

**UNIVERSIDADE VILA VELHA - ES**  
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS**

**AVALIAÇÃO DA MICROBIOTA INTESTINAL DE RECÉM NASCIDOS  
DE MÃES INTERNADAS POR ESTADO HIPERTENSIVO**

**FERNANDA ALDRIGUES CRISPIM SILVA**

**VILA VELHA**  
**NOVEMBRO / 2019**

**UNIVERSIDADE VILA VELHA - ES**  
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS**

**AVALIAÇÃO DA MICROBIOTA INTESTINAL DE RECÉM NASCIDOS  
DE MÃES INTERNADAS POR ESTADO HIPERTENSIVO**

Dissertação apresentada à Universidade Vila Velha, como pré-requisito do Programa de Pós-graduação em Ciências Farmacêuticas, para a obtenção do grau de Mestre (a) em Ciências Farmacêuticas.

**FERNANDA ALDRIGUES CRISPIM SILVA**

**VILA VELHA**  
**NOVEMBRO / 2019**

Catálogo na publicação elaborada pela Biblioteca Central / UVV-ES

S586a

Silva, Fernanda Aldrigues Crispim.

Avaliação da microbiota intestinal de recém nascidos de mães internadas por estado hipertensivo / Fernanda Aldrigues Crispim Silva – 2019.

62 f. : il.

Orientador: Elizardo Corral Vasquez.

Dissertação (mestrado em Ciências Farmacêuticas) – Universidade Vila Velha, 2019.

Inclui bibliografias.

1. Farmacologia e terapêutica. 2. Hipertensão na gravidez. 3. Recém-nascidos. I. Vasquez, Elizardo Corral. II. Universidade Vila Velha. III. Título.

CDD 615

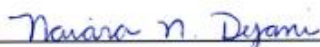
**FERNANDA ALDRIGUES CRISPIM SILVA**

**AVALIAÇÃO DA MICROBIOTA INTESTINAL DE RECÉM NASCIDOS  
DE MÃES INTERNADAS POR ESTADO HIPERTENSIVO**

Dissertação apresentada à Universidade Vila Velha, como pré-requisito do Programa de Pós-graduação em Ciências Farmacêuticas, para a obtenção do grau de Mestre (a) em Ciências Farmacêuticas.

Aprovado (a) em 04 de novembro de 2019,

Banca Examinadora:



\_\_\_\_\_  
**Prof. (a). Dr. (a). Naiara Naiana Dejani (IFES)**

  
\_\_\_\_\_  
**Prof. Dr. Thiago de Melo Costa Pereira (UVV)**  
\_\_\_\_\_  
**Prof. Dr. Elisardo Corral Vasquez – (UVV)**

**Orientador (a)**

---

*“Deus não escolhe os capacitados, capacita os escolhidos. Fazer ou não fazer algo só depende de nossa vontade e perseverança.”*

*ALBERT EINSTEIN*

## **AGRADECIMENTOS**

*Agradeço primeiramente a Deus que me concebeu a oportunidade de realizar esse mestrado, uma etapa importante de minha vida, com eficiência, sabedoria e com os objetivos alcançados pois a sua mão divina me fez concluir e chegar aos resultados esperados.*

*Á minha família por ter me dado tanta força e apoio neste momento, mostrando o quanto era importante estudar e a oportunidade dada pelos meus pais.*

*Ao Marcos, por ser meu companheiro e imprescindível nesta conquista.*

*Ao Prof. Vasquez, pela orientação, competência, profissionalismo e dedicação a qual faz com excelência pois são mais de 40 anos nesta profissão, uma pessoa a qual me espelho. Obrigado por acreditar em mim e pelos tantos incentivos. Tenho certeza que não chegaria a conclusão sem o seu apoio mesmo passando por um período de enfermidade, você estava sempre ali presente, me recebendo tarde da noite em sua casa, nos reunindo e ficando horas a mais que a sua saúde permitia. Você foi mais que orientador: para mim será sempre mestre e amigo.*

*Aos colegas de trabalho do hospital e secretaria de Saúde que durante a realização da pesquisa me ajudaram de alguma forma, sempre prestáveis para eu conseguir coletar o material e as trocas de plantões.*

*As gerentes do Hospital Jayme e Maternidade de Cariacica que me apoiaram e ajudaram em todo processo da pesquisa.*

*A equipe de Enfermagem (técnicos e Enfermeiros) de ambos hospitais pela colaboração, participação da busca dos pacientes.*

*Ao Laboratório 33 de Biopraticas da UVV e de Microbiologia, especial a Clarisse, por ajudar no que deles dependessem para a conclusão da pesquisa, e a todos os professores que fizeram parte dessa caminhada.*

*Aos meus amigos por estar sempre torcendo a esta conquista.*

***Meu muito obrigado de coração a todos!***

## SUMÁRIO

<b>1. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA.....</b>	<b>5</b>
1.1 Microbiota Humana.....	5
1.2 Microbiota intestinal.....	6
1.3 Influências do tipo de parto na disbiose do RN.....	9
1.4 Influência da dieta alimentar no microbiota intestinal do recém-nascido .....	12
1.5 Fatores de risco ocasionais materno que influenciam a microbiota intestinal do RN.....	13
1.6 Fundamentos fisiopatológicos da hipertensão na gestante.....	17
<b>2. OBJETIVOS.....</b>	<b>23</b>
2.1 GERAL.....	23
2.2 ESPECÍFICOS.....	23
<b>3. MATERIAIS DE MÉTODOS.....</b>	<b>20</b>
3.1 Casuística.....	20
3.2 Critérios de seleção das amostras.....	21
3.3 Questionário.....	22
3.4 Variáveis e categorias.....	22
3.5 Descrições dos procedimentos.....	22
3.6 Análise microbiológicas amostras de fezes e fluido vaginal.....	28
3.7 Análises das células sanguíneas por citometria de fluxo.....	29
3.7.1 Avaliação dos leucócitos.....	29
3.8 Análise da viabilidade celular.....	
3.9 Análise da estatísticas dos dados.....	
4.0 Risco e Benefícios da Pesquisa.....	27
4.1 Termo de consentimento livre e esclarecido (TCLE) .....	27
4.2 Procedimentos éticos da pesquisa.....	27

<b>4. RESULTADOS.....</b>	<b>28</b>
4.1 Características das amostras.....	28
4.2 Valores pressóricos e medicamentos utilizados pelas pacientes.....	32
4.3 Características do pós-parto.....	35
4.4 Dados dos recém-nascidos.....	36
4.5 Caracterizações do fluido vaginal das parturientes.....	38
4.6 Influências do estado hipertensivo das células sanguíneas das mães.....	39
4.7 Análise do estresse oxidativo dos grupos.....	40
<b>5. DISCUSSÃO.....</b>	<b>45</b>
<b>6. CONCLUSÃO.....</b>	<b>54</b>
<b>7. LIMITAÇÕES DE NOSSO ESTUDO.....</b>	<b>56</b>
<b>8. SUGESTÕES PARA POLÍTICAS PÚBLICAS.....</b>	<b>57</b>
<b>9. REFERÊNCIAS.....</b>	<b>59</b>
<b>10. ANEXOS.....</b>	<b>65</b>
10.1 QUESTIONÁRIO.....	65
10.2 TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO.....	66
10.3 INFORMAÇÕES SOBRE OS HOSPITAIS.....	67
10.4 AUTORIZAÇÃO DO COMITE DE ETICA.....	68
10.5 AUTORIZAÇÃO DA SECRETARIA DE SAUDE.....	70
10.6 AUTORIZAÇÃO DA MATERNIDADE MUNICIPAL DE CARIACICA.....	71



## RESUMO

SILVA, Fernanda Aldrigues Crispim, M.Sc, Universidade Vila Velha – ES, novembro de 2019. **Avaliação da microbiota intestinal de recém nascidos de mães internadas por estado hipertensivo. Orientador:** Elizardo Corral Vasquez.

**Introdução:** A hipertensão na gestação tem um potencial para insuficiência progressiva de múltiplos órgãos. É de fundamental importância que o RN venha constituído uma microbiota saudável. O estudo aborda um entre os vários gêneros de bactérias intestinais, comparando o ecossistema saudável com a situação de disbiose. **Objetivo:** Avaliar a influência do estado hipertensivo gestacional na microbiota intestinal de recém-nascidos de mães hospitalizadas para realização do parto. **Métodos:** A amostra deste estudo foi 121 gestantes, sendo 66 mães hipertensas, dentre elas, 19 hipertensas crônicas e 47 hipertensas gestacionais e por 55 mães normotensas como um grupo controle com 73 recém nascido para coleta de sangue realizando citometria de fluxo, fluido vaginal e amostras de fezes (mecônio dos recém-nascidos) para microbiologia e aplicado para a obtenção dos dados um questionário. **Resultado:** Na análise da microbiota intestinal dos mecônios, verificamos dentre os microrganismos, as bifidobactérias teve crescimento 87% nas bebes de NT, 45% nos de HG e 30% nos de HC. Quando feita análise dos lactobacilos, verificamos um crescimento de 68% nas pacientes NT, 40% nas HG, 38% nas HC. Não observamos diferenças significantes entre os três grupos no que diz respeito ao tipo e quantidade de microrganismo no fluido do canal vaginal das mães. Há um aumento significativo do número de células em estado apoptótica no grupo hipertenso, principalmente HG (54±2%); HC (47±4%) em comparação com os NT (40±2%). Por citometria de fluxo, mostrou que mães HG apresentaram um número significativamente menor de células viáveis (41±2%) quando comparados com mães NT (55±3%) e HC (47±6%). **Conclusão:** Considerando as doenças hipertensivas da gravidez e alteração da situação do recém-nascido se há alteração da microbiota intestinal provavelmente influenciada pelo estado de saúde da mãe aumentando a probabilidade de doenças ao longo de sua vida.

**Palavras chaves:** Microbiota; Gestante; Hipertensão; Recém Nascidos; Parto

## ABSTRACT

SILVA, Fernanda Aldrigues Crispim, M.Sc, Vila Velha University - ES, November 2019. **Evaluation of the intestinal microbiota of newborns of hospitalized mothers by hypertensive state. Advisor:** Elizardo Corral Vasquez.

**Introduction:** Hypertension in pregnancy has the potential for progressive multiple organ failure. It is of fundamental importance that the newborn be a healthy microbiota. The study addresses one of several genera of intestinal bacteria, comparing the healthy ecosystem with the situation of dysbiosis. **Objective:** To evaluate the influence of gestational hypertensive status on the intestinal microbiota of newborns of hospitalized mothers for delivery. **Methods:** The sample of this study was 121 pregnant women, 66 hypertensive mothers, among them 19 chronic hypertensive and 47 gestational hypertensive mothers and 55 normotensive mothers as a control group with 73 newborns for blood collection using flow cytometry, vaginal fluid and stool samples (newborn meconium) for microbiology and a questionnaire was applied to obtain the data. **Result:** In the analysis of the intestinal microbiota of the mecons, we verified among the microorganisms, the bifidobacteria had growth 87% in NT, 45% in HG and 30% in HC. Lactobacilli analysis showed a 68% growth in NT patients, 40% in HG, 38% in HC. We did not observe significant differences between the three groups regarding the type and amount of microorganism in the mother's vaginal canal fluid. There is a significant increase in the number of apoptotic cells in the hypertensive group, especially HG ( $54 \pm 2\%$ ); HC ( $47 \pm 4\%$ ) compared to NT ( $40 \pm 2\%$ ). Flow cytometry showed that HG mothers had a significantly lower number of viable cells ( $41 \pm 2\%$ ) compared to NT ( $55 \pm 3\%$ ) and HC ( $47 \pm 6\%$ ) mothers. **Conclusion:** Considering the hypertensive diseases of pregnancy and alteration of the newborn's situation if there is alteration of the intestinal microbiota probably influenced by the mother's health status increasing the probability of disease throughout her life.

**Keywords:** Microbiota; Pregnant; Hypertension; Newborns; Childbirth

## 1. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA:

### 1.1 Microbiota Humana:

Microbiota é o termo usado para o conjunto de bactérias que habitam os seres humanos, onde são incultiváveis por serem anaeróbios (Martins, 2015). Atualmente, está demonstrado que o microbioma humano tem uma grande importância na fisiologia, através de sua interação com o sistema imunitário, participando na absorção de nutrientes e metabolismo contribuindo para promover hábitos saudáveis, prevenir e combater doenças. Define-se como microbiota saudável, aquela que conserva e promove o bem-estar e a ausência de doenças, especialmente do trato gastrointestinal. Em condições normais, exerce influência considerável sobre uma série de reações bioquímicas do hospedeiro tais como: transformação de fibra dietética em açúcares simples, transformação de ácidos graxos de cadeia curta e de outros nutrientes para serem absorvidos; produção de vitamina K, vitamina B12 e ácido fólico; participação no metabolismo e recirculação de ácidos biliares; transformação de potenciais agentes carcinogênicos e ativação de compostos bioativos (Beserra, 2014).

O desenvolvimento do microbiota humano ocorre logo após o nascimento influenciando na fisiologia do hospedeiro, desenvolvimento e morfogênese de órgãos e na manutenção do equilíbrio de tecidos e órgãos. Contribui também para o desempenho de funções metabólicas, principalmente na obtenção de energia através da dieta e no desenvolvimento do sistema imunológico que são de extrema importância para o hospedeiro pois permitem que este seja menos suscetível a desenvolver patologias (Gonçalves, 2014). Os organismos que constituem a microbiota humana estão distribuídos por diversos locais do organismo colonizando e sua distribuição depende de um conjunto de fatores como umidade, acidez, temperatura e disponibilidade de nutrientes. O trato intestinal é o local do organismo humano que alberga maior número e diversidade de microrganismo, atingindo cerca de 400 espécies de bactérias. Estudos de metagenômica, metatranscriptômica, metaproteômica e metametabolômica, descrevem a diversidade de espécies microbianas existentes. O microbiota

intestinal caracteriza-se pelo seu constante dinamismo e numROSidade, sendo que este pode ser afetado por inúmROS fatores tais como, ambientais, dieta, estilo de vida, medicamentos (consumo de antibióticos) e envelhecimento (Gonçalves, 2014).

No indivíduo em condições normais, o microbiota intestinal se caracteriza por conter micro-organismo predominantemente não patógenos como, por exemplo, as Bifidobactérias e Lactobacilos e aquelas consideradas prejudiciais, nocivas, como, por exemplo, as *Enterobacteriaceae* e *Clostridium ssp* (Okada, 2015). A finalidade dessas espécies de bactérias é colaborar na digestão, armazenamento de energia, síntese de vitaminas, formação de uma barreira protetora do intestino e envolvidas no desenvolvimento do sistema imunitário. De todas as bactérias, cerca de 90% são do filo Bacteroidetes e Firmicutes. Os gênROS bacterianos predominantes são: *Bacteroides*, *Eubacterium*, *Bifidobacterium*, *Fusobacterium* e *Peptostrepcoccus*. As bactérias comensais do nosso organismo podem, em indivíduos imunodeprimidos ou debilitados, tornar-se patogênicas embora em pequena percentagem (Martins, 2015). As bactérias anaeróbios facultativos (por exemplo *Escherichiacoli*, *Proteus spp.*) e aeróbios estritos (por exemplo *Pseudomonas spp.*) estão presentes no intestino grosso mas em menor número do que os anaeróbios estritos, representando cerca de 1 – 4% da flora intestinal. Os anaeróbios facultativos consomem todo o oxigênio, levando ao aparecimento de anaeróbios. GênROS como *Bacteroides*, *Clostridium*, *Bifidobacterium*, *Fusobacterium* e *Peptostreptococcus* são exemplos de anaeróbios e representam entre microbiota – implicações na imunidade e no metabolismo 96% a 99% da flora intestinal humana normal, precisamente do cólon (Gonçalves, 2014). Portanto, nosso trabalho de mestrado está focado na microbiota intestinal, conforme justificado abaixo.

## **1.2 Microbiota intestinal:**

A terminologia microbiota é um conjunto de microrganismos incluindo vírus, arquebactérias, bactérias e alguns eucariotas unicelulares. Nos seres humanos, se há uma estimativa que 10<sup>14</sup> UFC de micro-organismos habitem várias partes

do corpo, tais como a superfície da pele e nos trato gastrointestinal, geniturinário e respiratório. A comunidade microbiana que habita o trato gastrointestinal, está representada num grande ecossistema microbiano, com a presença de aproximadamente 400 espécies de filotipos. Cada órgão ou porção desse sistema diferencia-se quanto a sua anatomia e fisiologia o que resulta em um ambiente químico para o habitat de diferentes bactérias (Beserra, 2014). Beserra cita que a concentração de células microbianas no trato gastrointestinal aumenta consideravelmente do estômago para o cólon. No estômago há elevada produção de ácido letal para a maioria dos micro-organismos, por isso, apenas dois gêneros são resistentes aos ácidos, os *Lactobacillus* e os *Streptococcus*, são predominantes. A bile e as secreções pancreáticas secretadas na porção superior do duodeno e do jejuno embora sejam tóxicas para a maioria dos micro-organismos, o número de bactérias aumenta progressivamente até 10<sup>7</sup> células/mL no íleo distal. O maior número de bactérias reside no intestino grosso, órgão este que abriga uma comunidade microbiana complexa e densa composta principalmente de 29 espécies anaeróbias.

O ambiente do cólon é favorável para o crescimento bacteriano devido a diminuição do trânsito, nutrientes disponíveis e pH favorável (5,7 – 6,8). Geralmente, as bactérias que têm metabolismo sacarolítico quase exclusivo, ou seja, sem atividade proteolítica, podem ser consideradas como potencialmente benéficas. Este perfil metabólico é observado nas bactérias que pertencem ao gênero *Lactobacilos* e bifidobactérias (Beserra, 2014). A microbiota intestinal, através de sua interação com a mucosa intestinal, funciona como uma barreira estável a ação maléfica de bactérias patogênicas, antígenos e outras substâncias nocivas, protegendo e facilitando as funções intestinais do hospedeiro. Sabe-se através de estudos clínicos e experimentais que existe uma interação mútua entre a microbiota intestinal e os órgãos e sistemas do hospedeiro. Deste modo, uma microbiota intestinal saudável proporciona um bom funcionamento ao organismo e, por outro lado, quando ocorre um distúrbio no ecossistema intestinal (disbioses) pode sofrer influências ou modificações. Portanto, o indivíduo durante toda sua vida passará a ter no trato intestinal uma microbiota a qual no decorrer dos anos poderá ser modificada.

O microbioma no trato intestinal interage com o cérebro através do sistema autonômico entérico via aferentes/eferentes do nervo vago (parassimpático) que regulam a função intestinal e assim mantendo a homeostase sistêmica, promovendo a atividade anti-inflamatória e influenciando diretamente o sistema nervoso central (SNC) e comportamento, e através da interação com o eixo neuroendócrino e mediadores inflamatórios (Yang et al, 2016).

Os primeiros anos de vida ocorre mudanças rápidas tanto no microbioma intestinal quanto no SNC infantil em desenvolvimento. Como resultado, o microbioma tornou-se cada vez mais um foco de estudos clínicos e pré-clínicos de desenvolvimento neurocognitivo e emocional. Enquanto os estudos em seres humanos estão apenas começando, a pesquisa sobre roedores indica que através da perturbação das três vias psiconeuroimunais descritos anteriormente (imune, eixo hipófisipotálamo e nervo vago), o microbioma intestinal modula o desenvolvimento cerebral, sistema de neurotransmissores, vias de sinalização, proteínas relacionadas à sináptica e comportamento. Como resultado, evidências crescentes sugerem que o microbioma intestinal exerce influência sobre uma série de índices de desenvolvimento, desde a cognição até a ansiedade, humor e sociabilidade (Yang et al, 2016). Nos seres humanos, estudos correlacionais ligaram o transtorno do desenvolvimento neurológico a uma composição anormal de microbiota intestinal. No entanto, esses estudos foram concluídos em indivíduos previamente diagnosticados, dificultando o controle de fatores de confusão, como uso de antibióticos e dieta que poderia impactar a microbiota.

