das informações por você prestadas. Qualquer dado que possa identificá-lo será omitido na divulgação dos resultados da pesquisa e o material armazenado em local seguro.

A qualquer momento, durante a pesquisa, ou posteriormente, você poderá solicitar do pesquisador informações sobre sua participação e/ou sobre a pesquisa, o que poderá ser feito através dos meios de contato explicitados neste Termo.

A fim de manter o anonimato dos sujeitos, estes serão codificados com a letra G (gestante) e seguido de número de acordo com a ordem de coleta.

A sua participação consistirá em autorizar uma coleta de 10 ml de sangue para serem realizados exames relacionados ao estresse oxidativo e sistema purinérgico referentes a pesquisa. A coleta do sangue será realizada por profissionais enfermeiros participantes deste projeto de pesquisa na clínica da mulher no momento da consulta de pré-natal. Serão coletadas essas informações de 15 gestantes diabéticas.

Ao final da pesquisa, todo material será mantido em arquivo, físico ou digital, por um período de cinco anos pela pesquisadora responsável.

O benefício relacionado com a sua colaboração nesta pesquisa é o de adquirir o conhecimento sobre o dano oxidativo e a via de sinalização purinérgica além de buscar identificar qual é o perfil das gestantes acometidas pela DMG e a partir disso poder elaborar estratégias para a prevenção de novos casos.

A participação na pesquisa poderá causar riscos relativos à participação nesta pesquisa referem-se a algum desconforto causado pela picada da agulha durante a coleta de sangue. Com relação ao possível desconforto gerado pela picada da agulha durante a coleta de sangue, este pode gerar uma pequena inflamação local e/ou hematoma. Para minimizar esse risco, algumas medidas serão adotadas: o braço da coleta deverá estar em posição adequada que será informada pelo técnico responsável pela coleta, mantendo pressionado no local da punção por um tempo de aproximadamente 5 minutos após o procedimento, evitando dobrar o braço ou carregar peso nos momentos subsequentes à coleta. Caso os riscos previstos (hematoma e/ou pequena inflamação local em decorrência da picada da agulha no momento da coleta de sangue) ocorram, o participante receberá tratamento e acompanhamento até que esses desconfortos desapareçam. Por exemplo, caso haja hematoma no local da coleta de sangue, o participante será acompanhado até que esse hematoma desapareça. O desaparecimento desses desconfortos não deve se estender por mais de 24 horas. Assim, o participante será mantido na pesquisa. Caso os desconfortos permaneçam por mais de 48h, o participante será substituído.

A devolutiva dos resultados aos sujeitos se dará em momento pré-determinado pelos profissionais da equipe de saúde das unidades básicas de saúde e Secretaria Municipal de Saúde. Na oportunidade será explanado os resultados obtidos. A divulgação dos dados obtidos ainda será feita por meio de apresentação em congressos e demais eventos nacionais e internacionais, em publicação de manuscritos em periódicos da área.

Caso concorde em participar, uma via deste termo ficará em seu poder e a outra será entregue ao pesquisador. Não receberá cópia deste termo, mas apenas uma via. Desde já

agradecemos sua participação!

Chapecó, ____ de _____ de _____.

Assinatura do Pesquisador Responsável

Contato profissional com o(a) pesquisador(a) responsável:

Na sala 307 do bloco dos professores da UFFS

e-mail: debora.silva@uffs.edu.br

Endereço para correspondência: Universidade Federal da Fronteira Sul/UFFS, Rodovia SC 484 Km 02, CEP: 89815-899, Chapecó - Santa Catarina – Brasil.

“Em caso de dúvida quanto à condução ética do estudo, entre em contato com o Comitê de Ética em Pesquisa da UFFS”: Tel e Fax - (0XX) 49- 2049-3745 E-Mail: cep.uffs@uffs.edu.br

Endereço para correspondência: Universidade Federal da Fronteira Sul/UFFS - Comitê de Ética em Pesquisa da UFFS , Rua General Osório, 413D - CEP: 89802-210 - Caixa Postal 181 – Centro - Chapecó - Santa Catarina – Brasil)

Declaro que entendi os objetivos e condições de minha participação na pesquisa e concordo em participar.