É de fundamental importância que o RN venha constituído uma microbiota saudável. No presente estudo vamos abordar um entre os vários gêneros de bactérias intestinais, comparando o ecossistema saudável com a situação de disbiose. Por exemplo, *Lactobacillus* e o *Bifidobacterium* são prevalentes na microbiota infantil que estão diretamente relacionados com o desencadeamento da resposta imune por aumento da produção de anticorpos, ativação de macrófagos, proliferação de células-T e produção de interferon, auxiliam na digestão e/ou absorção dos ingredientes e minerais dos alimentos, e contribuem para a síntese de vitaminas, entre outros (Gonçalves, 2014). A nossa hipótese é

de que o microbiota intestinal do RN é influenciado pelo estado de saúde da mãe no período gestacional.

### **1.3 Influência do tipo de parto na disbiose do RN:**

Embora não seja consenso, alguns estudos sugerem que o ambiente intrauterino não seria estéril e, por isso, o bebê já nasceria com algumas bactérias transferidas pela mãe durante a gestação. Em 2016 e 2017, pesquisadores da Faculdade de Medicina da Universidade Barllan Safed, em Israel, e dos departamentos de Medicina Ambiental e Saúde Pública, de Genética e Ciências Genômicas da Icahn School of Medicine at Mount Sinai, em Nova York, Estados Unidos, publicaram revisões bibliográficas com resultados de vários estudos que mostraram composições distintas de microbiota na placenta e no mecônio, o que indicaria colonização microbiana precoce do feto. No início da vida, há grandes mudanças na composição da microbiota intestinal. Em poucas horas, as bactérias começam aparecer nas fezes pois o ambiente intestinal de recém-nascidos mostra um potencial positivo de oxidação / redução no nascimento, o trato gastrointestinal é colonizado primeiro aeróbios facultativos. Gradualmente, o consumo de oxigênio por essas bactérias altera o ambiente intestinal de forma reduzida, permitindo a subsequente crescimento de anaeróbios estritos. As bactérias que colonizam o intestino infantil durante o primeiro dias de vida se originam principalmente da mãe e do meio ambiente (Penders et al, 2014).

A primeira fonte de contato com micro-organismos ambientais as quais as crianças estão submetidas são as mães. Os bebês de parto normal entram rapidamente em contato com bactérias, quando comparadas com aquelas de parto cesáreo, visto que, no parto vaginal há contato direto com a microbiota fecal materna por meio do canal de parto. Em contrapartida, no parto cesáreo, a fonte inicial de contaminação é o meio ambiente, retardando assim o estabelecimento da microbiota, sendo mais comum a colonização por bactérias anaeróbicas (Paixão e Castro, 2016). A colonização do feto na ruptura das membranas ovulares por bactérias oriundas da vagina e que ascendem a cavidade uterina e por bactérias originárias principalmente da cavidade oral materna e que chegam ao útero por via hematogênica. Na primeira eliminação de mecônio já é possível



comprovar a colonização precoce desses indivíduos. Durante o parto e o pós-parto, o microbioma vai sofrendo mudanças tanto de forma qualitativa (gênero e espécies bacterianas) quanto quantitativa (número de células bacterianas), sendo moldado pelos microbiomas materno de outros indivíduos próximos e até ambiental (Mimica, 2017).

A entrada da bactéria na cavidade amniótica não é conhecida atualmente, a entrada pode ocorrer por ascensão do canal do nascimento, hematogênica através da placenta ou por disseminação retrógrada via trompa de Falópio. Os dados indicam que o DNA bacteriano é frequentemente detectada no líquido amniótico já no meio do trimestre e nem sempre está associada a resultados adversos ou inflamação (Rautava, S. et al, 2012). As diferenças na composição bacteriana entre os bebês nascidos cirurgicamente em relação ao vaginal parecem continuar na criança até os sete anos de idade. Portanto, quanto maior a diversidade microbiana dentro dos seus intestinos maior será a proteção que esta irá proporcionar ao recém-nascido no decorrer de sua vida e assim protegendo-o contra as diversas doenças (Yang et al., 2016).

Os bebês prematuros provavelmente que vierem ao mundo por nascimento vaginal rápido ou parto cirúrgico, ambos os modos de parto reduzem sua exposição à flora entérica e vaginal materna. Eles são mais propensos a ter exposições aos microrganismos do canal vaginal e a antibióticos, alimentados com fórmulas e fornecendo fortificadores de nutrição humana. Todos esses fatores pré-e pós-natais podem afetar o desenvolvimento do microbioma intestinal prematuro. No entanto, assim como o modo de nascimento, todas essas diferenças desaparecem aproximadamente aos 3 anos de idade e, portanto, não interferindo significativamente na sua prevalência (Fernandes, 2017). A colonização prévia por *Cândida* é um fator de risco muito importante para o desenvolvimento posterior de doença invasiva, recém-nascidos de muito baixo peso ao nascer, são colonizados mais frequentemente por *Cândida* do que com peso de nascimento superior a 1.500 g. A incidência de colonização fúngica em prematuros tem variado entre 19% e 47% em diferentes estudos. Na primeira semana de vida, a colonização predomina no trato gastrointestinal e respiratório (reto, orofaringe, traquéia) enquanto a pele em especial a área das virilhas são



colonizadas mais tardiamente. Estudos mais recentes confirmam que o reto é o sítio mais frequente de colonização. A sepse em recém-nascidos baixo peso sua incidência é inversamente proporcional à idade gestacional e ao peso de nascimento, atingido mais de 30% dos menores de 800. Em um outro estudo recente, também prospectivo e multicêntrico, a incidência de candidemia foi de 1,2% entre 2.847 admitidos em seis instituições, quando estratificados por peso, a incidência foi de 3,1% para a faixa de 1.000 g a 1.500 g, e de 5,5% para os menores de 1.000 g (Saiman et al., 2000). A análise retrospectiva de 111 casos de candidíase ocorridos em uma UTI neonatal mostrou uma incidência 11 vezes maior. A colonização do trato gastrointestinal tem sido associada à baixa idade gestacional, ao uso de antibióticos, particularmente cefalosporinas de 3ª geração, à presença de cateter venoso central e ao uso de lipídios endovenosos (Campos, 2004).

Para bebês nascidos de parto normal, os *Lactobacillus*, *Prevotella* ou *Sneathia spp.* dominam o intestino, mas, em alguns meses, há uma maior distribuição de *Bifidobacterium* e *Bacteroides*. Além desses gêneros de micróbios, outros estudos também encontraram espécies de *Atopobium*, *Streptococcus*, *Enterococcus* e *Enterobacteriaceae* nas primeiras seis semanas de desenvolvimento (Yang et al., 2016). Nos casos em que os bebês são separados de suas mães após o nascimento por um longo período de tempo, eles perder a possibilidade de colonização imediata. Uma criança que entrou em contato com micróbios no canal vaginal durante uma tentativa de trabalho tem um grau de exposição muito diferente da criança de uma cesariana eletiva nascida sem parto ou ruptura prolongada de membranas (Yang et al., 2016). Algumas indicações para a cesariana, como a criança grande para idade gestacional, obesidade materna ou sofrimento fetal, também podem sugerir uma dissimulação entre o bebê e a mãe, o que explica a variabilidade no microbioma. Os bebês de mães que sofrem cesariana são mais propensos a terem sido expostos a antibióticos no útero, o que pode alterar significativamente sua microflora entérica (Yang et al., 2016). Segundo estudos, a presença de DNA bacteriano no cordão umbilical, líquido amniótico, placenta e no mecônio do recém-nascido, são indicadores de uma colonização intestinal pré-termo. Este

DNA bacteriano também foi detectado no mecônio de prematuros nascidos entre a 23<sup>a</sup> e a 32<sup>a</sup> semana de gestação (Fernandes, 2017). A nossa questão é: qual seria a influência do tipo de parto no microbioma do RN?

#### **1.4 Influência da dieta alimentar no microbiota intestinal do recém-nascido:**

Um papel primordial na geração de mudanças de composição e diversidade no microbioma, é a dieta alimentar pois seus padrões progridem nos primeiros três anos. Estudos têm mostrado que mudanças importantes nos grupos taxonômicos do microbioma foram observadas com mudanças na dieta, como o desmame para alimentos sólidos. A colonização de *Bifidobacterium* é estimulada pela presença de oligossacarídeos de leite humano (HMO), o componente de carboidratos mais abundante no leite materno. Os bebês não têm as enzimas necessárias para digerir as HMOs, fazendo com que elas passem para o trato intestinal inferior onde se pensa que funcionam estimulando-os como um probiótico. Os lactentes alimentados com fórmulas exibem uma flora mais diversificada com a presença de espécies de *Staphylococcus*, *Streptococcus anaeróbico* e *Clostridium*, *Lactobacilos* além de *Bifidobacterium*. A amamentação exclusiva na criança têm predomínio maior de 90% de *Bifidobacterium* e *Lactobacillus*, porém, nos alimentados com leite artificial, estas bactérias perfazem 40 a 60% da microbiota associadas a outros tipos de bactérias como dos gêneros clostrídio, estafilococos e bacterioides, sendo que estas últimas são sabidamente mais propensas adquirir infecções (Okada, 2015).

A introdução de alimentos de mesa para os bebês amamentados causa um aumento rápido no número de enterobactérias e enterococos, seguido de colonização progressiva por *Bacteroides spp.*, *Clostridium* e *Streptococcus anaeróbico*. A medida que a quantidade de alimentos sólidos na dieta aumenta, a flora bacteriana de bebês alimentados com mamas e mamadeiras proporcionará na vida adulta desse indivíduo abundância de Bacteroidetes, níveis elevados de ácidos graxos de cadeia curta fecal, enriquecimento de genes associados à utilização de carboidratos, biossíntese de vitaminas, degradação xenobiótica e uma composição (Paixão e Castro, 2016). Os lactentes alimentados com fórmulas apresentam uma microbiota mais semelhante do “tipo adulto”, sendo que depois

do desmame e introdução de alimentos sólidos, resulta numa microbiota mais complexa nos lactentes, tenham este sido alimentados com leite materno ou alimentados com fórmulas. Os estudos clínicos controlados com lactobacilos e bifidobactérias não revelaram efeitos maléficos causados por esses microrganismos, mas, por outro lado, efeitos benéficos causados por essas bactérias foram observados durante o tratamento de infecções intestinais, incluindo a estabilização da barreira da mucosa intestinal, prevenção da diarreia e melhora da diarreia infantil, quando associada ao uso de antibióticos (Okada, 2015). Entende-se também que a exposição à antibioticoterapia e seus efeitos moduladores no microbioma humano podem ter início no útero e continuar ao longo do crescimento crítico e estágios de desenvolvimento. A profilaxia, no tratamento de lactentes prematuros é comumente praticado como salvaguarda contra a colonização por microrganismos patogênicos e, conseqüentemente, esta intervenção reduz a diversidade da flora intestinal e atrasa a colonização da flora comensal com uma diminuição de curto prazo e rebote sequencial da diversidade microbiana. Esta propriedade de rebote não implica no risco de infecções, como a enterocolite necrotizante (NEC) mas, entanto, esta continua a ser uma das principais causas de morte em RN (Varavalho e Santos, 2011). Qual seria a importância do tipo de alimentação neonatal para a saúde microbiota intestinal?

### **1.5 Fatores de risco ocasionais materno que influenciam a microbiota intestinal do RN:**

A menor diversificação da microbiota observada até os 3 primeiros anos de vida na criança, em relação aquela do adulto, podem ser devida a fatores ambientais cruciais para a saúde da mãe gestacional, como por exemplo a doença hipertensiva. Os desequilíbrios no microbioma materno estão associadas a uma amplitude de doenças, incluindo auto-imunes, metabólicas, neoplásicas, neurológicas, gastrintestinais/ digestivas, cardiovasculares e infecciosas. Durante a gestação, as alterações metabólicas que se desenvolvem na mulher podem proporcionar maior risco a doenças e condições que prejudicam a vida do feto em crescimento, dentre elas a doença hipertensiva gestacional.

Adaptações fisiológicas, metabólicas e anatômicas que culminam em acentuadas mudanças no organismo materno aparece no processo de fase gestacional, incluindo a composição dos elementos figurados e humorais do sangue circulante. Na gestante, adaptações cardiovasculares permitem o suprimento constante de nutrientes e metabólitos ao feto, sem comprometer as necessidades maternas, resultando em interações complexas de hormônios, substâncias vasoativas e vários outros fatores.

Durante a gravidez ocorre elevação de cerca de 40 a 50% do volume sanguíneo total em decorrência do aumento do volume plasmático ou hematócrito. Segundo dados da Organização Mundial de Saúde (OMS), cerca de 800 mulheres no período de 2010 morreram em decorrência da gravidez ou parto. De acordo com dados de 2011, do Departamento de Informática do Sistema Único de Saúde (DATASUS), as síndromes hipertensivas foram *causa mortis* de 325 óbitos, representando 20% dos óbitos maternos, e 56% destes ocorreram no período gestacional (Ferreira et al, 2016). As síndromes hipertensivas ocupam o segundo lugar no ranking de mortes maternas. Estas ficam atrás apenas das hemorragias e são responsáveis por cerca de 14% de todos os óbitos maternos do mundo, alcançado índices de até 22% na América Latina e de maior proporção nas regiões Norte e Nordeste em relação ao Sudeste, Sul e Centro-Oeste (Ferreira et al, 2016).

Segundo Freire e Tedoldi (2009), as doenças hipertensivas gestacionais são classificadas como:

- hipertensão crônica (HC),
- pré eclâmpsia sobreposta a hipertensão crônica (PE-HC),
- pré-eclâmpsia (PE),
- eclâmpsia (E)
- hipertensão gestacional (HG).

**HC:** ocorre em cerca de 3 a 5% das gestações, presente antes da gravidez ou diagnosticada antes de 20 semanas de gestação. Considerada pressão arterial sistólica (PAS) é  $\geq 140$  mmHg e/ou a pressão arterial diastólica (PAD)  $\geq 90$  mmHg, medidas em duas ocasiões com 4 horas de intervalo. Diagnosticada pela primeira vez durante a gravidez e que não normaliza pós-parto.

**PE-HC:** Ocorre em aproximadamente 20 a 25% das mulheres com hipertensão crônica, surgimento de proteinúria ( $\geq 0,3$  g/24 h) após 20 semanas em portadora de HC, ou um aumento adicional da proteinúria em quem já apresentava aumento prévio, ou aumento súbito da PA em quem apresentava níveis controlados previamente, ou alteração clínica ou laboratorial característica de PE. Essa distinção é desafiadora para diagnosticar e gerenciar e muitas vezes depende da presença de recursos graves

**PE:** Afeta entre 3-5% das mulheres grávidas, comum nas primigestas, é uma das principais causas de morte entre mães e filhos. Ocorre a partir de sua segunda metade. Síndrome caracterizada por comprometimento clínico generalizado heterogêneo e alterações laboratoriais, pode ser manifestado tanto materno (hipertensão, proteinúria e/ou sintomas variados) quanto fetal (CIUR), ou ainda ambos. Dependem dos seguintes fatores: diagnóstico da doença e sua idade gestacional, gravidade da doença e presença de outras doenças preexistentes. Classificada por leve e grave de acordo com seus achados clínicos e laboratoriais tais como: trombocitopenia: contagem de plaquetas inferior a

100.000 / mL. Função hepática prejudicada: transaminases hepáticas elevadas para o dobro da normal concentração. Insuficiência renal de início recente: creatinina sérica elevada maior que 1,1 mg / dL ou duplicação da creatinina sérica na ausência de outras doenças renais. Danos ao órgão final, incluindo edema pulmonar ou início cerebral ou visual distúrbios.

A pré-eclâmpsia não pode ser prevenida; a doença é controlada através do monitoramento dos sintomas com a finalidade de minimizar seu agravamento. A mudança de parceiro, o risco da mulher desenvolver PE aumenta, é possível de que o pai desempenhe papel importante no processo. Histórico de obesidade, múltiplas gravidezes, doenças crônicas como hipertensão, diabetes e trombofilia

(uma tendência herdada de coagulação hiperativa) também devem ser levadas em consideração.

**E:** Surgimento de convulsões em pacientes com PE ou HG. Está associada ao aumento da mortalidade materna e frequentemente se acompanhada de hemorragia cerebral.

Estima-se que aproximadamente 500.000 mulheres morrem no parto a cada ano no mundo e 10- 15% dessas mortes são em decorrência de eclâmpsia. A maioria das convulsões eclâmpicas ocorrem antes do parto (67%) e, entre as que ocorrem após o parto, cerca de 79% surgem depois de 48 horas (3-14 dias). É fundamental que as pacientes com PE sejam orientadas sobre a possibilidade desta complicação tardia na alta hospitalar. Todas as gestantes devem ser orientadas a reconhecer os sinais premonitórios (se presentes) e procurar recurso especializado com a maior brevidade possível.

**HG:** ocorre em cerca de 10% das gravidezes em primíparas normotensas. É o aumento da PA que surge após as 20 semanas de idade gestacional sem proteinúria ou hipertensão transitória se retornar ao normal após 12 semanas do parto.

É importante ser feito cuidados com esta gestante como manter repouso e dieta, sendo recomendado o tratamento medicamentoso quando a pressão arterial diastólica ultrapassar 100mmHg. A hipertensão pode induzir alterações metabólicas e vasculares a longo prazo, associadas ao aumento do risco cardiovascular. Mulheres que desenvolvem PE devem ter seu perfil de risco cardiovascular avaliado depois de 6 meses do parto e iniciar com medidas preventivas eficazes com a maior precocidade possível (Melo et al.,2015). Manter níveis de pressão arterial um pouco acima dos preconizados para uma adequada proteção materna a longo prazo e garantir o bem-estar fetal, evitando hipotensão e hipoperfusão placentária e intervenções devidamente adequadas no pré-natal colaboram para redução de complicações e das mortes maternas por hipertensão arterial. A indução do parto a partir de 37 semanas parece melhorar também os desfechos obstétricos em pacientes com hipertensão gestacional e pré-eclâmpsia (Melo et al, 2015).

A restrição de crescimento intrauterino compromete o crescimento fetal, com o comprometimento da saúde dessas crianças na vida adulta. Em vista disso, neonatos com baixo peso também devem ser avaliados precocemente e orientados a manter um estilo de vida saudável desde a infância. Sabe-se que os desfechos perinatais desfavoráveis, associados à hipertensão gestacional, apresentam riscos significativos de prematuridade e consequentes admissões em UTIN (Martinez et al, 2014).

### **1.6 Fundamentos fisiopatológicos da hipertensão na gestante:**

A gravidez é o estado da mulher durante o tempo em que se desenvolve o feto, e gestação é o período de tempo em que se desenvolve o embrião no útero, desde a concepção até o nascimento. A gestação humana é dividida em três trimestres, sendo calculada em torno de quarenta e nove semanas, duzentos e oitenta dias ou simplesmente nove meses. É um período de transição que faz parte do processo do desenvolvimento humano normal, onde ocorrem grandes transformações no organismo da mulher e essas mudanças imprescindíveis que ocorrem no organismo materno para o crescimento e desenvolvimento fetal estão relacionadas a ajustes fisiológicos e anatômicos, afetando assim vários sistemas no corpo humano, como por exemplo, o sistema circulatório, respiratório, digestivo, urinário, musculoesquelético, entre outros, sendo esse um processo de transformações e adaptações. As alterações circulatórias durante a gravidez refletem em uma carga adicional ao trabalho cardíaco, dentre as principais modificações se encontram: a elevação do volume sanguíneo, do débito cardíaco e da frequência cardíaca. No coração a medida que o diafragma vai se elevando progressivamente, gera um deslocamento e uma rotação para a esquerda no coração (Oliveira, 2013).

Estima-se que ocorra entre 3,0% e 5,0% das gestações, especificamente para o Brasil, a incidência de 1,5% para PE e 0,6% para eclâmpsia. Estudos registram que nas áreas mais desenvolvidas a prevalência de eclâmpsia foi estimada em 0,2%, com índice de morte materna de 0,8%, enquanto que em regiões menos favorecidas esta prevalência se eleva para 8,1% com razão de morte materna correspondente a 22,0% (Febrasgo, 2017).



A hipertensão na gestação tem um potencial para insuficiência progressiva de múltiplos órgãos. Esse caráter evolutivo deve ser levado em consideração, bem como sua imprevisibilidade e instabilidade clínica nas decisões. Algumas evidências apoiam a hipótese do envolvimento do sistema imunológico materno na doença em sua adaptação imunológica ao trofoblasto, acarretando hipoxia por alterações na perfusão do trofoblasto. Uma série de fenômenos locais de hipoxia e reoxigenação como alterações primárias amplifica os efeitos, tais como a formação de espécies reativas de oxigênio, ativação do sistema inflamatório materno, aceleração de processos de apoptose celular que limitariam o estabelecimento da placentação normal e desequilíbrio entre fatores pro-angiogênicos, como o VEGF e PLGF, e fatores solúveis antiangiogênicos, como o sFLT-1, com predomínio desses últimos, resultando no conjunto em ativação generalizada do sistema inflamatório materno, disfunção endotelial universal e limitação na vascularização placentária (Moura MDR, et al 2011). O espasmo arteriolar universal com a ativação endotelial resulta em processo insidioso e progressivo, culminando com insuficiência de múltiplos órgãos. Determinantes da ativação endotelial são vasoconstrição e consequente aumento da resistência periférica; alterações na permeabilidade capilar, responsável pelo edema; ativação do sistema de coagulação (Febrasgo, 2017).

Segundo L. Myatt and R. P. Webster 2009, placentas de mulheres com pré-eclâmpsia mostram que alterações fisiológicas nas artérias encontradas em gestações tem restrição, limitando-se a porções decíduais dos vasos. A média externa diâmetros das artérias espirais em mulheres com pré-eclâmpsia são menos da metade dos vasos semelhantes de gravidezes não complicadas. A diminuição do diâmetro resultaria em redução da perfusão da placenta que foi confirmada pelo ultra-som Doppler. Expressão anormal de receptores endoteliais na invasão citotrofoblastos tem sido proposto como sendo a causa de defeitos invasão de trofoblastos endovasculares e intersticiais encontrado na pré-eclâmpsia.

Os pacientes que exibem quadros graves, particularmente eclâmpsia, devem receber cuidados diferenciados em face da limitação funcional progressiva de múltiplos órgãos. Os rins sofrem com padrões



anatomopatológicos (glomeruloendoteliose e esclerose focal) com proteinúria e comprometimento da filtração glomerular. No fígado ocorre isquemia em intensidade variável, acarretando disfunção com elevação dos níveis de transaminases. O edema e/ou a hemorragia focais ou confluentes distendem sua capsula, podendo resultar em ruptura hepática com hemorragia maciça. O vasoespasmos dificulta o fluxo uteroplacentário, com intensidade variável dependente do momento da instalação do processo e de lesão crônica preexistente. No que diz respeito a coagulação, verifica-se ativação e consumo de plaquetas com consumo progressivo e instalação de coagulação disseminada. O cérebro pode ser afetado por isquemia, agravado por edema difuso, resultando em convulsão (eclâmpsia) ou acidentes vasculares (Febrasgo, 2017).

A interação do microbiota intestinal com o hospedeiro permite, além de um conjunto de atividades metabólicas diversificadas, complementar a fisiologia do hospedeiro. A fisiologia passa pelo desenvolvimento e morfogênese de órgãos e tecidos. Alguns estudos demonstraram que a maturação do trato gastrointestinal está estritamente relacionada com o microbiota. Após o nascimento, o trato gastrointestinal encontra-se estrutural e funcionalmente imaturo. Com a colonização e posterior alteração da dieta (desmame), verifica-se uma alteração na composição do microbiota e, conseqüentemente, da maturação intestinal (Gonçalves, 2014).

À medida que a microbiota intestinal parece contribuir para quase todos os aspectos do crescimento e desenvolvimento do hospedeiro, não é surpreendente que uma grande variedade de doenças e disfunções têm sido associados com um desequilíbrio na qualquer composição, número, ou habitat do microbioma intestinal. Para certas condições, o envolvimento com a microbiota é quase intuitivo, e muitos aspectos das suas contribuições para a progressão da doença já foram conclusivamente demonstradas. No entanto, muitas perguntas ainda permanecem sem resposta muitas investigações em curso. Por isso, o presente estudo visa comparar as diferenças dos estados hipertensivo de mulheres gestacionais e como estas podem influenciar no microbioma do RN. Portanto, no presente trabalho testamos a hipótese de que

o estado hipertensivo arterial de gestantes influencia na microbiota intestinal de seus recém-nascidos.

### **1.7 Estresse oxidativo na hipertensão gestacional:**

A definição do estresse oxidativo se dá como resultado o dano potencial por alteração no equilíbrio pró-oxidante/antioxidante em favor dos pró-oxidantes. A alteração se dá pelo balanço pró-oxidante/antioxidante, aumento dos níveis de espécies reativas de oxigênio (Reactive oxygen espécies; ROS) e/ou espécies reativas de nitrogênio (Reactive nitrogen espécies; RNS), ou uma diminuição dos mecanismos de defesa antioxidante. Os radicais livres são espécies capazes de existir independentemente formadas a partir de um ou mais elétrons não emparelhados na camada externa do átomo. Os elétrons não emparelhados são aqueles que estão sozinhos em um orbital e são responsáveis pela baixa estabilidade e alta reatividade dos radicais livres.

As ROS incluem 43 tanto espécies radicais como não- radicais de oxigênio que são agentes oxidantes e/ou são facilmente convertidos em radicais. Podem ser geradas a partir de fontes endógenas ou exógenas. As RNS também é um termo que inclui espécies radicais e não- radicais de nitrogênio. As fontes endógenas de ROS incluem mitocôndrias, peroxissomas e retículo endoplasmático, locais com elevado consumo de oxigênio. A maioria das ROS são derivadas da mitocôndria, com o ânion superóxido ( $O_2^{\bullet-}$ ) sendo gerado na cadeia transportadora de elétrons através da adição de 1 elétron ao oxigênio molecular. Cerca de 1 a 3% dos elétrons ao se ligar o oxigênio com a água, escapam e produzem  $O_2^{\bullet-}$ . O  $O_2^{\bullet-}$  e o  $H_2O_2$ , relativamente pouco reativos, ao interagirem com ferro ou cobre geram o  $\bullet OH$ . O  $\bullet OH$  é a ROS mais reativa, podendo danificar proteínas, lipídios e DNA e fontes exógenas incluem fumo, hiperóxia, exposição ao ozônio, dentre outras. A fumaça do cigarro contém oxidantes, radicais livres leva ao acúmulo de neutrófilos e macrófagos aumentando o dano oxidativo. A hiperóxia, níveis mais elevados de oxigênio do que a pressão parcial normal de oxigênio nos pulmões ou em outros tecidos corporais, leva a uma maior produção de ROS e RNS. Os aminoácidos, tanto livres como em proteínas, são um alvo para danos oxidativos, que podem ser induzidos por  $O_2^{\bullet-}$ ,  $\bullet OH$ , radical peroxil, radical alcoxil, radical hidroperoxil,  $H_2O_2$ ,  $O_3$ ,

ácido hipocloroso (HClO) e  $\text{OONO}^-$ . A exposição ao ozônio poder causar peroxidação lipídica e aumento de neutrófilos no epitélio das vias aéreas causando a liberação de mediadores inflamatórios. Quantidades elevadas de ROS e RNS geram estresse oxidativo levando a possíveis danos às biomoléculas como lipídios, proteínas e DNA (Maraslis, 2018).

Durante a gestação, com o aumento do metabolismo e conseqüentemente o estresse fisiológico exigidas pelo feto se há uma alteração funcional e dano a tecidos formação e propagação de ROS. De acordo com os estudos apresentados no período gestacional, as mulheres são mais propensas ao estresse oxidativo uma vez que há um aumento os produtos de oxidação lipídica e proteica, aumento de próoxidantes, ocorrem também um aumento das defesas antioxidantes garantindo o equilíbrio fisiológico. Em revisões das literaturas reconheceram o papel central do estresse oxidativo na fisiopatologia de diferentes distúrbios, incluindo complicações da gravidez como aborto espontâneo, perda de gravidez recorrente, pré-eclâmpsia e de crescimento intrauterino restrito (CIUR) (Maraslis, 2018).

Na hipertensão gestacional, a má oxigenação do espaço interviloso com a invasão trofoblástica na fase inicial da gravidez e na persistência das artérias uterinas espiraladas, que mantêm sua elevada resistência é marcado por produção exagerada de ROS e RNS, esse tipo de injúria sempre se dá as moléculas de oxigênio quando são reintroduzidas no tecido após o momento isquêmico. Tanto ROS quanto RNS constituem moléculas de radicais livres geradas principalmente na mitocôndria celular. A produção de ROS em situações de ausente ou insuficiente capacidade tecidual antioxidante, desencadeiam uma cascata de eventos com maior produção de ROS e peroxidação lipídica. Todas essas moléculas levam à resposta inflamatória e dano celular (Oliveira, 2010).

O sincício então apresentar maior atividade de apoptose/necrose, liberando, na circulação materna, grande quantidade de material sincicial, fatores angiogênicos e debris que provocam ativação de leucócitos sistêmicos, gerando estímulos para maior adesão plaquetária, vasoconstrição e resposta inflamatória generalizada. Essa resposta inflamatória é mediada principalmente por citocinas pró-inflamatórias como TNF (fator de necrose tumoral), INF-gama (interferon-gama) e IL-

6 (interleucina-6). estimulando a produção de citocinas inflamatórias por monócitos circulantes, participando ativamente do desencadeamento e da manutenção da resposta inflamatória na pré-eclâmpsia (Oliveira, 2010). O estresse oxidativo leva à produção placentária de grande quantidade de fatores antiangiogênicos que se ligam às moléculas de VEGF e PIGF (fator de crescimento vascular endotelial e o fator de crescimento placentário) circulantes impedindo que esses fatores angiogênicos se liguem aos seus receptores comuns na membrana celular (Oliveira, 2010).

Considerando o que foi revisto na literatura e descrito acima, no presente trabalho será testada a hipótese de que recém-nascidos de mães que desenvolveram hipertensão gestacional ou crônica apresentam uma microbiota intestinal em estado de disbiose. Uma vez confirmada esta relação hipertensão gestacional e disbiose fetal testaremos uma hipótese de que um aumento de estresse oxidativo na mãe seria importante intermediador negativo nas mudanças da microbiota do RN.

## **2.0. OBJETIVOS:**

### **2.1. GERAL:**

Avaliar a influência do estado hipertensivo gestacional na microbiota intestinal de recém-nascidos de mães hospitalizadas para realização do parto.

### **2.2. ESPECÍFICOS:**

1. Traçar o perfil social das participantes internadas em dois hospitais públicos de referência.
2. Traçar a influência de hábitos alimentares, histórico familiar de doenças cardiovasculares, terapia farmacológica em uso, antropometria, hemodinâmica e alterações bioquímicas de mães gestantes hipertensas, em comparação com as normotensas.
3. Realizar uma análise microbiológica das fezes dos RN visando saber possíveis ocorrências de disbiose intestinal
4. Avaliar nos RN dessas pacientes as características antropométricas, alimentares, tempo gestacional e conhecer a influência da via de parto sobre a microbiota.
5. Avaliar as diferenças na composição microbiana intestinal inicial do RN em relação aos níveis de pressão arterial gestacional da mãe bem como as influências provenientes do meio.
6. Correlacionar possíveis disbioses intestinais de RN com o estado de saúde gestacional das mães e vias e condições do parto.
7. Identificar e quantificar os componentes microbianos no trato genital das mães após o parto.
8. Avaliar a produção de espécies reativas do oxigênio (ROS) e a biotransformação do óxido nítrico nessas mães.

### **3. MATERIAIS DE MÉTODOS:**

#### **3.1 - Casuística:**

Trata-se de um estudo quali-quantitativo descritivo de caso-controle em mães gestantes e seus recém-nascidos no pré e pós parto. As mães foram divididas em grupos de hipertensas gestacional (HG) e hipertensas crônicas (HC) e as controles normotensas (NT, saudáveis). Foram recrutadas para a pesquisa gestantes hipertensas e normotensas, assistidas em maternidades.

A amostra deste estudo foi constituída por 121 gestantes, sendo 66 mães hipertensas, dentre elas, 19 hipertensas crônicas e 47 hipertensas gestacionais e por 55 mães normotensas como um grupo controle. Trata se de uma amostra de conveniência de acordo com a incidência de atendimentos nas maternidades onde foi realizado o estudo. As coletas foram realizadas no período de abril 2017 a junho de 2019 em 02 hospitais da Grande Vitória.

A população de bebês foi constituída de 73 RN, dos quais 42 eram filhos de mães hipertensas, 14 de mães hipertensas crônicas, 28 de hipertensas gestacionais e 31 de mães normotensas. Todas as amostras biológicas do presente trabalho foram encaminhadas para o Laboratório de Microbiologia da Universidade Vila Velha (UVV).

A pesquisa foi desenvolvida em dois hospitais de referências de internação de gestantes, mediante previa autorização pelos responsáveis dos serviços, os quais exigiram prévia aprovação do projeto pelo comitê de ética em pesquisa (CEP) com seres humanos: Conforme consta no site Hospital Evangélico, o Hospital Estadual Jaime dos Santos Neves (HEJSN), situado na Serra ES: hospital de referência em Maternidade de Alto Risco, é o maior hospital público do Espírito Santo, destinado 100% aos usuários do Sistema Único de Saúde (SUS), e administrado por uma Organização Social (OS), a Associação Evangélica Beneficente Espírito Santense (AEBES), contratada por meio de edital público. O Hospital Dr. Jayme tem abrangência sobre 2,3 milhões de capixabas e oferta, presencialmente, tendo como uma das especialidades a neonatologia e

Obstetrícia. Aquele hospital possui o nível máximo da acreditação hospitalar com o certificado ONA Nível III – Acreditado com Excelência. Além do certificado ISO 9001/2015, versão mais atual da organização. A unidade foi reconhecida pela Agência Nacional de Saúde Suplementar (ANS) como um dos melhores hospitais do país, sendo o único hospital público capixaba a configurar a listagem da ANS.

A Maternidade Municipal de Cariacica (MMC), situado em Cariacica: sendo uma maternidade de Risco Habitual. Possui convênio tripartite celebrado entre o Governo do Estado, a Prefeitura e o HEVV, a Maternidade Municipal de Cariacica – MMC – é de risco habitual, com acolhimento de urgência e emergência obstétrica e referência municipal de pré-natal de alto risco. 100% dos serviços prestados pela MMC são ao SUS. Em novembro de 2014 foi iniciado na Maternidade Municipal de Cariacica o trabalho de humanização do parto e do nascimento. A MMC permite o uso de medidas não farmacológicas de alívio da dor, como hidroterapia com água morna, massagem lombar, posicionamento de escolha da gestante, assim como a permissão de presença de doulas, com voluntariado nos plantões, apoiando na dor física e psíquica e no empoderamento da mulher. Além da redução na taxa de cesariana, houve redução do índice de episiotomias. O índice de complicações como sangramentos no pós-parto e infecção foram reduzidos.

### **3.2 – Critérios de seleção das amostras:**

Foram incluídas gestantes hipertensas em trabalho de parto, programação de interrupção ou/e pós-parto que realizaram o parto no hospital HEJSN e Gestantes de Risco Habitual em trabalho de parto, programação de interrupção ou pós-parto ocorrido no hospital MMC Foram incluídas no grupo de mães hipertensas consideradas HG ou HC aquelas com PA maior ou igual 140/90 mmHg ou proteinúria maior que 300 mg ou sinais clínicos e laboratoriais alterados. Foi também constituído um grupo de gestantes classificadas como normotensas (NT) e utilizadas como grupo controle para efeito de comparação.

Foram excluídas as mães hipertensas e normotensas que desenvolverem outras patologias associadas no período gestacional, tais como: diabetes, doença renal, cardiovascular não hipertensiva, distúrbios neurológicos, doenças autoimunes, tireoidianas e doenças sexualmente transmissíveis. Gestante com uso de antibioticoterapia no período inferior a 1 mês que antecedeu o parto ou durante o mesmo.

### **3.3 – Questionário:**

Inicialmente foi aplicado um questionário para dados quantitativos e qualitativos. Tratava-se de ferramenta visando conhecer o estado socioeconômico-cultural das gestantes recrutadas no presente estudo. Foi realizado uma análise sistemática também do prontuário eletrônico buscando informações como alterações em exames laboratoriais, alterações ultrassonográficas, intercorrências e uso de medicamentos no parto.

### **3.4 - Variáveis e categorias:**

Foram analisadas as variáveis sociodemográficas gênero, idade, etnia, grau de instrução, renda familiar, gestação anterior, antecedentes familiares, hábitos de vida, alimentação, estado civil e as variáveis clínicas e antropométrica, pressão arterial (PA) inicial e pós parto, peso, altura, prescrição medicamentosa, tempo de diagnóstico, tempo de tratamento, via de parto, intercorrências tanto gestante quanto recém-nascido, exames laboratoriais, idade gestacional do parto e dados do recém-nascido (peso, altura, apgar)

### **3.5 – Descrições dos procedimentos:**

Ao dar entrada nos hospitais, as gestantes foram identificadas quanto às queixas obstétricas e seu atual histórico gestacional com internação para interrupção da gestação e quadro pré-estabelecido de hipertensão gestacional ou gestação saudável pontuando também o critério de exclusão.

A pressão arterial foi mensurada com a gestante sentada, com o braço no mesmo nível do coração e com um manguito de tamanho apropriado. Se foi consistentemente mais elevada em um braço, o braço com os maiores valores foi



usado para todas as medidas. Foram considerados os valores de pressão arterial aferidas no monitor multipâmetros da marca Omni 600 calibrado mensalmente com selo de garantia PH. Os valores pressóricos foram classificados de acordo com as diretrizes da *American Heart Association* (AHA), 2017 com valor igual ou maior de 129 sistólica e 89 diastólico: classificando assim por elevada.

As alterações laboratoriais observada no estudo foi aqueles anotados em prontuário e trazido com as pacientes no ato da admissão hospitalar. Esse processo foi feito também no pós-parto naquelas que tiveram intercorrências em sua entrada no estabelecimento impossibilitando coletar suas respostas.

Em relação aos exames bioquímicos, foram coletados os dados das consultas bases ( $\pm 6$  meses) tanto no serviço quanto nas consultas de pre natal ou pós parto.

Para o cálculo de Índice de massa corpórea (IMC), foram aferidos o peso e altura em balança marca Welmy (capacidade máxima de 200Kg), com estadiômetro (escala de 1,00 a 2,00 mts), devidamente aferidas pelo IPEM e certificada pelo INMETRO. Estes dados foram utilizados do prontuário para classificar os pacientes seguindo os critérios estabelecidos para a classificação quanto ao estado antropométrico gestacional de acordo com a tabela de acompanhamento nutricional do Ministério da Saúde.

Imediatamente após o parto foi coletado cuidadosamente a primeira fralda com as fezes (mecônio) do RN armazenando em pote plástico transparente e junto coletado o swab das fezes e guardado numa bolsa térmica com temperatura 4 a 8 °C de produtos termolábeis, levado para análise no laboratório da UVV.

Para a coleta sanguínea, foi retirado 2 ml de sangue das parturientes com seringa a vácuo 25x7 e armazenado no tubo com EDTA e logo após introduzindo uma seringa de 1 ml no canal vaginal, ficando a escolha da paciente se a realização do procedimento será feito por ela ou por mim, e retirado uma quantidade de secreção vaginal armazenando no tubo estéril. Devido algumas pacientes ter a

secreção espessa, sanguinolenta ou pouco fluido foi adicionado 1 gota de solução fisiológica para diluição. Todos após mantendo refrigerado na temperatura 4 a 8c.