Nome completo do (a) participante: _____

Assinatura: _____

**APÊNDICE I - TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO (TCLE):
Para Gestante De Baixo Risco**

**ANÁLISE BIOQUÍMICA DO SISTEMA PURINÉRGICO EM GESTANTES COM DI-
ABETES MELLITUS GESTACIONAL**

Prezado participante,

Você está sendo convidado(a) a participar da pesquisa Análise bioquímica do estresse oxidativo e do sistema purinérgico em gestantes com Diabetes Mellitus Gestacional.

Desenvolvida por Bruna Laís Hardt, discente do curso de graduação em Enfermagem da Universidade Federal da Fronteira Sul (UFFS), Campus de Chapecó, sob orientação da Professora Dra. Débora Tavares Resende e Silva.

O objetivo central do estudo é: Analisar os componentes do sangue (obtidos através de uma amostra de sangue), para poder correlacioná-los às repercussões no estresse oxidativo e no sistema purinérgico de gestantes com Diabetes Mellitus Gestacional (DMG) e gestantes de baixo risco.

O convite a sua participação se deve à condição de estar gestante, e não ter nenhuma comorbidade. Considera-se a sua participação muito importante, pois serão analisados o sangue coletado e assim se terá o conhecimento do perfil da gestante diabética.

Sua participação não é obrigatória e você tem plena autonomia para decidir se quer ou não participar, bem como desistir da colaboração neste estudo quando desejar, sem necessidade de qualquer explicação e sem nenhuma forma de penalização. Você não será penalizado de nenhuma maneira caso decida não consentir sua participação, ou desista da mesma. Contudo, ela é muito importante para a execução da pesquisa.

Você não receberá remuneração e nenhum tipo de recompensa nesta pesquisa, sendo sua participação voluntária.

Serão garantidas a confidencialidade e a privacidade das informações por você prestadas. Qualquer dado que possa identificá-lo será omitido na divulgação dos resultados da pesquisa e o material armazenado em local seguro.

A qualquer momento, durante a pesquisa, ou posteriormente, você poderá solicitar do pesquisador informações sobre sua participação e/ou sobre a pesquisa, o que poderá ser feito através dos meios de contato explicitados neste Termo.

A fim de manter o anonimato dos sujeitos, estes serão codificados com a letra G (gestante) e seguido de número de acordo com a ordem de coleta.

A sua participação consistirá em autorizar uma coleta de 10 ml de sangue para serem

realizados exames relacionados ao sistema purinérgico referentes a pesquisa. A coleta do sangue será realizado por profissionais enfermeiros participantes deste projeto de pesquisa na clínica da mulher no momento da consulta de pré-natal. Serão coletadas essas informações de 15 gestantes diabéticas.

Ao final da pesquisa, todo material será mantido em arquivo, físico ou digital, por um período de cinco anos pela pesquisadora responsável.

O benefício relacionado com a sua colaboração nesta pesquisa é o de adquirir o conhecimento do dano oxidativo e via de sinalização purinérgica além de buscar identificar qual é o perfil das gestantes acometidas pela DMG e a partir disso podem ser elaboradas estratégias para a prevenção de novos casos.

A participação na pesquisa poderá causar riscos relativos a participação nesta pesquisa referem-se a algum desconforto causado pela picada da agulha durante a coleta de sangue. Com relação ao possível desconforto gerado pela picada da agulha durante a coleta de sangue, este pode gerar uma pequena inflamação local e/ou hematoma. Para minimizar esse risco, algumas medidas serão adotadas: o braço da coleta deverá estar em posição adequada que será informada pelo técnico responsável pela coleta, mantendo pressionado no local da punção por um tempo de aproximadamente 5 minutos após o procedimento, evitando dobrar o braço ou carregar peso nos momentos subsequentes à coleta. Caso os riscos previstos (hematoma e/ou pequena inflamação local em decorrência da picada da agulha no momento da coleta de sangue) ocorram, o participante receberá tratamento e acompanhamento até que esses desconfortos desapareçam. Por exemplo, caso haja hematoma no local da coleta de sangue, o participante será acompanhado até que esse hematoma desapareça. O desaparecimento desses desconfortos não deve se estender por mais de 24 horas. Assim, o participante será mantido na pesquisa. Caso os desconfortos permaneçam por mais de 48h, o participante será substituído.