### 3.6 - Análises microbiológicas amostras de fezes e fluido vaginal:

A determinação quantitativa de *Lactobacillus sp*, *Bifidobacterium sp* e possíveis fungos filamentosos e leveduriformes foi adaptada de Mello et al (2009). Para o isolamento de *Lactobacillus sp* será utilizada Agar Rogosa SL (Mello et al., 2009; Kimura et al., 2010), isolamento de *Bifidobacterium sp* sera utilizados Agar BSM (Mello et al., 2009; Ferraris et al., 2010; Vasquez-Gutierrez et al., 2015) e isolamento de fungos, Agar Sabouraud Dextrose acrescido de Cloranfenicol (Gurleen e Savio, 2016). As amostras foram encaminhadas ao laboratório sob-refrigeração da bolsa térmica mantendo a temperatura adequada, pesadas e submetidas às diluições seriadas. Para o isolamento de *Lactobacillus sp* e *Bifidobacterium sp*, em fezes foi coletado 1 g da amostra, diluindo e homogeneizando em 4 mL de salina 0,85%. Esta primeira solução foi novamente homogeneizada e diluída em 1:100. Após isto foi realizada nova diluição seriada até 10<sup>-6</sup>. As três maiores diluições serão inoculadas, em triplicata, pelo método de espalhamento. As placas foram acondicionadas em jarras de anaerobiose e incubadas a 37°C por 48 a 72h. Para o isolamento de fungos, se utilizará 1g diluída e homogeneizada, seguida da diluição seriada até 10<sup>-3</sup>. Cada diluição será inoculada pelo método de espalhamento, em triplicata, e incubada a 30°C por 5 a 7 dias. Após o período de incubação foi realizada a contagem das unidades formadoras de colônias (UFC), realizada a coloração de Gram.

Imediatamente após os procedimentos microbiológicos, as amostras avaliadas quanto ao pH (adaptado de Osuka et al, 2012), coloração, viscosidade, presença de muco e de detritos vegetais e classificadas segundo a escala de Bristol (Caroff et al, 2014). No grupo de NT existiu algumas amostras (4,2%) analisadas somente através de swabs com conservantes e no grupo de hipertensas 24,4%, pois o material sólido das fezes não estava viável para estudo.

Na análise do fluido vaginal, é realizado o esfregaço com swab no tubo estéril do material coletado e colocado no tubo com caldo MRS, um meio não seletivo para o crescimento utilizado para a preparação de inóculos em ensaios

microbiológicos, em seguida colocado na jarra de anaerobiose a 36°C por 5 dias. Após colocado nas placas de petri com as soluções Agar Rogosa, para crescimento de *Lactobacilos* e ágar BSM para crescimento de *bifidobacterias* e incubado novamente por 5 dias para saber se houve crescimento ou não de colônias.

### **3.7 - Análises das células sanguíneas por citometria de fluxo:**

Foi realizada a punção venosa das pacientes para retirar o sangue e acondicioná-lo em microtubos contendo o anticoagulante heparina (EDTA), sendo 100 µL destinados à realização da citometria de fluxo que identifica determinadas células em suspensão, promovendo a identificação e a quantificação de células pelo tamanho, granulosidade e intensidade de fluorescência destas células. A avaliação do tamanho relativo da célula e da granulosidade ou complexidade interna da célula permite a classificação dos leucócitos em linfócitos, monócitos e granulócitos. A avaliação da intensidade de fluorescência ocorre para detecção de antígenos de superfície diferentes marcados com anticorpos monoclonais específicos ligados a compostos químicos fluorescentes ou fluorocromos (Nakage, 2005).

O aparelho utilizado foi FACSsort equipado com o laser de íon argônio (488nm) e detectores de dispersão para tamanho (FSC – forward scatter) e granulosidade interna (SSC – side scatter), detectores de emissão de fluorescência e dois anticorpos monoclonais conjugados a fluorocromos diferentes. As análises foram realizadas no Laboratório de Fisiologia Translacional da Universidade Federal do Espírito Santo coordenado pela Professora Sylvana Meirelles. A determinação das características celulares era obtida através da emissão de fluorescência, por um filtro óptico, e foi representada por um gráfico de dispersão de pontos ou dot plot. Um total de 10000 eventos foi verificado pelo aparelho. Para análise dos dados foi utilizado o programa de computador Cell Quest (Campagnaro, 2008).

#### **3.7.1 Avaliação dos leucócitos:**

A imunofenotipagem de linfócitos é uma aplicação comum da citometria de fluxo em imunohematologia de seres humanos, e tem sido utilizada para estudar os efeitos de doenças e modificações do sistema imune nas populações de linfócitos, através de quantificação de citocinas inflamatórias específicas (Campagnaro, 2008).

Em relação aos anticorpos monoclonais que identificam os antígenos leucocitários deve ser acompanhada pelas contagens totais e diferenciais de leucócitos. A quantidade absoluta das subpopulações linfocitárias é determinada pelas porcentagens da citometria de fluxo, o valor total de leucócitos e o valor diferencial relativo de linfócitos.

### **3.8 - Análise da viabilidade celular:**

O método utilizado para avaliar a viabilidade celular foi de exclusão do corante azul de Tripano durante a contagem celular em câmara de Neubauer. As células mortas se coram de azul pois sua membrana é permeável ao corante, sendo que a membrana das células vivas não é permeável ao azul de Tripano. Então visualiza no microscópio, células mortas são azuis e as vivas transparentes. É importante destacar que a viabilidade celular deve ser maior que 80%. Para calcular o percentual de células viáveis, a média de células vivas foi dividida pela média total de células (vivas e mortas) contadas na câmara de Neubauer. O valor obtido foi multiplicado por 100 e, portanto, a viabilidade é dada em porcentagem (Campagnaro, 2008)

### **3.9 - Análise estatísticas dos dados:**

As variáveis qualitativas são apresentadas como frequências absolutas e proporções. E a análise de associação entre elas realizada com teste  $X^2$  ou teste exato de Fisher, de acordo com a aplicabilidade. As variáveis quantitativas são apresentadas com suas médias, desvios padrão, mediana e intervalo de confiança. Quando os testes para distribuição Guassiana foram positivas, foi aplicado um teste estatístico paramétrico. Como nosso caso foram três grupos de comparação, foi aplicado a análise de variância (ANOVA) de uma via (um único fator), seguido pelo teste *Post hoc* de Tukey. Nas situações em que o teste de normalidade foi negativo. Todos os testes foram considerados em nível de significância de 5% e intervalo de confiança de 95%. Esses dados estatístico foram realizados pelo software PRISM 8.0 (GraphPad, USA).

#### **4.0 - Risco e Benefícios da Pesquisa:**

Considerando que alguns procedimentos feitos já eram rotinas nos hospitais aqui descritos, a nossa intervenção foi limitar-se a coletar somente os dados específicos da pesquisa e dos prontuários proporcionando riscos de pouco impacto adicionais as mães internadas, tais como constrangimento e invasão de privacidade. Os benefícios dessa pesquisa, além dos cientificamente esperados, foi o desfecho de um melhor entendimento do problema abordado na presente dissertação, proporcionando benefícios para as políticas públicas do sistema único de saúde de nosso estado, através de novos conhecimentos que poderão ser adotados visando melhorias a saúde desta população gestacional.

#### **4.1 - Termo de consentimento livre e esclarecido (TCLE):**

A gestante foi convidada a assinar o consentimento livre e esclarecido (anexo 8) com a explicação da finalidade do estudo. Aquelas que assinaram o documento recebeu uma via também assinada por um dos pesquisadores e a outra via ficou arquivada no laboratório do coordenador na biopráticas. Os procedimentos de coleta de dados em protocolo somente foram realizados após a assinatura do TCLE pelo participante, e nenhuma avaliação ou coleta de dados foi realizada antes do consentimento do paciente. O TCLE foi aplicado por mim aluna de mestrado. Logo assim está gestante respondeu um questionário com questões socioeconômico-cultural e científicas.

#### **4.2 - Procedimentos éticos da pesquisa:**

O projeto de pesquisa foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa com Seres Humanos da Universidade de Vila velha (CEP-UVV) no dia 15 de março de 2018, com o CAAE nº 84915818.9.0000.5064 e parecer nº 2.546.427 (Anexo 9)

## 4. RESULTADOS:

### 4.1 Características das amostras:

As análises a seguir correspondem a uma amostra total de 121 pacientes gestantes e puérperas, caracterizadas como normotensas (NT, N=55) e hipertensas (HT, N=66). As hipertensas, por sua vez, subcaracterizadas como hipertensas crônicas (HC, N=19) ou hipertensas gestacionais (HG, N=47). Em relação a idade das internas, nas hipertensas gestacionais a idade variou de 15 a 41 anos (média de  $28 \pm 7$  anos) similar aquela apresentada pelo grupo de normotensas cujo faixa foi de 16 a 41 anos (média de  $26 \pm 6$  anos). Em constaste, a idade apresentada pelas hipertensas crônicas foi significativamente superior (23 a 49 anos, média de  $32 \pm 7$  anos,  $p < 0,05$ ) aos outros grupos (tabela 1)

Tabela 1. PARÂMETROS PESSOAIS DA MÃE

	NT =55	HG=47	HC=19
<b>SALÁRIOS (SALÁRIOS MÍNIMOS)</b>			
Sem renda	9	3	0
1 salário	36	18	11
2 salários	5	17	7
Mais de 3 salários	5	9	1
<b>ESCOLARIDADE</b>			
Sem estudo	0	0	0
Ens. fundamental incompleto	7	7	3

Ens. fundamental completo	5	2	3
Ens. médio incompleto	10	7	3
Ens. médio completo	30	28	7
Superior	3	3	3

---

**ETNIA**

Branca	18	20	9
Parda	27	19	6
Negra	10	8	4

---

**ESTADO CIVIL**

Casada	23	12	7
Solteira	12	17	7
União estável	20	18	5

---

**IDADE**

15 – 25 anos	27	17	3
26 – 35 anos	25	18	8
36 – 45 anos	3	12	7
Acima 46 anos	0	0	1

---

Nos grupos hipertensos e normotensos, não foi visto nenhuma diferença importante na variação relacionado a etnia e estado civil. Houve uma prevalência nos grupos de escolaridade de ensino médio completo. Com a importância de se atentar ao histórico familiar, foi encontrado em todos os grupos NT, HG, HC uma incidência elevada de mães de gestantes com distúrbios metabólicos incluindo: hipertensão, diabetes dentre outros. Em relação a via de partos anteriores já previsto, o grupo de NT e HC tem a incidência de parto normal e HG cesariana.

Quando avaliado o IMC, observamos que os valores dos grupos hipertensos foram similares entre si (HG:  $35\pm 8$  e HC:  $33\pm 7$  kg/m<sup>2</sup>), porém, significativamente elevados em relação ao grupo de NT – controle ( $28\pm 6$  kg/m<sup>2</sup>). No entanto, deve se levar em conta que a idade gestacional que foi diferente entre os grupos influenciando no IMC de cada paciente.

Conforme mostrado na tabela 2, no grupo de normotensas observou se 23% de gestantes apresentaram o IMC baixo peso, 45% adequado e 16% sobrepeso e obesidade. Em contraste, considerando apenas as hipertensas, essa distribuição foi de 10, 12, 24 e 55% respectivamente. É interessante notar que atingida as 37 semanas, verificou se IMC adequado apenas no grupo HC. Uma vez completada as 39 semanas o percentual de gestantes hipertensas com o IMC elevado, de acordo com o estado gestacional, as HC apresentaram nas idades gestacionais acima de 39 semanas com 67% de obesidade enquanto nas HG acima de 39 semanas a 41 semanas mais de 50% e somente 10% das hipertensas apresentaram baixo peso. Em contraste, o IMC adequado e aquele que indica obesidade foram estatisticamente inferiores (45% e 6% respectivamente) (Tabela 2).

Tabela 2. Parâmetros sociais das mães

	NT = 55	HG = 47	HC = 19
IMC			
Baixo Peso	12	5	1
Adequado	25	5	3



Sobrepeso	9	12	4
Obesidade	9	25	11
HISTÓRICO FAMILIAR DCV			
Mãe	20	22	8
Pai	5	10	7
Outros	4	8	3
HÁBITOS DE VIDA			
Tabagismo (cigarros, drogas..)	7	0	3
Álcool	4	0	3
Atividade física	16	8	3
Restrição alimentar	0	5	4
PARTOS ANTERIORES			
Cesárea	16	18	7
Normal	30	8	8
Nenhum ou s/ informação	9	15	7

Dentre as hipertensas do estudo somente 09 gestantes fizeram controle de sua alimentação evitando gordura, sal e açúcares em suas refeições contrapondo se as normotensas que não fizeram restrições alimentares. As pacientes entrevistadas tantas as hipertensas como normotensas tem prevalência de situação econômica desfavorável, ficando uma pequena parcela com uma renda razoável (até 3 salários mínimos) para

manter a família, e conseqüentemente com dificuldades em viabilizar alimentos saudáveis que sabidamente favorecem o ecossistema intestinal no qual a microbiota contribui para o estado de saúde do indivíduo, pois modula o estado imunológico além do nutricional.

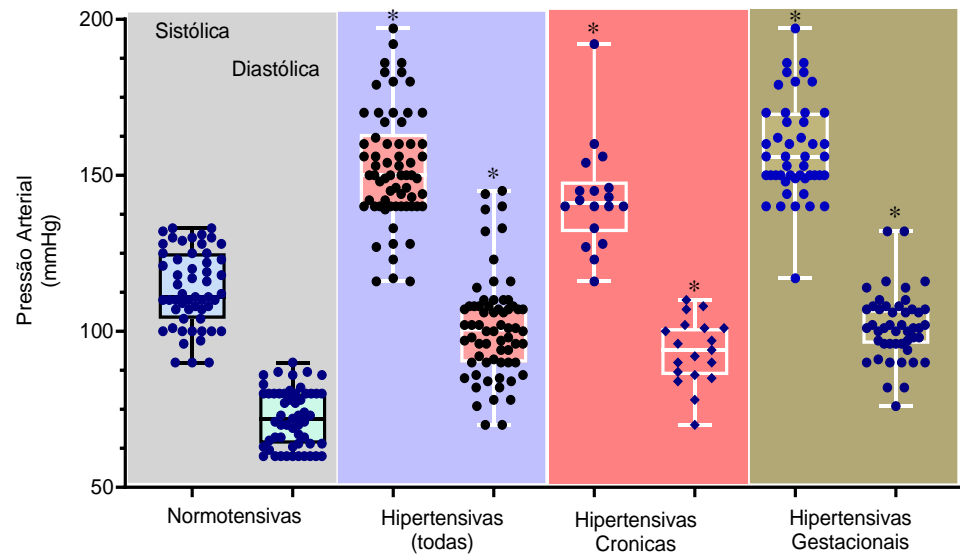
Considerando a maleficência do uso de álcool e fumo, avaliamos a influência desses parâmetros em nosso estudo. É interessante notar que no grupo NT- controle foi identificado que 7 pacientes que fizeram o uso dessas drogas durante a gestação, sendo que 2 delas também fizeram o uso de outros produtos ilícitos, enquanto que a ocorrência do consumo de tais substâncias foi bem inferior nas hipertensas (3 HC e 0 HG). Sabendo se dos benefícios que o indivíduo pode ter com a prática cotidiano de atividade física, no presente estudo isso também foi avaliado. Constatamos que 11 das 66 hipertensas praticaram atividade física na gestação, incluindo caminhada e musculação e um número quase similar foi observado nas normotensas (16 de 55).

No ato da admissão hospitalar, tivemos o cuidado de questionar alguns aspectos sobre o acompanhamento do pré-natal, o qual é geralmente feito por no mínimo de 6 consultas. No grupo de hipertensas, somente 01 não realizou nenhuma consulta de pré natal, as demais fizeram uma média de  $\pm 6$  consultas, enquanto no grupo de NT todas realizaram pré natal, embora não tão adequado quanto é preconizado o Ministério da Saúde.

#### **4.2 Valores pressóricos e medicamentos utilizados pelas pacientes:**

O diagnóstico de hipertensão arterial na gravidez é feito quando os níveis pressóricos são iguais ou superiores a 129/89 mmHg. A aferição da pressão arterial no momento da internação das pacientes gestantes é mostrada na figura 1. Como se observa, todas as pacientes classificadas como NT apresentaram valores pressóricos de sístole e diástole inferiores a 130 por 90 mmHg e a variação de valores neste grupo foi de baixa dispersão. Por outro lado, a classificação de pacientes hipertensas foi realizada com base nos valores detectados ou baseados no relato da paciente de que a mesma fazia uso de anti-hipertensivo. Por isto, nota se uma média e uma grande dispersão em torno da mesma nos valores em torno da sistólica e diastólica no grupo HC, devido ao fato das mesmas fazerem o uso de medicamento antihipertensivo. Como mostra na figura 1 estes valores de média de pressão sistólica e diastólica são agravados no grupo HG, o qual se faz menos uso de antihipertensivos.

**Figura 1. Média dos valores**



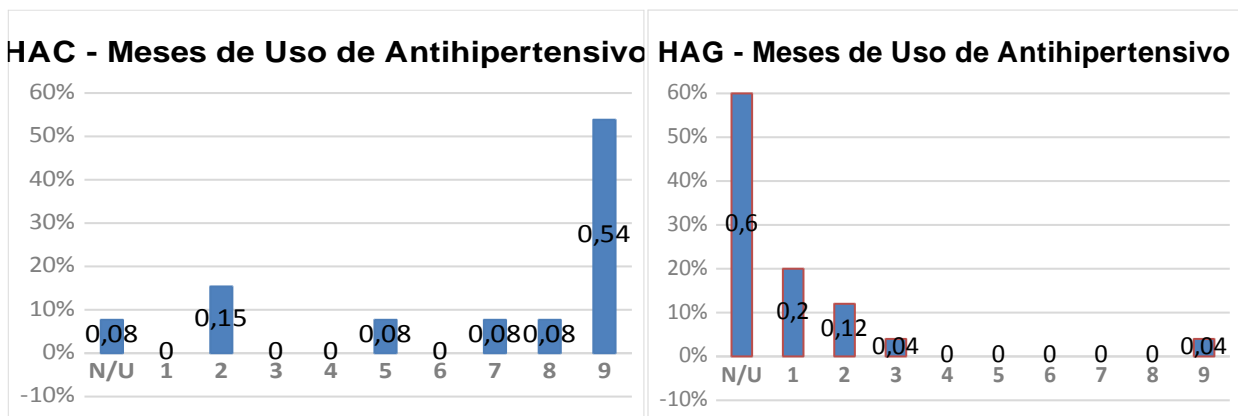
## Média valores pressão arterial aferida por aparelho oscilométrico:

Grupo	Sistólica	Diastólica
<u>NT</u>	<b>114±2</b>	<b>72±1 mmHg</b>
<u>HT</u>	<b>153±2</b>	<b>101±2 mmHg</b>
<b>HG</b>	<b>158±2</b>	<b>102±2 mmHg</b>
<b>HC</b>	<b>143±4</b>	<b>94±2 mmHg</b>

Com o objetivo de entender qual foi a influência do uso de medicamentos antihipertensivo nos nossos resultados verificamos de acordo com a figura 2, que o número de pacientes hipertensas que fizeram o uso de metildopa, o medicamento usual para as gestantes manter os níveis pressóricos estáveis durante o período da gestação, abrangeu 93% das HC das quais 50% fizeram o uso desse medicamentos durante todo o período gestacional. Por outro lado, no grupo HG o uso da medicação durante a gestação foi significamente menor (43%), e também significamente 4% fizeram uso da medicação durante os 9 meses de gestação. Obviamente nenhuma das normotensas teve constatado em seu prontuário o uso de antihipertensivo, sendo que isto era um dos critérios de exclusão da pesquisa. É importante ressaltar que pacientes internadas com fins gestacionais podem dar entrada no hospital na condição de normotensa e

eventualmente evoluir para um estado hipertensivo. No presente estudo, observamos que 57% das HG se enquadraram nesta situação ao final da gestação. Observou-se uma dramática redução destes valores quando analisamos as HC (7%) as quais não faziam uso da medicação. É interessante ressaltar de que estas pacientes HC geralmente estão cientes da possibilidade de desfecho desfavorável no momento do parto.

**Figura 2. Tempo de uso do anti-hipertensivo:**

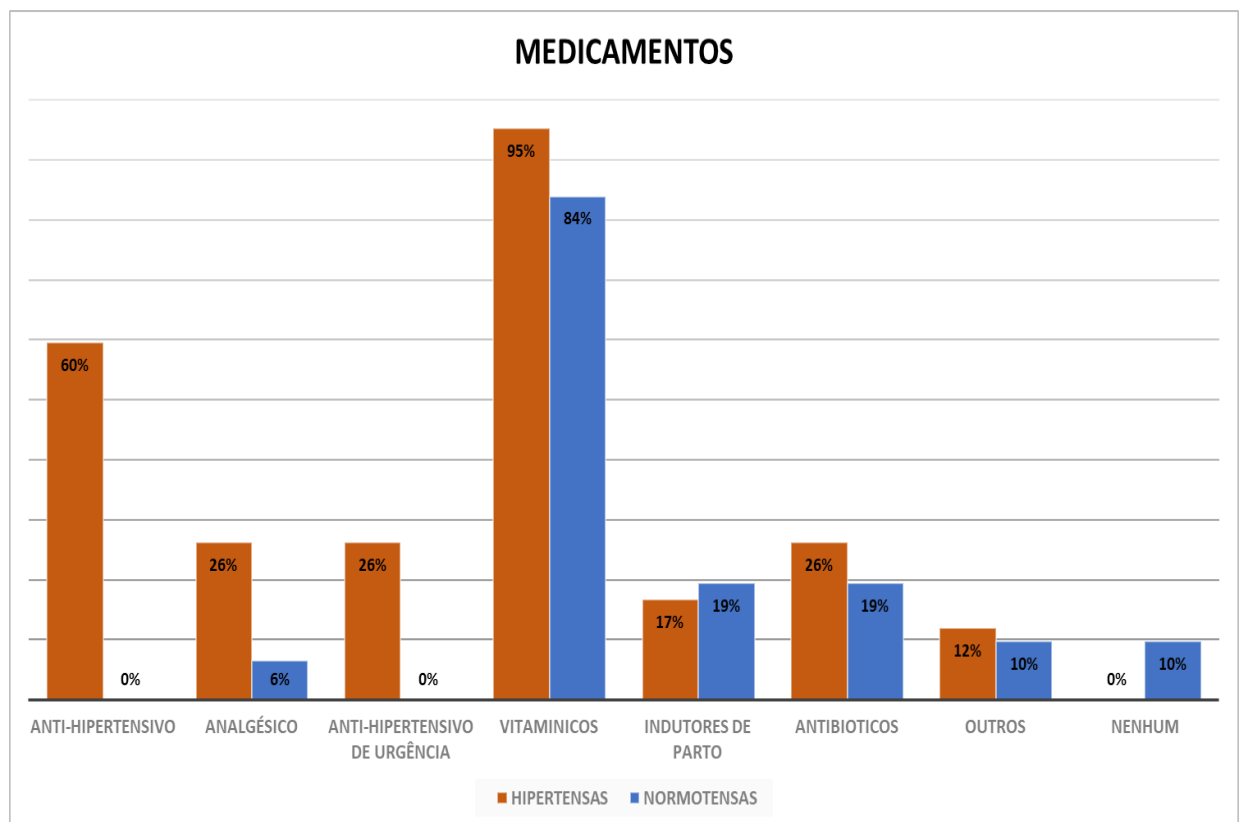


Nota-se que 36% das HG e 7% das HC foram acometidas por emergências hipertensivas, ou seja, altos níveis persistentes de pressão arterial, as quais foram diagnosticadas rapidamente receberam em caráter de urgências drogas de ação curta, tais como hidralazina e sulfato de magnésio, que são vasodilatadores arteriolarres clássicos nestas situações e que proporcionam uma adequada ação barorreflexa, administradas por via intravenosa, sob controle médico em salas de emergências. Somente uma delas das HC apresentou urgência hipertensiva, a mesma fazia o uso dos medicamentos anti-hipertensivo de forma irregular, ingestão de bebida alcoólica e cigarros durante o período gestacional, esses fatores multifatoriais contribuíram para um distúrbio metabólico e alterações na microbiota do RN transmitindo para a sua flora intestinal as toxicidades existentes.

Um dos cuidados do profissional de saúde durante as consultas são as infecções que comumente afetam as grávidas e são orientadas a ter extrema cautela nessa fase, para evitar que as alterações anatômicas que ocorrem na gravidez favoreçam essas infecções e também afetando o sistema imune da mulher. Foi constatado uma incidência de 27% de hipertensas como um todo com infecção urinária até o terceiro trimes-

tre, sendo que 38% foram do grupo HC e 24% no grupo HG em comparação com 19% no grupo controle NT. Por este motivo é feita a intervenção com o uso de antibióticos, embora se saiba os danos que pode causar a microbiota intestinal. Outro cuidado investigado através do questionário, foi sobre o uso de vitamínicos sulfato ferroso e ácido fólico, constatado em 95% das hipertensas e 84% das NT (Figura 3).

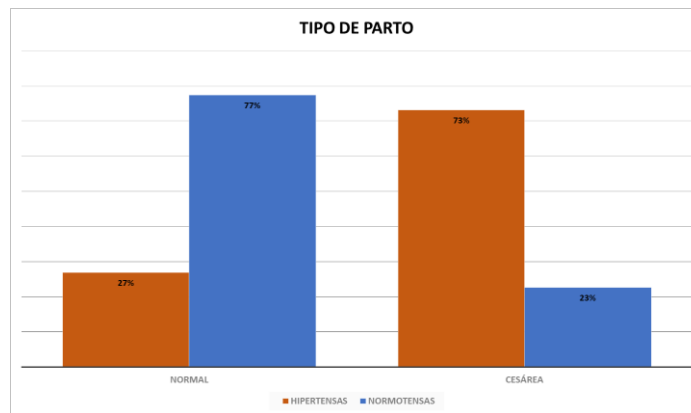
**Figura 3. Uso de medicamentos no período gestacional:**



#### 4.3 Características do pós-parto:

Uma das características da amostra foi relativa a via de parto cuja a predominância foi cesarianas justificadas pelo fato da grande maioria das gestantes dão entrada na maternidade apresentando pressão arterial acima do normal (140/90mmHg) impossibilitando o parto natural. No grupo controle (n=31) de gestantes saudáveis com pressão arterial dentro da normalidade (NT) se tem a via de parto normal abrangendo 77% comparado somente a 26% das hipertensas. O parto cesariana ocorreu principalmente nas urgências hipertensivas das (79% das HG) em consequência de não ter nenhum controle dos parâmetros pressóricos, enquanto que somente 5 no grupo HC realizaram o parto normal.

**Figura 4. Tipos de parto:**



Fazendo uma análise no perfil bioquímico dessas gestantes, as maiores alterações ocorreram nas HG, tais como: (a) queda de plaquetas e hemoglobina, (b) aumento do DHL, leucócitos e ácido úrico e também (c) alterações nos valores de creatina e ureia e transaminases, confirmando o quadro de pré-eclâmpsia gestacional. Foi visto também alteração de ultrassonografia fetal em duas mães HG no pré parto tais como polidrâmnio e centralização das artérias uterinas. Nas normotensas, seus exames laboratoriais não apresentavam nenhuma gravidade, visto somente alterações no exame de urina e anemia leve que foram tratadas no pós parto. Todas as gestantes tanto HAC, HAG e NT não tiveram malformação fetal ou óbito fetal.

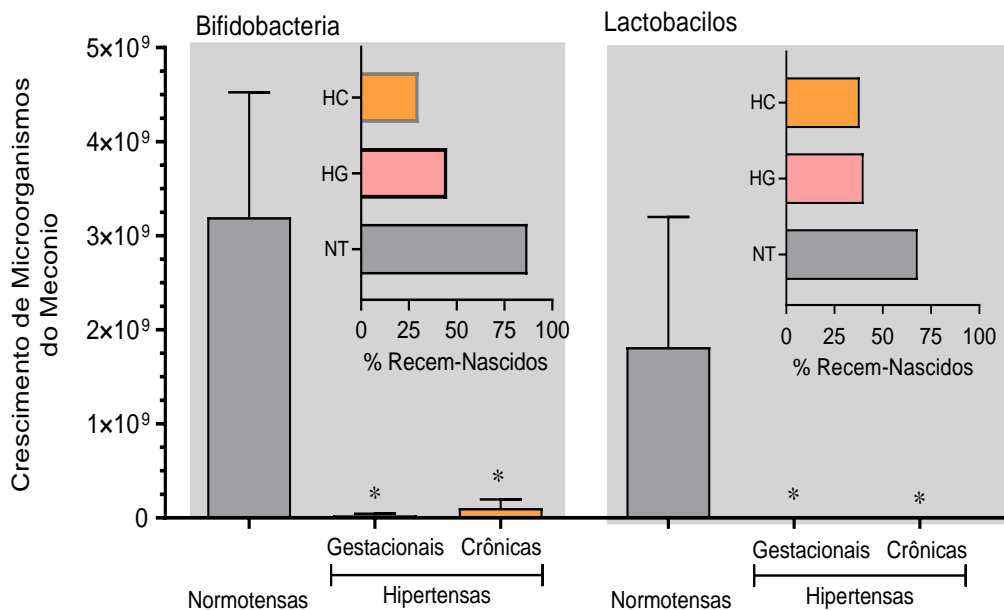
#### **4.4 Dados dos recém-nascidos:**

Na avaliação do desenvolvimento fetal, o sofrimento fetal foi visto menos da metade dessas mães sendo reestabelecido horas depois após o parto não causando nenhuma sequela com gravidade para estes recém-nascidos.

Tem sido especulado que o parto cesárea prejudica a microbiota intestinal dos recém-nascidos, predispondo esses a desfechos desfavoráveis nos anos de vida posteriores (Science, 2019). Corroborando esta hipótese, observamos em nosso estudo que nos RN, principalmente de gestantes normotensas, houve um crescimento significativamente maior de *bífidobactérias* e lactobacilos quando o parto foi natural e um marcante prejuízo da microbiota intestinal quando este foi por via cesariana.

Figura

5.



Na análise da microbiota intestinal dos mecônios dos recém-nascidos (figura acima), verificamos que durante a amamentação exclusiva, dentre os microrganismos, as *bifidobactérias* teve crescimento 87% nas bebes de NT, 45% nos de HG e 30% nos de HC. Quando feita análise dos *lactobacilos*, verificamos um crescimento de 68% nas pacientes NT, 40% nas HG, 38% nas HC. Quando analisamos a microbiologia dos bebes alimentados com fórmula praticamente não se observou crescimento de microrganismo, o que interpretamos como uma grave disbiose intestinal. Visto que somente um bebe apresentou sofrimento fetal ao nascer sob via de parto normal sendo introduzido dextrosol mais o leite materno para melhorar sua hipotomia nos dando como resultado de crescimento somente de *bifidobacterium* e *cândidas*.

No grupo das HC, em 57% não houve crescimento de bífido+lacto no material da análise microbiológica e o mesmo ocorreu no grupo HG (54%) com crescimento somente em 29%. Em nossa análise verificamos que o sofrimento fetal foi visto nas hipertensas somente em 02 gestantes ambos de parto cesariana e com HG apresentando como resultado o crescimento único de bífido somente em uma delas. O crescimento de *cândida* foi apresentado somente em 01 HG de parto normal enquanto nas NT foi visto em 02, uma de parto normal e outra cesariana, isso nos mostra que a colonização de fungos nos recém-natos a termo são baixas justificando a literatura que pontua que sua incidência é aumentada em recém-nascidos prematuros levando a propensão a elevados índices de infecções tardias no futuro desses bebes. Os resultados encontrados das HG

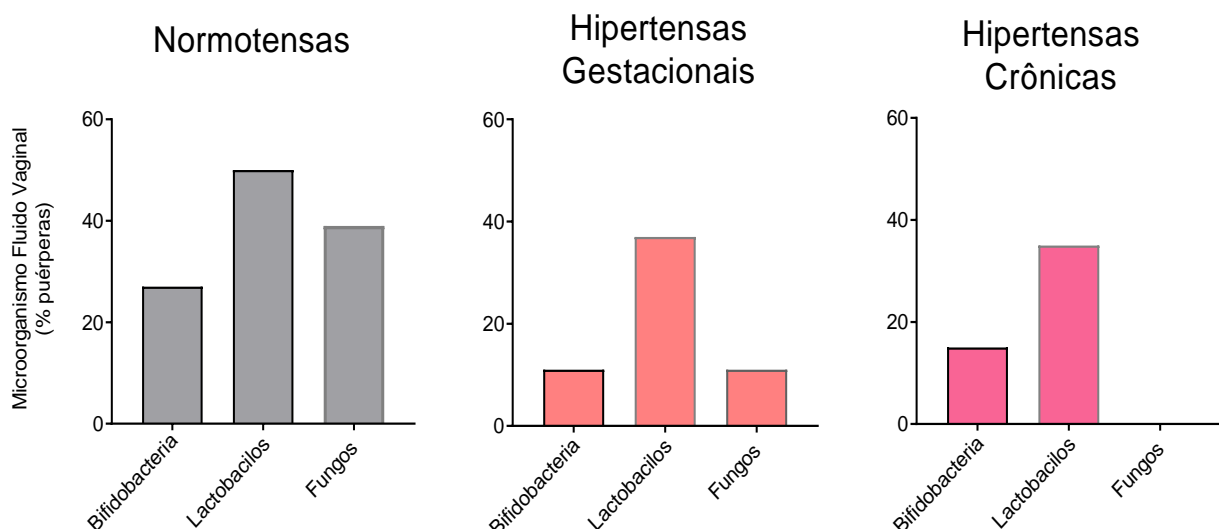
que fizeram o uso de substâncias com álcool e fumo durante a gestação foram somente 02 em que uma delas só tiveram o crescimento de lactobacilos enquanto que outros microrganismos não cresceram. Os medicamentos de urgência hipertensiva foi utilizado em 05 gestantes em nosso trabalho sendo que somente uma delas teve o crescimento de apenas lactobacilos ficando assim o restante com crescimento insatisfatório.

#### 4.5 Caracterização do fluido vaginal das parturientes:

Sabendo que a microbiota dos recém-nascidos do contato com a flora bacteriana da mãe via placentária, via parto – pele, avaliamos também no fluido vaginal a composição e quantidade de crescimento de microrganismos. Todavia, nos deparamos com problemas técnicos, isto é, algumas parturientes apresentavam uma diminuta secreção vaginal.

No grupo NT cuja prevalência foi de parto normal mostrado na figura 6, também foi detectado um maior número 52% apresentaram crescimento somente de lactobacilos e 48% de *bifidobacterias*. Em algumas destas não foi possível fazer a análise devida a contaminação por fungos. No grupo de hipertensas com amostras viáveis, foi visto um crescimento de 52% de lactobacilos e 14% de bífido e crescimento de ambas somente em 2 uma HG e outra crônica de incidências de cesarianas. No presente estudo, não observamos diferenças significantes entre os três grupos no que diz respeito ao tipo e quantidade de microrganismo no fluido do canal vaginal das mães, conforme preconizado recentemente na Science (2019), relatando que há uma microbiota diversificada, independentemente da via original de parto.

**Figura 6:**

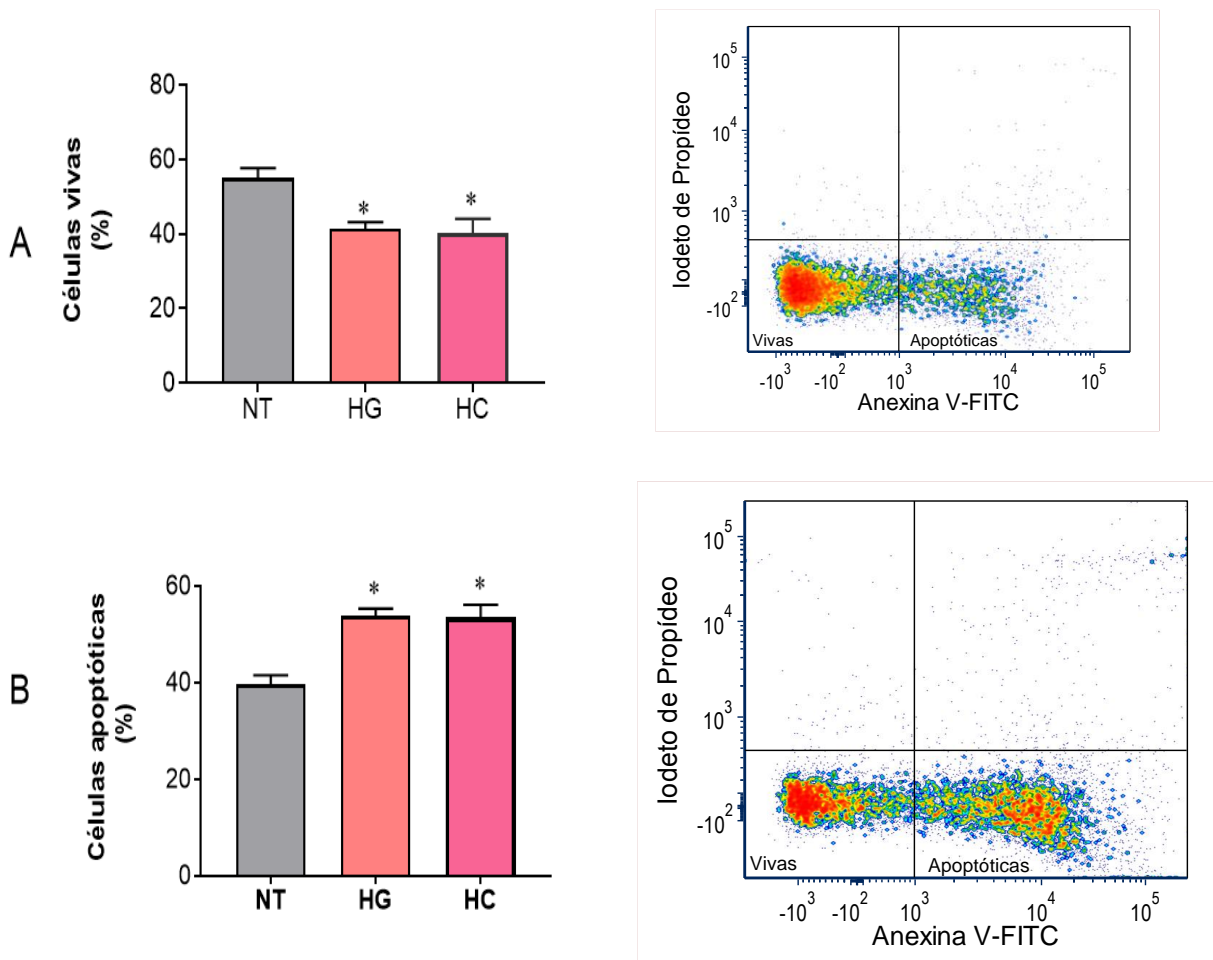




#### 4.6. Influências do estado hipertensivo das células sanguíneas das mães:

Conforme a análise das células sanguíneas, por citometria de fluxo, mostrou que mães HG apresentaram um número significativamente menor de células viáveis ( $41\pm 2\%$ ) quando comparados com mães NT ( $55\pm 3\%$ ) e HC ( $47\pm 6\%$ ). Além disto, também foi observado um aumento significativo do número de células em estado apoptótica no grupo hipertenso, principalmente HG ( $54\pm 2\%$ ); HC ( $47\pm 4\%$ ) em comparação com os NT ( $40\pm 2\%$ ). A figura 7 mostra histogramas típicos dos resultados acima relatados.