A devolutiva dos resultados aos sujeitos se dará em momento pré-determinado pelos profissionais da equipe de saúde das unidades básicas de saúde e Secretaria Municipal de Saúde. Na oportunidade será explanado os resultados obtidos. A divulgação dos dados obtidos ainda será feita por meio de apresentação em congressos e demais eventos nacionais e internacionais, em publicação de manuscritos em periódicos da área.

Caso concorde em participar, uma via deste termo ficará em seu poder e a outra será entregue ao pesquisador. Não receberá cópia deste termo, mas apenas uma via. Desde já agradecemos sua participação!

Chapecó, ____ de _____ de _____.

Assinatura do Pesquisador Responsável

Contato profissional com o(a) pesquisador(a) responsável:

Na sala 307 do bloco dos professores da UFFS

e-mail: debora.silva@uffs.edu.br

Endereço para correspondência: Universidade Federal da Fronteira Sul/UFFS, Rodovia SC 484 Km 02, CEP: 89815-899, Chapecó - Santa Catarina – Brasil.

“Em caso de dúvida quanto à condução ética do estudo, entre em contato com o Comitê de Ética em Pesquisa da UFFS”:

Tel e Fax - (0XX) 49- 2049-3745

E-Mail: cep.uffs@uffs.edu.br

Endereço para correspondência: Universidade Federal da Fronteira Sul/UFFS - Comitê de Ética em Pesquisa da UFFS , Rua General Osório, 413D - CEP: 89802-210 - Caixa Postal 181 – Centro - Chapecó - Santa Catarina – Brasil)

Declaro que entendi os objetivos e condições de minha participação na pesquisa e concordo em participar.

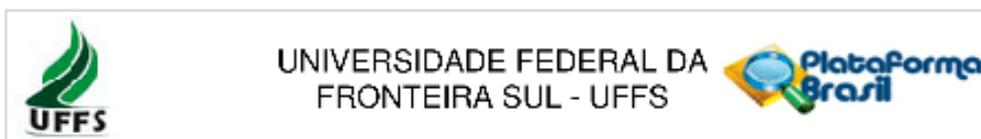
Nome completo do (a) participante: _____

Assinatura: _____

APÊNDICE II - INSTRUMENTO DE COLETA DOS DADOS DE PRONTUÁRIO DA GESTANTE

Código da participante:	Idade:
Idade gestacional (IG):	Paridade:
Peso: kg	Estatura: cm
Pressão arterial: mmHg	Frequência cardíaca: bpm
Glicemia:	Fumante: () sim () não
Medicamentos em uso: _____ _____	
Histórico Familiar: _____ _____	
Exames realizados no pré-natal: _____ _____ _____	
OBS:	

ANEXO I



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DA EMENDA

Título da Pesquisa: Síndromes Hipertensivas Gestacionais (SHG): Análise da correlação clínica com as repercussões do leito vascular placentário de gestantes de alto risco

Pesquisador: Débora Tavares de Resende e Silva Abate

Área Temática:

Versão: 5

CAAE: 67328417.3.0000.5564

Instituição Proponente: UNIVERSIDADE FEDERAL DA FRONTEIRA SUL - UFFS

Patrocinador Principal: FUNDAÇÃO DE AMPARO A PESQUISA E INOVAÇÃO DO ESTADO DE SANTA CATARINA

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 2.573.384

Apresentação do Projeto:

Já apresentado em parecer anterior.

Objetivo da Pesquisa:

Já apresentado em parecer anterior.

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Já apresentado em parecer anterior.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

Já apresentado em parecer anterior.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

A pesquisadora apresentou novo termo de ciência e concordância da SESAU com data da assinatura.

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

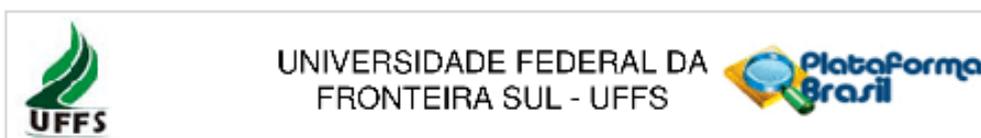
Não há impedimentos éticos à aprovação da emenda.