**Figura 7: Viabilidade Celular x apoptose:**

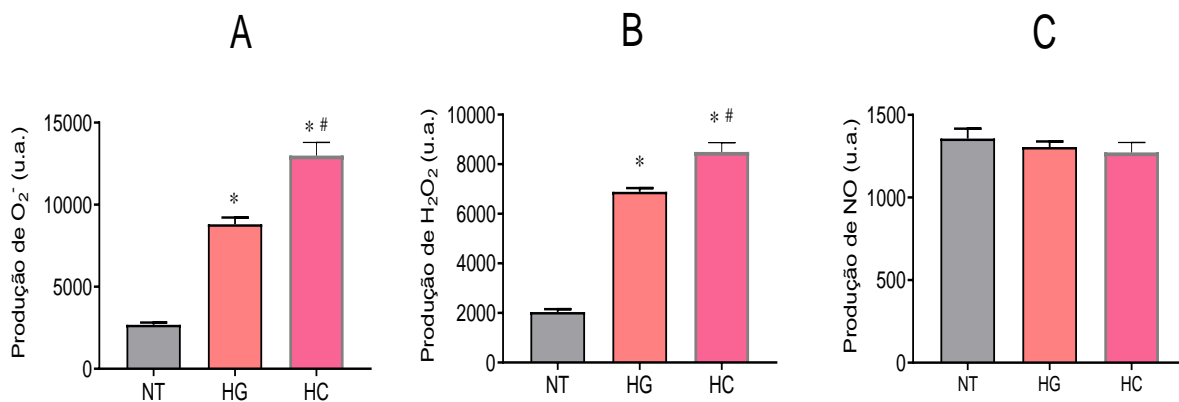


#### 4.7 Análise do estresse oxidativo dos grupos:

A figura 8 sumariza os dados de espécies reativas de oxigênio, avaliados por citometria de fluxo, comparando os três grupos de pacientes. Conforme mostrado na figura A, observou-se um grande aumento na produção de ânion superóxido nas amostras do grupo HG (+3.3 vezes,  $p < 0.05$ ) e maior ainda no grupo HC (+4.9 vezes,  $p < 0.05$ ), quando comparado com o grupo NT ( $2678 \pm 135$  u.a.). A figura B mostra os valores médios do radical livre peróxido de hidrogênio, onde se nota claramente um similar aumento nos grupos hipertensos (+3,4 vezes e +4,2 vezes, respectivamente) quando comparado com o grupo NT ( $2039 \pm 116$  u.a.).

É interessante que não encontramos diferenças entre os três grupos na biodisponibilidade de ânions óxido nítrico.

Figura 8: Espécies reativas de oxigênio nos grupos NT, HG e HC:



## 5. DISCUSSÃO:

Um planejamento em todo período gestacional tem a importância de promover bem-estar e saúde e identificar os riscos que poderão desfavorecer o prognóstico final materno fetal para isto é necessário o mínimo de 6 consultas de acompanhamento rigoroso de pré natal, sendo alto risco ou não, com uso de medicamentos de controle mantendo assim a estabilidade fisiológica garantindo assim o trabalho de parto de forma natural. A grande maioria em nosso estudo fizeram uso de antibióticos em que o uso prolongado e indiscriminado pode interferir na microbiota causando a disbiose e acarretando em consequências desagradáveis a curto e longo prazo. Algumas patologias comumente existente na gestação como: a anemia na gravidez pode comprometer a saúde materno-fetal e está associada à pré-eclâmpsia, comprometimento físico e mental materno, alterações cardiovasculares, restrição de crescimento fetal, prematuridade, comprometimento da vitalidade fetal e aumento da mortalidade perinatal.

As cesarianas eletivas sem início de trabalho de parto implica no desfavorecimento do desfecho final para esta mãe visto que a aumenta a incidência em internações na UTI, necessidades de transfusão sanguínea, histerectomia e até risco a morte (Queiroz, 2018). Segunda Yeruva et al 2017, gestantes de parto normal tem uma predominância de 100% de encontrar alguma das variadas espécies de *Lactobacilos spp* pois grande maioria das mulheres colonizam essas bactérias protetoras no canal vaginal confirmando ainda com Matsumoto et al 2018, onde mostra em seu artigo que na população de mulheres japonesas tanto gestantes como não gestantes se há um predomínio de *Lactobacilos* na microbiota vaginal. Certas substâncias químicas produzidas pelo fumo podem alterar a forma como o sangue flui pelo intestino, possivelmente levando a uma restrição do fluxo sanguíneo dentro das paredes do intestino também implicando no crescimento de bactérias benéficas da mãe que carrega para seu RN.

Rautava, S. et al, 2012 curiosamente explicita no seu artigo que bactérias vivas foram detectadas em 25% das placentas após o parto por cesariana com a pré-eclâmpsia entre 23 e 28 semanas de gestação cultivadas na corionâmia de 15% dos casos de mulheres após cesariana sem ruptura de membranas. Assim, existem dados que sugerem que traços de micróbios são detectáveis na unidade feto-placentária a partir de gestações saudáveis a termo. O DNA de bactérias intestinais, como bifidobactérias e *Lactobacilos*, foi encontrado em placenta a termo após parto vaginal e por cesárea, de

maneira semelhante, o DNA microbiano está presente nos a termos em membranas fetais sem sinais de inflamação. Esses dados confirmam esses achados ao demonstrar a presença de DNA bacteriano na maioria das vezes, pertencentes ao comum bactérias do intestino *Lactobacillus spp.* e *Bifidobacterium spp.* — em todas as placentas e 43% amostras de líquido amniótico obtidas após 29 partos cesáreos eletivos estéreis a termo sem sinais de infecção, ruptura de membranas ou início de trabalho. A presença de DNA bacteriano em mecônio infantil sugerindo origem pré-natal também foi relatado (Rautava et al, 2012)

Além de alguns fatores o cigarro acarreta diversas consequências ao bebê dentre elas estão o baixo peso, anomalias placentárias, aumento na mortalidade infantil e retardo no crescimento pós-natal. A nicotina atravessa a placenta com a concentração 15 vezes mais elevada no RN frente à mãe alcançando a corrente sanguínea fetal (Ferreira, 2015). Uma vez que o etanol atravessa a placenta e é considerada uma substância teratogênica que produz deficiências no crescimento pré e pós-natal, ele também pode acarretar em alterações do DNA fetal. A alcoolemia fetal é semelhante à materna onde concentração de álcool foram observadas no líquido amniótico fetal sendo similares àquelas encontradas no sangue materno. O líquido amniótico ingerido pelo concepto contendo o álcool é absorvido, atingindo a circulação fetal, e posteriormente, o transfere para a circulação materna, o que parece ser um mecanismo de eliminação do álcool contido no líquido amniótico. No entanto, esse processo pode durar cerca de três horas, mesmo após a ingestão de apenas uma dose de bebida alcoólica. Os danos pré-natais podem ser citotóxicos ou mutagênicos (Ferreira, 2015).

Durante a última década, tornou-se gradualmente evidente que a exposição microbiana materna durante a gravidez pode ter implicações para a saúde infantil. A exposição materna modula a fisiologia imune fetal e aponta para um papel crítico para a função imune inata na unidade feto-placentário que sofre influências ambientais durante o desenvolvimento fetal podendo ter consequências duradouras para a saúde. A programação pré-natal da fisiologia humana como resultado de deficiência nutricional e restrição de crescimento intra-uterino tem sido extensivamente investigada. Em paralelo, os avanços da pesquisa sugerem que a interação íntima entre o hospedeiro e os micróbios ambientais e indígenas começa no útero. Tem sido relatado que as células imunes maternas atravessam a placenta e modulam as respostas imunes no feto humano. Além disso, o estado imunológico e metabólico materno durante a gravidez pode levar à ativação imune inflamatória na placenta. Esse estado também modula o inóculo

microbiano inicial para a placenta a composição do recém-nascido e do leite materno, afetando assim a colonização microbiana gradual na primeira infância. As complexas interações entre micróbios, respostas inflamatórias, fatores dietéticos e programação imunológica e metabólica que influenciam o risco de doença poderiam ter suas origens em feto- interações materno-hospedeiro-micróbio (Rautava et al, 2012).

De acordo com Schmidt et al 2017, as alterações na composição da microbiota intestinal foram detectadas entre indivíduos obesos e magros. A obesidade está associada a alterações nas quantidades relativas de Bacteroidetes e Firmicutes, e estudos em animais demonstraram que um aumento de 20% em Firmicutes e um decréscimo correspondente em Bacteroidetes foi associado a um aumento na produção de energia. Padrões iniciais de colonização microbiana podem não apenas estar associados, mas também tem um papel causal, no desenvolvimento de obesidade e doença metabólica bem como alterações na microbiota intestinal.

A dieta é um fator determinante das características da colonização intestinal, altamente influenciada pelos hábitos alimentares de longo prazo e por fenótipos do hospedeiro, não sendo abruptamente alterada por intervenções de curto prazo. Algumas dietas podem modificar o padrão de colonização intestinal desde o início da vida. Logo, sugere-se que a alimentação tenha efeito direto sobre a microbiota. Evidências atuais em humanos, complementarmente às obtidas através de estudos em modelos animais deixam claro que, de fato existe relação entre a manipulação da microbiota intestinal e a obesidade. Os padrões dietéticos interferem na composição da microbiota e têm relevância na modulação metabólica e regulação da adiposidade corporal. Para se garantir uma microbiota saudável e equilibrada precisa se de ter peso adequado e uma dieta equilibrada para se evitar a disbiose e auxiliando na medida corporal e evitando as complicações associadas comumente à obesidade como por exemplo a hipertensão arterial.

As literaturas mostram que o aumento da idade pode ser um fator relevante no desenvolvimento da obesidade. Em geral, isso ocorre porque o excesso de peso é determinado por uma diminuição do metabolismo basal e, também, em decorrência da natural perda de massa muscular, o que ocorre com o avanço da idade. Não há consenso entre os estudos no que diz respeito à direção da associação entre estado civil e a questão de sobrepeso e da obesidade.

A prática de exercícios físicos, por sua vez, tem sido ressaltada como fator de prevenção primária, de suporte terapêutico de diversas enfermidades crônicas, e há

evidências suficientes para definir como positiva a influência da atividade física na prevenção e controle à obesidade. A dietoterapia e a prática de esportes para a prevenção e tratamento da disbiose passa, principalmente, por uma reeducação alimentar, evitando-se o excesso de ingestão das carnes vermelhas, do leite e derivados, de ovos, do açúcar branco e de alimentos processados moldando uma gestação saudável evitando substâncias tóxicas que comprometem a microbiota intestinal benéfica do recém-nascido.

A amamentação exerce uma grande influência na colonização intestinal inicial na primeira infância. A microbiota intestinal de bebês amamentados foi relatada para ser dominado por bifidobactérias, enquanto bebês alimentados com fórmula um microbioma mais diversificado. O leite materno é uma fonte de bactérias simbióticas e probióticas e prebióticos para o intestino do bebê, como oligossacarídeos do leite materno (HMO). HMO não são digeridos pelo intestino humano e, para tanto, o papel da microbiota intestinal é fundamental para sua hidrólise. Dessa forma, HMO aumentam a população de bactérias benéficas dominada bifidobactérias e lactobacilos (Carvalho Ramos et al, 2018)

Por outro lado, Penders e colegas examinaram a composição da microbiota intestinal 50 bebês amamentados ao peito e 50 alimentados com fórmula e descobriram que, em nível de espécie, todas as crianças foram colonizadas por bifidobactérias sem diferenças na prevalência ou na quantidade bifidobactérias entre os grupos. Os mesmos investigadores mais tarde analisou amostras fecais obtidas a partir de > 1.000 lactentes com 1 mês de idade. Nenhuma diferença entre bifidobacterias colonização foram detectados entre aleitamento materno e bebês alimentados com fórmula, mas exclusivamente alimentados com fórmula lactentes foram mais frequentemente colonizados com *Escherichia coli*, *Clostridium difficile*, *Bacteroides spp.* e lactobacilos.

Os autores concluíram que o parto normal, a termo lactentes amamentados exclusivamente eram mais prováveis ter o maior número de bifidobactérias intestinais. As bifidobactérias e os lactobacilos são bactérias que desempenham papel benéfico à saúde humana por reduzirem o pH por meio da produção de ácidos graxos de cadeia curta, inibindo assim o crescimento de bactérias patogênicas. No presente estudo não foi observada diferença significativa nas concentrações de pH entre os grupos avaliados como válidos pois existem amostras de swabs que não se consegue avaliar o pH, com mediana de 6,0 em ambos os grupos, sendo esse pH favorável para o crescimento das bifidobactérias, as quais possuem um pH ótimo para crescimento de 6,0-7,0. Entretanto,

essa faixa não é favorável para o crescimento dos lactobacilos, uma vez que essas bactérias são acidúricas com pH ótimo para crescimento entre 5,5-6,2.

Segundo a análise feita no estudo de Abreu, 2016 foi observado nos principais filos, um predomínio de Firmicutes (79,1%), Bacteroidetes (8,97%), Actinobacteria (3,61%) e Proteobacteria (5,42%) no grupo normotenso controle. No grupo de indivíduos com hipertensão, há uma menor abundância relativa na população de Bacteroidetes no grupo HAS, o que reflete no aumento da razão Firmicutes/Bacteroidetes, reconhecida como uma das características de disbiose da microbiota e associada a diversas condições patológicas como obesidade, diabetes mellitus e doenças cardiovasculares. O segundo grupo de medicamentos anti-hipertensivos sob revisão baseado no mecanismo de ação são os agentes antiadrenérgicos de ação central é o metildopa foi usada pela primeira vez obstetrícia em 1963, e ainda é amplamente usado hoje por causa de sua segurança percebida e eficácia. Este agente é um agonista  $\alpha_2$ -adrenérgico que tem sistema nervoso central (SNC) e efeitos no sistema nervoso periférico. Ele inibe a enzima dopa descarboxilase e causa depleção de norepinefrina, sem efeito direto sobre a função cardíaca, taxa de filtração glomerular, fluxo sanguíneo renal ou fração de filtração. Embora o mecanismo de ação ainda não tenha de ser conclusivamente demonstrado, o efeito hipotensor resultante é provavelmente pela ação da droga no SNC levando a uma redução do tônus simpático, resistência e pressão arterial. A metildopa ainda é um agente aceito para o tratamento de hipertensão durante a gravidez com base em sua eficácia e segurança, embora tenha sido largamente substituído pelo labetalol como agente de primeira escolha para a maioria dos pacientes (Leavitt et al, 2019). A nifedipina tem sido o bloqueador dos canais de cálcio mais estudado na gravidez, sem evidência de teratogenicidade ou efeitos adversos neonatais nos melhores estudos disponíveis, incluindo ausência de associação com perfusão uterina reduzida. Como tal, não é recomendado para o tratamento agudo de crise hipertensiva. No entanto, as preparações de nifedipina de longa duração são consideradas seguras para o tratamento hipertensão grave, porém em nosso estudo não foram encontradas gestantes em uso do medicamento citado acima (Leavitt et al, 2019). O regime anti-hipertensivo comumente usado reduz o risco de eventos cardiovasculares totais; quanto maiores as reduções pressão arterial (PA), maiores são as reduções de risco, além disso, estima-se 10 a 30% da população geral de hipertensos apresentam hipertensão resistente, definida como PA alta não controlada adequadamente por três agentes anti-hipertensivos de diferentes classes. A PA é determinada pelos seguintes três fatores principais: tônus da célula muscular lisa (CMLV), função cardíaca, excreção renal de  $\text{Na}^+$  e volume plasmático e total do corpo e



controle de resistências vasculares. Nos últimos anos, a disbiose do microbioma intestinal tem sido associada hipertensão, embora os mecanismos envolvidos no controle da PA pela microbiota não foram totalmente elucidado (Abreu, 2016). Os medicamentos anti-hipertensivo de urgências na gestação que são os vasodilatadores diretos também têm um papel no tratamento da hipertensão durante a gravidez, que é mediado por um mecanismo de reflexo barorreceptor localizado especificamente em arteríolas. Esse efeito vasodilatador gera um estímulo simpaticomimético que leva a um aumento na função cardíaca, contratilidade e níveis plasmáticos de renina. A hidralazina, um vasodilatador comumente usados e raramente usada como monoterapia e geralmente adicionado quando outros agentes falham no tratamento eficaz da hipertensão grave. Isto é também usado parenteralmente para episódios de hipertensão aguda. Os efeitos neonatais podem incluir uma associação com frequência cardíaca fetal anormal e escore em 1 minuto.

Segundo Cox et al, 2019 o único agente adequado para a prevenção e tratamento da eclâmpsia é o sulfato de magnésio ( $MgSO_4$ ) com uma prevalência de eclâmpsia de apenas 1 em cada 10.000 gravidezes em um ambiente de alta renda e com a maioria de convulsões eclâmpticas antes da admissão no hospital, em média, um clínico precisará tratar mais de 300 mulheres para prevenir um evento eclâmptico. Estes sugerem que o  $MgSO_4$  deve certamente não ser administrado universalmente, mas deve ser reservado para mulheres com hipertensão grave, dores de cabeça, distúrbio visual, dor no quadrante superior direito, contagem de plaquetas  $<100.000 / L$ , insuficiência renal progressiva e / ou elevada enzimas hepáticas. Pode ser administrado com segurança antenatal, intraparto ou pós-parto. Infelizmente, não há ferramentas sensíveis para prever mulheres com pré- eclâmpsia grave progredirão para eclâmpsia. O uso de  $MgSO_4$  profilaticamente certamente diminui pela metade o risco de eclâmpsia. Na verdade, a maioria dos ataques eclâmpticos é autolimitada e ocorrem isoladamente. Além disso, essas convulsões não tem consequências duradouras sobre a saúde perinatal ou materna bem-estar. De 2 anos até a presente data não há diferenças significativas na morte ou morbidade entre mulheres que receberam  $MgSO_4$  profilaticamente e aqueles que não. De 42 gestantes hipertensas, 09 fizeram o uso de sulfato de Magnésio em que a pressão inicial se encontrava acima de  $150 \times 90$ , com crescimento de bífido e lacto apenas de 01 gestante e o restante sem crescimento bacteriano.

Os fatores de risco que podem tornar o prognóstico materno e fetal desfavorável são as características individuais, condições sociodemográficas desfavoráveis, história reprodutiva, condições clínicas e obstétricas isoladas ou associadas a outras



complicações que repercutem na evolução da gestação, como hipertensão arterial, diabetes mellitus, obesidade, entre outras. A assistência pré-natal não pode prever as complicações do parto na maioria das mulheres, porém, a promoção da saúde e a identificação dos riscos poderão favorecer o prognóstico materno. A detecção de qualquer risco implica na necessidade de atenção especializada, com exame e/ou avaliação e seguimentos adicionais e, se necessário, referência da atenção básica para um serviço de nível mais complexo (Sampaio et al, 2018). A fim de detectar condições patológicas durante a gestação com este acompanhamento é possível o diagnóstico e tratamento de patologias capazes de perturbar o ciclo gravídico puerperal, como por exemplo, os distúrbios hipertensivos durante a gravidez. Uma no primeiro trimestre da gravidez, duas no segundo e três no terceiro. O ideal é que a primeira consulta aconteça no primeiro trimestre e até a trigésima quarta semana sejam realizadas consultas mensais. Entre a trigésima quarta e a trigésima oitavas semanas, o indicado seria uma consulta a cada duas semanas. E a partir da trigésima oitava semana, consultas em todas as semanas até o parto. Conforme o estudo de Sampaio, a infecção do trato urinário (ITU) foi a intercorrência clínica mais frequente em seu estudo atingindo a 39,9% de gestantes. Em acordo com o Ministério da Saúde, a ITU acomete 17 a 20% das gestantes. O seu quadro clínico pode variar de bacteriúria assintomática, ocorrendo em cerca de 2 a 10% das gestantes, até o quadro de pielonefrite. A ocorrência de ITU durante a gestação está relacionada à rotura de membranas ovulares, trabalho de parto prematuro, recém-nascidos com baixo peso, sepse materna e infecção neonatal. O diagnóstico precoce e a terapêutica adequada são importantes durante a assistência pré-natal para a prevenção de complicações associadas. A gestação normal está associada a ajustes fisiológicos e anatômicos que acarretam acentuadas mudanças no organismo materno, incluindo a composição dos elementos figurados e humorais do sangue circulante. O útero, por exemplo, sofre modificações de hipertrofia e dilatação, requerendo um aumento da vascularização pela necessidade de maior perfusão sanguínea, enquanto que na placenta, devido ao aumento progressivo, há um incremento correlato do fluxo sanguíneo útero-placentário com a evolução da gestação, o que demanda, também, um aumento do número de vasos sanguíneos (Souza et al, 2002).

Segundo Sparvoli, 2019 que fez estudos com a secreção vaginal não se foi observada variações nas concentrações de bactérias totais normais entre gestante e não gestante, foi observado uma predominância de Lactobacilos, confirmando a publicação Macintyre em 2015 na população europeia, provocando uma diminuição drástica do Ph vaginal proporcionando um ambiente hostil para outras bactérias. Em relação a

colonização da placenta por uma comunidade microbiana residente ainda está em discussão e controvérsias. Em relação a viabilidade celular é de se esperar o aumento das células vivas no grupo normotensa pois são gestante que não apresentam disfunção do endotélio vascular, vasoconstrição arteriolar, retração do volume plasmático e hemoconcentração. Esperamos assim a apoptose no grupo de hipertensas pois possuem parâmetros hemostáticos promissores sugeridos no diagnóstico da DHEG.

Sabe-se que o NO inibe ou aumenta a proliferação de células musculares lisas. Uma diminuição da produção de NO induz a síntese de fatores promotores do crescimento do endotélio aumentando dessa forma o tônus vascular. A ativação enzima conversora da angiotensina I pode aumentar a formação de angiotensina II, que por sua vez induz diretamente a proliferação do músculo liso vascular e a liberação do fator de crescimento derivado das plaquetas, o fator de crescimento  $\beta$  transformador e as endotelinas. Segundo Oliveira, 2019, durante a gestação, o NO contribui para a vasodilatação sistêmica materna, regula o fluxo sanguíneo uterino e feto-placentário e está envolvido na quiescência uterina prévia à parturição. Considerando a importância dos níveis de NO, já em alguns estudos, demonstraram na placenta humana, diminuição na produção do NO na pré eclampsias, e a concentração de nitrato no endotélio estava significativamente mais elevada nas pacientes com pré-eclâmpsia, comparadas às gestantes saudáveis e às mulheres não-grávidas. Falhas na liberação do NO foram observadas in vitro, em vasos em que a hipertensão foi espontânea ou induzida, em modelos animais, portanto ele por si só não é um preditores de achados em pré eclampsia. Esses resultados não sustentam a hipótese de que uma redução na produção endotelial do NO tenha importância na fisiopatologia da pré-eclâmpsia, ao contrário, os níveis de nitrato sérico aumentados podem refletir aumento na produção do NO ou redução da sua eliminação renal como resposta à doença.

Observar se que a produção de  $O_2$  e  $H_2O_2$  está mais aumentada nas HC devido o aporte do fluxo sanguíneo no endotélio ser em tempo maior e prolongado durante todo o período gestacional e antes mesmo de estar grávida. Segundo Rabelo, 2010, estudos realizados contribuíram para elucidar de que a elevação na produção de ROS tem a capacidade induzir a expressão da enzima nicotinamida adenina dinucleotídeo fosfato oxidase (NADPH oxidase), a principal produtora do ânion superóxido nos tecidos vasculares. Os radicais livres, por sua vez, atuam como ativadores da inflamação. O estresse oxidativo desencadeia o início do processo inflamatório por estimular a permeabilidade vascular, através do aumento na secreção de mediadores como as prostaglandinas e do VEGF. Os estágios seguintes, representados pela adesão, migração e

quimiotaxia das células inflamatórias na vasculatura, também são determinados. Amplificando o fenômeno com a invasão nas paredes por células inflamatórias, ricas em NADPH oxidase, intensificando o estresse oxidativo local. Ao final do processo, os mecanismos de reparo tissular também são afetados pelo estresse oxidativo. Tanto a Angiotensina II como a aldosterona estimulam a hiperplasia, hipertrofia e apoptose, bem como o desenvolvimento de fibrose vascular. A consequente proliferação celular e a deposição de proteínas de matriz, sobretudo colágeno e fibronectina, produzem o remodelamento vascular associado à rigidez.

## 6. CONCLUSÃO:

O microbioma intestinal assume um papel fundamental na vida de um ser humano, desde o seu nascimento até ao fim da vida. Isto por que está bem claro que existe uma relação mutua entre a microbiota intestinal e funcionamento dos diversos sistemas dos organismos. No entanto, ainda que estejamos vivendo um momento em que os estudos de microbiota têm ganhado importância cada vez maior, ainda há carência do entendimento do microbiota no início da vida do indivíduo. Este estudo de mestrado vem preencher esta lacuna. Esta situação no recém-nascido ainda tem o agravante de que a sua microbiota intestinal provavelmente é influenciada pelo estado de saúde da mãe, sendo a hipertensão na gestação um fator relevante.

Considerando que as doenças hipertensivas da gravidez muitas vezes podem estar relacionadas a alterações de resultados perinatais, o presente trabalho fornece dados inéditos da influência da hipertensão gestacional na microbioma intestinal do recém-nascido de grande relevância científica. Além disto os dados coletados serão utilizados para conscientizar futuras gestantes para os cuidados com a saúde na sua fase gestacional, em especial aquela acompanhada de hipertensão gestacional. Tornou-se gradualmente evidente que a exposição microbiana materna durante a gravidez pode ter implicações para a saúde infantil. Dados de estudos epidemiológicos indicam que a exposição materna, que presumivelmente resulta em maior contato microbiano materno durante a gravidez, protege a criança de desenvolver eczema, alergias, dentre outros mediada pelo sistema imunológico exposição microbiana materna modula a fisiologia imune fetal e aponta para um papel crítico para a função imune inata na unidade feto-placentária.

A nossa expectativa é de que o conhecimento de como o estado hipertensivo gestacional influencia microbiota intestinal do RN, poderá contribuir para adoção de se inserir nas políticas públicas existentes que venham minimizar os fatores que contribuem para as doenças hipertensivas gestacionais e seja disseminado esse estudo para a atenção primaria onde se realiza a atividade educativa da população. A amamentação não modula apenas a colonização bacteriana neonatal e a maturação imunológica, mas é uma fonte direta de bactérias maternas. Após o nascimento, o contato pele-a-pele e a amamentação garantem a transferência direta de bactérias maternas para o bebê, a fim de melhorar a maturação imunológica e metabólica saudável.

As cepas mais eficientes devem ser robustas o suficiente para sobreviver as duras condições físico-químicas do sistema gastrointestinal trato. Isso inclui o ácido gástrico (Corcoran et al, 2005), secreção biliar e competição com o bactérias residentes da microbiota intestinal (Fooks e Gibson, 2002). Como requisito de segurança, a origem das cepas, sua não-patogenicidade e ausência de resistência aos antibióticos transferíveis os genes também devem ser avaliados (Saarela et al, 2000). Apesar da crescente conscientização dos benefícios derivados de uma ingestão regular de bactérias probióticas, o conhecimento sobre esses mecanismos ainda é limitado (Gennaro et al, 2015).

É necessária a intensificação de programas de controle de HA e outros fatores de risco cardiovasculares, mesmo em todos os tipos de núcleos urbanos, visando à diminuição do aparecimento das doenças cardiovasculares e melhor qualidade de vida à população. Portanto, mulheres que desenvolvem hipertensão gestacional ou pré eclampsia devem ter seu perfil de risco cardiovascular avaliado depois de 6 meses do parto e iniciar com medidas preventivas eficazes com a maior precocidade possível

Para esse tipo de conclusão, estudos longitudinais fazem se necessários. Além disso, análises da microbiota intestinal ainda não são viáveis na prática clínica não sendo, portanto, uma forma prática e/ou barata para avaliarmos populações sob risco de fragilidade. Mas tal fato não tira a importância de avaliarmos as alterações de morbidades em sistemas biológicos. Trabalhos como o nosso são capazes de demonstrar as finas alterações associadas a condições crônicas de risco que ocorrem em indivíduos considerados saudáveis, mas com subclínico de evoluir para a fragilidade no futuro.

## 7. LIMITAÇÕES DE NOSSO ESTUDO:

Como meu estudo é de uma amostra de conveniência, a quantidade de participantes de cada grupo não foi proporcional devido não conseguir garantir a disponibilidade de gestantes no período realizado da pesquisa. Por ser uma participação voluntárias algumas gestantes/puérperas não quiseram realizar todos os procedimentos da coleta tais como: coleta de sangue, coleta de fluido e amostra das fezes do recém-nascido. O questionário aplicado mesmo assumindo validade e confiabilidade adequada pode se perder o sentido em erros na interpretação e até mesmo omissão de algumas informações.

Para se coletar as fezes dos recém-nascidos foi preciso conversar antes com as mães para guardar ou avisar quando o bebe fizesse a primeira evacuação, porém nem todas tinham essa preocupação onde muitas jogavam fora alegando esquecimento. Para se obter o resultado desejável, o trabalho é intenso e demorado podendo gerar até mais custos.

Algumas amostras de fluido vaginal eram acrescentadas com soro fisiológico devido à quantidade ser insuficiente perdendo assim a viabilidade do crescimento bacteriano e outras tiveram grande presença de sangue dificultando o resultado fidedigno, mas os resultados expostos foram satisfatórios.

Uma das programações seria fazer a coleta das fezes das mães, portanto não foi possível devido o tempo curto de permanência no ambiente hospitalar onde muitas das vezes essas gestantes não conseguiam deixar a amostra ficando assim difícil fazer a análise das fezes maternas.

## 8. SUGESTÕES PARA POLÍTICAS PÚBLICAS:

A microbiota intestinal, tem mostrado uma grande influência na saúde e doença do hospedeiro. Com o desenvolvimento da tecnologia e da biologia molecular é possível estudar aprofundadamente a composição da microbiota intestinal humana com estudos epidemiológicos que estabelecem uma correlação entre os fatores que perturbam a microbiota intestinal durante a infância com efeitos a curto e a longo prazo para a criança. Existem muitos fatores suscetíveis de modificar o padrão normal da colonização microbiana intestinal infantil, como o ambiente intrauterino, o tipo de parto, as exposições ambientais e o uso de antibióticos, em que uns modelam mais a microbiota do que outros. Tem uma importância na estabilização e manutenção completa até a vida adulta, o intuito principal é de sofrer menos interferência dos fatores internos e externos que desencadeiam alterações da microbiota e levam a determinadas patologias. Uma ideia que poderia ser adotada para algumas doenças, inclui a alimentação rica em prebióticos e probióticos, cepas selecionadas, principalmente pertencentes aos gêneros *Lactobacillus* e *Bifidobacterium* já aplicado nas mães em programação para gerar um filho e o uso de antibiótico de maneira correta e não de forma indiscriminada. As bactérias são vistas muitas vezes apenas como patogênicas, no entanto, por meio deste estudo. Nota-se que também são essenciais à vida e à saúde humana. Portanto, deve existir uma simbiose e/ou simetria entre o hospedeiro e as bactérias, uma espécie de mutualismo, a qual ambos se beneficiem em prol da saúde do hospedeiro.

Um acompanhamento nutricional desta gestante desde início da gestação poderia ser a resposta para decair a taxa de obesidade. Desenvolver novos estudos a fim de descobrir os eventos desencadeadores da obesidade e, também, soluções para esse problema objetiva avaliar a adaptação da microbiota intestinal para a perda de peso e o seu papel específico na restrição energética.

Um trabalho eficaz nos programas de estratégia da saúde da família com a comunidade com a conscientização da importância e benefícios mostrando questões relacionadas à nutrição, vias de partos e seus riscos é o momento de compartilhar preocupações, alertar e, quem sabe, ampliar o campo de ideias e de práticas para reorientar as pessoas. Mudanças comportamentais para promoção de vida saudável em ambiente francamente obesogênico são um grande desafio. Estratégias focadas

exclusivamente no indivíduo não são suficientes para prevenção e controle de doenças crônicas não transmissíveis. Ações conjuntas, envolvendo profissionais de diferentes áreas, da saúde, propaganda/marketing e educação, produtores de alimentos, órgãos governamentais, indústrias de alimentos, além de outras, poderão ser mais eficazes na elaboração de programas de estilo de vida saudável que resultem em qualidade de vida e longevidade.

Deste modo, cria-se a necessidade de desenvolver, num futuro próximo, estratégias que restaurem ou melhorem de forma eficaz a microbiota intestinal infantil, através da adição de espécies bacterianas que estão em deficiência no intestino ou de novas espécies, com o objetivo de tratamento ou de prevenção de muitas infecções entéricas, uma vez que as terapias atuais, como a antibioterapia, têm demonstrado efeitos colaterais, assim como de outras patologias. Em suma, não há dúvidas de que a prevenção é o melhor caminho no contexto de provável epidemia, cabendo aos profissionais que atendem a clientela materno infantil utilizarem ações de prevenção primária, secundária e terciária



## 9. REFERENCIAS

Abreu GSN. Perfil imunológico e composição da microbiota como biomarcadores do envelhecimento saudável. Tese. Instituto de ciências biológicas departamento de bioquímica e imunologia laboratório de imunobiologia. Universidade Federal de Minas Gerais, 2016.

Beserra BTS. Avaliação da microbiota intestinal e sua relação com parâmetros metabólicos em mulheres com obesidade mórbida. Dissertação (mestrado). Florianópolis: Universidade Federal de Santa Catarina, Centro de Ciências da Saúde, 2014

Caroff DA., Edelstein PH., Hamilton K., Pegues DA. CDC Prevention Epicenters Program. The Bristol stool scale and its relationship to *Clostridium difficile* infection. J Clin Microbiol. 2014 Set; 52(9):3437-9. doi: 10.1128/JCM.01303-14.

Campagnaro, Bianca Prandi. Efeito da hipertensão renovascular sobre as células-tronco da medula óssea de camundongos. Dissertação (mestrado): Universidade Federal do Espírito Santo, Centro de Ciências da Saúde, 2008.

Corcoran, B.M; Stanton, C; Fitzgerald, G.F; Ross, R.P. (2005). Survival of Probiotic Lactobacilli in Acid Environments is Enhanced in the Presence of Metabolizable Sugars. Applied and Environmental Microbiology, 71 (6): 3060- 3067.

Cox AG., Marshall SA., Palmer KR., Wallace EM. Current and emerging pharmacotherapy for emergency management of preeclampsia. expert opinion on pharmacotherapy, 1–12; 2019. doi:10.1080/14656566.2019.1570134. Disponível em: [sci-hub.tw/10.1080/14656566.2019.1570134](http://sci-hub.tw/10.1080/14656566.2019.1570134)

Dusse Luci Maria Sant'Ana, Vieira Lauro Mello, Carvalho Maria das Graças. Revisão sobre alterações hemostáticas na doença hipertensiva específica da gravidez (DHEG). J. Bras. Patol. Med. Lab. [Internet]. 2001[cited 2019 Oct 02] ; 37( 4 ): 267-272. Available from: [http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1676-24442001000400008&lng=en](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1676-24442001000400008&lng=en). <http://dx.doi.org/10.1590/S1676-24442001000400008>.

Fernandes TF. Impactos da microbiota intestinal na saúde do lactente e da criança em curto e longo prazo. Int J Nutrol. 2017 mar; 10(1); 335 – 342.

Ferraris L., Aires J., Waligora-Dupriet AJ., Butel MJ. New selective medium for selection of bifidobacteria from human feces. *Anaerobe*. 2010 Agost;16(4):469-71. doi:10.1016/j.anaerobe.2010.03.008

Ferreira JD., Gestação, consumo de álcool e fumo, exposições ocupacionais materna e paterna e o desenvolvimento de leucemias em menores de 2 anos. tese (doutorado). Rio de Janeiro: Escola nacional de saúde pública Sergio arouca, 2015.

Ferreira MBG., Silveira CF., Silva SR., Souza DJ., Ruiz MT. Nursing care for women with pre-eclampsia and/or eclampsia: integrative review. *Rev Esc Enferm USP*. 2016;50(2):320- 330. doi: <http://dx.doi.org/10.1590/S0080-623420160000200020>

Freire CMV., Tedoldi CL. Hipertensão arterial na gestação. Diretriz da Sociedade Brasileira de Cardiologia para Gravidez na Mulher Portadora de Cardiopatia. *Arq Bras Cardiol* 2009; 93(6 supl.1): 110-178. Disponível em: [http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0066-782X2009001300017](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0066-782X2009001300017)

Fooks, L., Gibson G. Probiotics as modulators of the gut flora. *British Journal of Nutrition* (2002), 88(S1), S39-S49. doi:10.1079/BJN2002628

Gennaro PD., Presti I., Orazio G., Labra M., Ferla B., Mezzasalma V., Bizzaro G., Iardina G., Michelotti A., Tursi F., Vassallo M. Evaluation of the probiotic properties of new lactobacillus and bifidobacterium strains and their in vitro effect. Berlin: Springer-verlag Heidelberg, 2015

Gonçalves MAP. Microbiota – implicações na imunidade e no metabolismo [dissertação de mestrado]. Porto: Universidade Fernando Pessoa, 2014. Disponível em: [https://bdigital.ufp.pt/bitstream/10284/4516/1/PPG\\_21951.pdf](https://bdigital.ufp.pt/bitstream/10284/4516/1/PPG_21951.pdf)

Guimarães MBF., Silveira CF., Silva SR., Souza DJ., Ruiz MT. Assistência de enfermagem a mulheres com pré-eclâmpsia e/ou eclâmpsia: Revisão integrativa. *Rev Esc Enferm. USP* 2016 Abr; 50(2): 324-334.

Gurleen K., Savio R. Prevalence of Candida in diarrhoeal stools. *IOSR Journal of dental and medical sciences*. 2016 Jun; 15 (4), 47-49.

Hospital Jayme dos Santos Neves. acesso no dia 13/11/2017. Disponível em: <http://www.evangelicovv.com.br/aebes-unidades/hospital-estadual-dr-jayme-s-neves>.

Il'in VK., Lentsner AA., Smirnov SK. Analysis of the species and quantitative composition of lactobacilli obtained from humans in a 300-day experiment with isolation. *Aviakosm ekolog med.* 2010 may-jun;44(3):38-41.

Isabel I., Carvalho RA., Rubens TD., Duarte B., Katia G., Brandt C., Marina B., Martinez A., Carla R., Taddei AD. Breastfeeding increases microbial community resilience. Universidade de São Paulo (usp). Escola de artes, ciências e humanidades. *J Pediatr. Rio de Janeiro.* 2018;94(3):258---267

Leavitt K., Običan S., Yankowitz J. Treatment and prevention of hypertensive disorders during pregnancy. *clinics in perinatology*, 2019. doi:10.1016/j.clp.2019.02.002

Maraslis FT. Avaliação da instabilidade genômica e estresse oxidativo em gestações que apresentam malformações fetais. Dissertação; Florianópolis .Programa de Pós-Graduação em Farmácia. Universidade Federal de Santa Catarina. 2018.

Martinez NF., Filgueira GC., Machado JS., Santos JE., Sandrim VC., Duarte G., Cavalli RC. Clinical and laboratory characteristics of pregnant women with preeclampsia versus gestational hypertension. *Rev bras ginecol obstet.* 2014 oct;36(10):461-6.

Martins ARS. O microbioma intestinal e as suas implicações na obesidade [dissertação de mestrado]. Lisboa: Instituto superior de ciências da saúde. Egas Moniz. 2015

Maternidade Municipal de Cariacica. acesso no dia 13/11/2017. Disponível em: <http://www.evangelicovv.com.br/aebes-unidades/maternidade-municipal-de-cariacica>.

Matsumoto, et al., Characterization of the vaginal microbiota of japanese women *anaerobe* (2018), doi: 10.1016/j.anaerobe.2018.10.001

Mello RM., Morais MB., Tahan S., Melli LC., Rodrigues MS., Mello CS., Scaletsky IC. Lactobacilli and bifidobacteria in the feces of schoolchildren of two diferente socioeconomic groups: children from a favela and children from a private school. *J pediatr (rio j).* 2009 jul-aug;85(4):307-14. doi: doi:10.2223/jped.

Melo WF., Oliveira BA., Maracaja PB., Sousa JS., Saldanha HGAC. Hypertension and pregnancy pre-eclampsia risk: literature review. *Revista brasileira de educação e saúde.* 2015 jul-set; 5(3), 07-11

Mimica MJ. Human microbiome: definition, characteristics and potential pathological and therapeutic implications. *Arq med hosp fac cienc med santa casa*. São Paulo 2017;62(1):42-5.