Considerações Finais a critério do CEP:

O presente projeto, seguiu nesta data para análise da CONEP e só tem o seu início autorizado após a aprovação pela mesma.

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

Endereço: Rodovia SC 464 Km 02, Fronteira Sul - Bloco da Biblioteca - sala 3° O - 3º andar
Bairro: Área Rural **CEP:** 89.915-099
UF: SC **Município:** CHAPECO
Telefone: (49)3145 3745 **E-mail:** cep.ufs@uffs.edu.br



Continuação do Parecer: 2.679.384

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_1068487_ÉI.pdf	22/05/2018 18:05:48		Aceito
Declaração de Instituição e Infraestrutura	declaracaososauemenda.pdf	22/05/2018 18:04:19	BIANCA DEVENS OLIVEIRA	Aceito
Cronograma	Cronograma_aterado_para_emenda.doc	19/03/2018 21:55:45	Tassiana Potrich	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	Termo_dispensaTCLE.pdf	18/04/2017 10:39:56	CRISTIANE CARLA ALBRECHT	Aceito
Recurso Anexado pelo Pesquisador	INSTRUMENTO_DE_COLETA_DOS_DADOS_DE_PRONTUARIO.docx	18/04/2017 10:19:22	CRISTIANE CARLA ALBRECHT	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	todos_TCLE.docx	18/04/2017 10:11:01	CRISTIANE CARLA ALBRECHT	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	PROJETO_FAPESC_PRONTO.docx	18/04/2017 08:39:05	CRISTIANE CARLA ALBRECHT	Aceito
Folha de Rosto	Folha_de_rosto.pdf	18/04/2017 08:35:39	CRISTIANE CARLA ALBRECHT	Aceito
Declaração de Instituição e Infraestrutura	autorizacao_secretaria.pdf	01/03/2017 13:20:02	CRISTIANE CARLA ALBRECHT	Aceito
Declaração de Instituição e Infraestrutura	autorizacao_ledra.pdf	01/03/2017 13:15:07	CRISTIANE CARLA ALBRECHT	Aceito

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Sim

CHAPECO, 24 de Maio de 2018

Assinado por:
Valéria Silvana Faganello Madureira
(Coordenador)

Endereço: Rodovia SC 404 Km 02, Fronteira Sul - Bloco da Biblioteca - sala 3°0, 3º andar
 Bairro: Área Rural CEP: 89.915-999
 UF: SC Município: CHAPECO
 Telefone: (49)3049-3745 E-mail: cnp.ufs@ffs.edu.br

ANEXO II



Município de Chapecó
Secretaria de Saúde – SESAU

UNIVERSIDADE FEDERAL DA FRONTEIRA SUL
CURSO DE GRADUAÇÃO EM ENFERMAGEM

DECLARAÇÃO DE CIÊNCIA E CONCORDÂNCIA DAS INSTITUIÇÕES ENVOLVIDAS

Com o objetivo de atender às exigências para obtenção de parecer do Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) envolvendo Seres Humanos, a Secretaria de Saúde de Chapecó/SC, representada legalmente pela Coordenadora do Setor de Planejamento e Educação na Saúde Sra. Gessiani Fátima Larentes, declara estar ciente e de acordo com o desenvolvimento do Projeto de Pesquisa intitulado: **Síndromes Hipertensivas Gestacionais (SHG): análise da correlação clínica com as repercussões no leito vascular placentário de gestantes de alto risco**, nos termos propostos, salientando que os pesquisadores deverão cumprir os termos da resolução 466/2012 do Conselho Nacional de Saúde e as demais legislações vigentes, bem como apresentar cópia do parecer do CEP junto a esta Secretaria antes do início da coleta de dados.

Chapecó, 03 de Maio de 2018.

Deborah Tarcus de S. Silva
Pesquisador Responsável/Professor
Orientador
(siaps 1813519)

Vanessa T. J. Cortina
Coordenadora do Setor de Planejamento e Educação na Saúde
RENSIS - 64.023

Coordenação de Unidade/Serviço da
Secretaria de Saúde

Bianca Devens Oliveira
Estudante Corresponsável pela Pesquisa

Gessiani Fátima Larentes

Gessiani Fátima Larentes

Coordenadora do Setor de Planejamento e
Educação na Saúde
Secretaria de Saúde de Chapecó