Moreira MEL., Lopes JMA., Caralho M. O recém-nascido de alto risco: teoria e prática do cuidar [online]. Rio de Janeiro: editora fiocruz, 2004. 564 p. isbn 85-7541-054-7.

Moura MDR., Castro MP., Margotto PR., Rugolo IMSS. Hypertension in pregnancy importance of maternal follow up for neonatal outcome. *Com. Ciências saúde* - 22 sup 1:s113-s120, 2011

Nakage, Ana Paula Massae, Santana, Aureo Evangelista, Cápua, Maria Luisa Buffo de, Coelho, Patrícia Sampaio. Metodologia e aplicação da citometria de fluxo na hematologia veterinária. *Ciência Rural*, 2005; 35(4), 966-973. Disponível em: <https://dx.doi.org/10.1590/S0103-84782005000400040>

Oliveira Leandro Gustavo de, Karumanchi Ananth, Sass Nelson. Pré-eclâmpsia: estresse oxidativo, inflamação e disfunção endotelial. *Rev. Bras. Ginecol. Obstet.* [Internet]. 2010 Dec [cited 2019 Oct 01]; 32(12): 609-616. Available from: [http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0100-72032010001200008&lng=en](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0100-72032010001200008&lng=en). <http://dx.doi.org/10.1590/S0100-72032010001200008>.

Oliveira PF. Alterações cardiovasculares decorrentes da gestação com ênfase na atuação fisioterapêutica durante a gestação e pós-parto. Trabalho de conclusão de curso. Vitória: Faculdade católica salesiana do Espírito Santo, 2013. Disponível em: <http://www.ucv.edu.br/fotos/files/alteracoes%20cardiovasculares%20decorrentes%20da%20gestacao.pdf>

Okada BTT., Silva JF., Souza G. Efeitos terapêuticos dos probióticos para o controle de doenças do trato gastrointestinal. [monografia] revisão da literatura. São Paulo: Faculdade de Pindamonhangaba; 2015

Osuka a., Shimizu K., Ogura H., Tasaki O., Hamasaki T, Asahara T., Nomoto K., Morotomi M., Kuwagata Y., Shimazu T. Prognostic impact of fecal ph in critically ill patients *crit care*. 2012 jul 10;16(4):r119. doi: 10.1186/cc11413.

Paixão LA., Castro FS. Colonization of the intestinal microbiota and its influence on health host. *Universitas: ciências da saúde*, Brasília, 2016 jan-jun; 14(1), 85-86.

Queiroz 2018. pré-eclâmpsia nos seus diversos aspectos. São Paulo: Federação brasileira das associações de ginecologia e obstetrícia (Febrasgo), 2017.

Rabêlo Luiza A., Souza Valéria Nunes de, Fonseca Lucas José Sá da, Sampaio Walkyria O.. Desbalanço redox: NADPH oxidase como um alvo terapêutico no manejo cardiovascular. *Arq. Bras. Cardiol.* [Internet]. 2010 May [cited 2019 Oct 03] ; 94( 5 ): 684-693. Available from: [http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0066-782X2010000500018&lng=en](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0066-782X2010000500018&lng=en). <http://dx.doi.org/10.1590/S0066-782X2010000500018>.

Saarela G., Mogensen G.,Fondén R.,Mättö J., Mattila-Sandholm T. Probiotic bacteria: safety, functional and technological properties.*J Biotechnol.*2000 Dec 28;84(3): 197–215.

Sampaio AFS., Rocha MJF., Leal, EAS. Gestação de alto risco: perfil clínico-epidemiológico das gestantes atendidas no serviço de pré-natal da maternidade pública de rio branco, Acre: *Rev. bras. saúde mater. infant.* [internet]. 2018 set [citado 2019 jul 17]; 18(3): 559-566. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1590/1806-93042018000300007>.

Santos TT., Varavallo MA. A importância de probióticos para o controle e/ou reestruturação da microbiota intestinal. *Revista científica do itpac*, 2011 jan; 4(1).

Schmidt L., Soder TF., Geon RG., Benetti F. Obesity and its relation with intestinal microbiota. *Ries, caçador*, v.6, nº 2, p. 29-43, 2017. issn 2238-832x

Souza AI., Malaquias BF., Ferreira LOC. Alterações hematológicas e gravidez. *Rev. bras. hematol. hemoter.* [internet]. 2002 mar [citado 2019 Jul 25]; 24(1): 29-36.

Sparvioli LG. Caracterização da microbiota vaginal, intestinal e oral durante o período gestacional. Dissertação; São Paulo. Departamento de Análises clínicas e toxicológicas. Universidade de São Paulo, 2019.

Thirupathaiyah et al., Vaginal lactobacilli profile in pregnant women with normal & abnormal vaginal flora. Department of microbiology & immunology, icmr-national institute of nutrition, hydera- bad, India. *Indian J med res* 146, october 2017, pp 534-540 doi: 10.4103/ijmr.ijmr\_774\_16

Vazquez-gutierrez P., Lacroix C., Jaeggi T., Zeder C., Zimmerman MB., Chassard C., Bifidobacteria strains isolated from stools of iron deficient infants can efficiently sequester iron. *BMC microbiol.* 2015 jan 16; 15:3. doi: 10.1186/s12866-014-0334-z

Yang I., Corwin EJ., Brennan PA., Jordan S., Murphy JR., Dunlop A. The infant microbiome: implications for infant health and neurocognitive development. *Nurs res.* 2016 jan- feb;65(1):76-88. doi: 10.1097/nnr.0000000000000133

## 10. ANEXOS:

### 10.1– QUESTIONÁRIO SOCIOECONOMICOCIENTIFICO:

Nome:

Idade:

Etnia:

Gênero:

Escolaridade:

Renda familiar:

Quantos filhos:

Via de parto nas gestações anteriores: aborto:

Problemas de saúde familiar (quem):

História de doença cardiovascular na família:

Ingere bebida alcoólica (frequência):

Fuma (quantidade):

Pratica atividade física (frequência):

Dieta alimentar:

Peso:

altura:

IMC:

PA inicial (entrada):

PA final (pós parto):

Medicamentos utilizados durante a gestação:  
medicamentos utilizados no parto:

Tempo de uso de antihipertensivos na gestação:

Alterações de exames laboratoriais:

Idade gestacional do parto atual:

Via de parto atual:

Intercorrências no parto:

Intercorrências no recém nascido:

Peso do RN:      Altura RN:      Via alimentar:

## 10.2 TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Sou FERNANDA A.C. Silva, enfermeira no hospital HEJSN, aluna do mestrado na UVV em Ciências Farmacêuticas, sob orientação do professor Elisardo C. Vasquez. Minha pesquisa tem como título: Influências dos estados hipertensivos maternos sobre a microbiota intestinal do recém-nascido, a qual está sendo feita em dois hospitais públicos, sendo um deles este você está internada.

Para tanto, preciso que me responda algumas perguntas e outras eu as obtenho do seu prontuário hospitalar. Também precisamos analisar as primeiras fezes do seu bebe coletar uma quantidade de seu sangue e fluido vaginal. Estas informações não irão adicionar riscos a sua saúde ou do seu bebe. Esta pesquisa poderá auxiliar na adoção/aconselhamento de procedimentos que visem cuidados com o seu bebe após alta hospitalar bem como ajudar a saúde pública e a secretaria de saúde tomar medidas para um melhor estado de saúde das mães gestantes e seus RN. Embora os dados que você nos fornece e da coleta do bebê sejam importantes e serão utilizados na pesquisa, sua identificação pessoal e de seu bebe serão mantidas em sigilo.

Declaro, por meio deste termo, que li/me lido e entendi do que trata a presente pesquisa, seus riscos e benefícios e também que posso desistir a qualquer momento desta pesquisa sem qualquer prejuízo no meu atendimento. Fui esclarecida que os usos das informações por mim oferecidas estão amparadas por normas éticas destinadas à pesquisa envolvendo seres humanos do Ministério da Saúde. Por isto, aceito participar por minha própria vontade, sem receber qualquer incentivo financeiro e com a finalidade exclusiva de colaborar para o sucesso da pesquisa. Fui esclarecida que o acesso e a análise dos dados coletados se farão apenas pelo(a) pesquisador(a) e/ou seu(s) orientador(es) / coordenador (es). Atesto recebimento de uma cópia assinada deste Termo de Consentimento Livre e Esclarecido, conforme recomendações da Comissão Nacional de Ética em Pesquisa (CONEP). Segue abaixo locais onde você pode perguntar ou comentar sobre esta pesquisa: Fernanda Aldrigues Crispim Silva (aluna de mestrado) - telefone: 999632938 Elisardo Corral Vasquez (orientador) – telefone: 999797199. CEP – UVV – telefone:

VITORIA, \_\_\_\_\_ de \_\_\_\_\_ de \_\_\_\_\_

Nome paciente: \_\_\_\_\_ Documento/prontuário: \_\_\_\_\_

Assinatura do(a) participante: \_\_\_\_\_

Assinatura do(a) pesquisador(a): \_\_\_\_\_



### 10.3 INFORMAÇÃO SOBRE OS HOSPITAIS:

O Hospital Jaime dos Santos Neves (HEJSN) é uma unidade de saúde moderna, o hospital é administrado pela AEBES (Associação Evangélica Beneficente Espírito-Santense) instituidora do Hospital Evangélico de Vila Velha desde 2012. Único hospital estadual do Espírito Santo a obter a certificação de excelência ONA nível 3 e ISO 9001:2008, além de possuir porta aberta de Urgência e Emergência, ser referência em maternidade de alto risco e Centro de Tratamento de Queimados, com atendimento 24 horas e serviço ambulatorial diário. A maternidade do Hospital Estadual Dr. Jayme Santos Neves, na Serra, tem 4 anos de funcionamento com grandes conquistas, ao todo, mais de nove mil mulheres foram atendidas e 2.422 crianças nasceram no local desde a inauguração até o momento. O espaço conta com 60 leitos e suporte de 40 acomodações de UTI Neonatal, com ambiente moderno e acolhimento humanizado. Somados ao ambiente e ao atendimento estão projetos e outras ações como acolhimento materno com classificação de risco, teste do coraçãozinho, olhinho e orelhinha, Projeto Canguru, Projeto Cegonha, Cartório de Registro e reunião com as mães. A instituição trabalha ainda para receber o certificado da Organização Mundial da Saúde de Hospital Amigo da Criança, uma iniciativa da Unicef que reconhece estabelecimentos de saúde que promovem, protegem e apoiam o aleitamento materno. Outro detalhe: a mãe e o bebê contam com triagem auditiva, banco de leite, follow up da puérpera, curso de gestante em parceria com as Unidades Básicas e presença do acompanhante durante o pré-parto, parto e pós-parto.

Maternidade de Risco Habitual: A Maternidade Municipal de Cariacica (MMC) é de risco habitual, com acolhimento de urgência e emergência obstétrica e referência municipal de pré-natal de alto risco. 100% dos serviços prestados são ao SUS. Apresenta convênio tripartite celebrado entre o Governo do Estado, a Prefeitura e o Hospital Evangélico.

## 10.4 PARECER DO COMITE DE ETICA:



UNIVERSIDADE VILA VELHA -  
ES/UVV



### PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

#### DADOS DA EMENDA

**Título da Pesquisa:** Avaliação microbiológica do microbioma intestinal de recém-nascidos de mães internadas por estados hipertensivos.

**Pesquisador:** Elisardo Corral Vasquez

**Área Temática:**

**Versão:** 3

**CAAE:** 84915818.9.0000.5064

**Instituição Proponente:** SOC EDUC DO ESP SANTO UNIDADE DE VILA VELHA ENSINO SUPERIOR

**Fornecedor Principal:** Financiamento Próprio

#### DADOS DO PARECER

**Número do Parecer:** 3.174.020

#### Resumo do Projeto:

O projeto de pesquisa intitulado "Avaliação microbiológica do microbioma intestinal de recém-nascidos de mães internadas por estados hipertensivos" propõe a realização de um estudo comparativo utilizando grupos de gestantes hipertensas e normotensas em trabalho de parto (internadas em dois hospitais públicos e referência), a partir da coleta de dados das participantes e avaliação fecal nos bebês.

#### Objetivo da Pesquisa:

Comparar os dados coletados de mães internadas por estados hipertensivos e posteriormente associar esses dados com aqueles obtidos na análise microbiológica das fezes do recém nascidos. Traçar o perfil de mães gestantes hipertensas, em comparação com as normotensas. Avaliar as características antropométricas, alimentares, idade ao nascer e via de parto dos bebês, bem como avaliar as diferenças na composição microbiana intestinal inicial do RN em relação aos níveis de pressão arterial gestacional da mãe.

#### Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Riscos e benefícios presentes. Considera risco de constrangimento das gestantes

#### Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

Pesquisa relevante. O autor acatou as demandas dos avaliadores

Endereço: Avenida Comissário José Dantas de Melo, 21  
Bairro: BOA VISTA II CEP: 29.102-920  
UF: ES Município: VILA VELHA  
Telefone: (27)3421-2063 Fax: (27)3421-2063 E-mail: CEP@uvv.br



UNIVERSIDADE VILA VELHA -  
ES/UVV



Continuação do Parecer: 3.174.020

**Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:**

Sem considerações

**Recomendações:**

Sem recomendações

**Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:**

Sem pendências

**Considerações Finais a critério do CEP:**

O Colegiado acata o parecer do relator.

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_1221316_E1.pdf	19/02/2019 17:42:36		Aceito
Cronograma	Doc2.docx	19/02/2019 17:24:56	Elisardo Corral Vasquez	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	Projeto.odt	15/09/2018 01:08:24	Fernanda Aldrigues Crispim Silva	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	Modelo_de_TCLE.doc	15/09/2018 00:58:14	Fernanda Aldrigues Crispim Silva	Aceito
Folha de Rosto	folhaderosto.pdf	09/03/2018 11:40:43	Elisardo Corral Vasquez	Aceito
Outros	Termodeanuencia.pdf	09/03/2018 11:38:23	Elisardo Corral Vasquez	Aceito
Outros	Termo.jpg	09/03/2018 11:37:37	Elisardo Corral Vasquez	Aceito

**Situação do Parecer:**


Aprovado

**Necessita Apreciação da CONEP:**

Não

Endereço: Avenida Comissário José Dantas de Melo, 21  
Bairro: BOA VISTA II CEP: 29.102-920  
UF: ES Município: VILA VELHA  
Telefone: (27)3421-2063 Fax: (27)3421-2063 E-mail: CEP@uvv.br

## 10.5 AUTORIZAÇÃO DA SECRETARIA DE SAUDE:


**UNIVERSIDADE VILA VELHA**  
UNIVERSIDADE VILA VELHA

**TERMO DE ANUÊNCIA PRÉVIA PARA A REALIZAÇÃO DE PESQUISA NO ÂMBITO DA SECRETARIA DE ESTADO DA SAÚDE DO ESPÍRITO SANTO**

**À SECRETARIA DE ESTADO DA SAÚDE DO ESPÍRITO SANTO**


Encaminhamos em anexo o Protocolo de Pesquisa intitulada "Avaliação microbiológica do microbioma intestinal de recém nascidos de mães internadas por estados hipertensivos", que tem por objetivo: "Avaliar a microbiota intestinal de recém nascidos de mães internadas por estados hipertensivos".

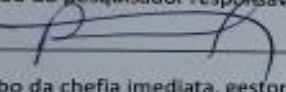
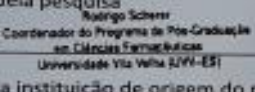
Para a realização da Pesquisa, vimos solicitar de V.S. autorização para acesso às dependências do Hospital Estadual Jaime dos Santos Neves e obtenção dos dados necessários ao trabalho proposto.

Encaminhamos ainda, em anexo, o Requerimento de Pesquisa, os Termos de Confidencialidade e de Responsabilidade relativos às informações a serem obtidas, além de nos comprometermos em fornecer uma cópia do trabalho concluído, em mídia eletrônica.

Na expectativa de sua análise e manifestação, nos colocamos à disposição para outros esclarecimentos pertinentes ao nosso pedido.

Respeitosamente,

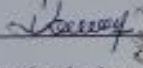
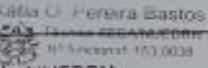
Assinatura  Data 18/12/17

Nome e carimbo do pesquisador responsável pela pesquisa  
 Assinatura   Data 13/12/17  
Rodrigo Scherer  
 Coordenador do Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacéuticas  
 Universidade Vila Velha (UVV-ES)

Nome e carimbo da chefia imediata, gestora da instituição de origem do pesquisador

**ESPAÇO RESERVADO À COMISSÃO PARA ANÁLISE DE PESQUISA NO ÂMBITO DA SESA - NÚCLEO ESPECIAL DE DESENVOLVIMENTO DE RECURSOS HUMANOS (NUEDRH), APÓS RECEBIMENTO DA DOCUMENTAÇÃO.**

A Unidade Campo de Pesquisa para análise e manifestação no processo 80557635.

Assinatura   Data 19/12/2017  
Natália O. Ferreira Bastos  
 Coordenadora do Núcleo Especial de Desenvolvimento de Recursos Humanos  
 SESA/NUEDRH  
 Rua Senechal, 153, 0033

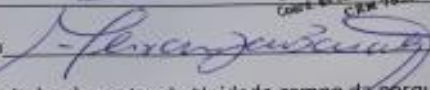
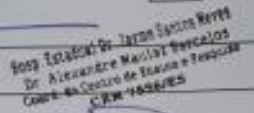
Nome e carimbo do técnico do NUEDRH

**ESPAÇO RESERVADO AO PARECER DO GESTOR DA UNIDADE CAMPO DA PESQUISA**

Após recebimento e análise da documentação referida acima, segue o nosso Parecer:

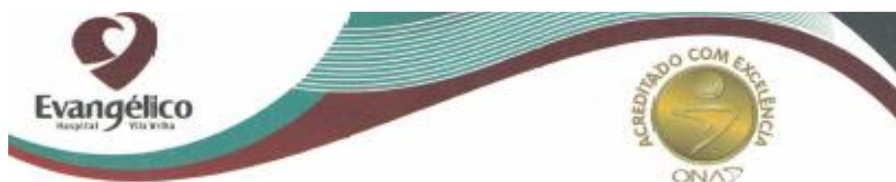
AUTORIZADO  NÃO AUTORIZADO

Considerações: \_\_\_\_\_

Assinatura  Data 20/12/2017  
  
Hosp. Estadual Dr. Jaime Santos Neves  
 Dr. Alexandre Maslari Bicalhos  
 Coordenador do Centro de Estudos e Pesquisa  
 CEM-UNESUS

Nome e carimbo do gestor da Unidade campo da pesquisa na SESA

## 10.6 AUTORIZAÇÃO DA MATERNIDADE MUNICIPAL DE CARIACICA:



### TERMO DE ANUÊNCIA

A **Maternidade Municipal de Cariacica – MMC** por meio do **Centro de Ensino e Aperfeiçoamento em Pesquisa – CEAP** do **Hospital Evangélico de Vila Velha-HEVV** está de acordo com a execução do projeto **"AVALIAÇÃO MICROBIOLÓGICA DO MICROBIOMA INTESTINAL DE RECÉM-NASCIDOS DE MÃES INTERNADAS POR ESTADOS HIPERTENSIVOS"**, da pesquisadora **Fernanda Aldrigues Crispim Silva**, aluna do mestrado na **Universidade de Vila Velha** em Ciências Farmacêuticas, sendo um estudo sob orientação do professor **Elisardo C. Vasquezonde** onde assumem o compromisso de apoiar o desenvolvimento da referida pesquisa nesta instituição durante a realização da mesma. Declaramos conhecer e cumprir as Resoluções Éticas Brasileiras, em especial a Resolução 466/2012 do CNS. Esta instituição está ciente de suas corresponsabilidades como instituição coparticipante do presente projeto de pesquisa, e de seu compromisso no resguardo da segurança e bem estar dos sujeitos de pesquisa nela recrutados, dispondo de infraestrutura necessária para a garantia de tal segurança e bem-estar.

Vila Velha, 23 de fevereiro de 2018.

  
Dr. Alexandre Maulaz Barcelos  
Coordenação CEAP