



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
UNIVERSIDADE FEDERAL DE GOIÁS
PROGRAMA DE PÓS GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS APLICADAS À SAÚDE

**INFLUÊNCIA DO TECIDO PERIVASCULAR NA REGULAÇÃO DA
REATIVIDADE DE VEIAS DE CORDÃO UMBILICAL DE GESTANTES EM
DIFERENTES ESTADOS NUTRICIONAIS**

MIRELE RESENDE MACHADO

JATAÍ – GO

2019

**TERMO DE CIÊNCIA E DE AUTORIZAÇÃO PARA DISPONIBILIZAR
VERSÕES ELETRÔNICAS DE TESES E DISSERTAÇÕES
NA BIBLIOTECA DIGITAL DA UFG**

Na qualidade de titular dos direitos de autor, autorizo a Universidade Federal de Goiás (UFG) a disponibilizar, gratuitamente, por meio da Biblioteca Digital de Teses e Dissertações (BDTD/UFG), regulamentada pela Resolução CEPEC nº 832/2007, sem ressarcimento dos direitos autorais, de acordo com a Lei nº 9610/98, o documento conforme permissões assinaladas abaixo, para fins de leitura, impressão e/ou *download*, a título de divulgação da produção científica brasileira, a partir desta data.

1. Identificação do material bibliográfico: ☒ **Dissertação** ☐ **Tese**

2. Identificação da Tese ou Dissertação:

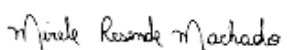
Nome completo do autor: Mirele Resende Machado

Título do trabalho: Influência do tecido perivascular na regulação da reatividade de veias de cordão umbilical de gestantes em diferentes estados nutricionais

3. Informações de acesso ao documento:

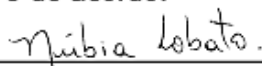
Concorda com a liberação total do documento ☒ **SIM** ☐ **NÃO**¹

Havendo concordância com a disponibilização eletrônica, torna-se imprescindível o envio do(s) arquivo(s) em formato digital PDF da tese ou dissertação.



Assinatura do(a) autor(a)²

Ciente e de acordo:



Assinatura do(a) orientador(a)²

Data: 10 / 02 / 2020.

¹ Neste caso o documento será embargado por até um ano a partir da data de defesa. A extensão deste prazo suscita justificativa junto à coordenação do curso. Os dados do documento não serão disponibilizados durante o período de embargo.

Casos de embargo:

- Solicitação de registro de patente;
- Submissão de artigo em revista científica;
- Publicação como capítulo de livro;
- Publicação da dissertação/tese em livro.

² A assinatura deve ser escaneada.

MIRELE RESENDE MACHADO

**INFLUÊNCIA DO TECIDO PERIVASCULAR NA REGULAÇÃO DA
REATIVIDADE DE VEIAS DE CORDÃO UMBILICAL DE GESTANTES EM
DIFERENTES ESTADOS NUTRICIONAIS**

*Dissertação de Mestrado apresentada ao
Programa de Pós-Graduação em Ciências
Aplicadas à Saúde da Universidade Federal de
Goiás – Regional Jataí para obtenção do título de
Mestre em Ciências Aplicadas à Saúde.*

Orientadora:

Prof.^a Dr.^a Núbia de Souza Lobato

JATAÍ – GO

2019

Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor, através do Programa de Geração Automática do Sistema de Bibliotecas da UFG.

Resende Machado, Mirele

INFLUÊNCIA DO TECIDO PERIVASCULAR NA REGULAÇÃO DA REATIVIDADE DE VEIAS DE CORDÃO UMBILICAL DE GESTANTES EM DIFERENTES ESTADOS NUTRICIONAIS [manuscrito] / Mirele Resende Machado. - 2020.

LXXI, 71 f.: il.

Orientador: Profa. Dra. Núbia de Souza Lobato .

Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal de Goiás, Unidade Acadêmica Especial de Ciências da Saúde, Programa de Pós Graduação em Ciências Aplicadas à Saúde, Jataí, 2020.

Bibliografia. Anexos.

Inclui siglas, lista de figuras, lista de tabelas.

1. Tecido perivascular. 2. Reatividade Vascular. 3. Obesidade gestacional. I. , Núbia de Souza Lobato, orient. II. Título.



UNIVERSIDADE FEDERAL DE GOIÁS

COORDENAÇÃO DE PÓS-GRADUAÇÃO - REGIONAL JATAÍ

ATA DE DEFESA DE DISSERTAÇÃO

Ata nº 07 da sessão de Defesa de Dissertação de MIRELE RESENDE MACHADO, que confere o título de Mestra em CIÊNCIAS APLICADAS À SAÚDE.

No dia dez de janeiro de dois mil e vinte, a partir das 08h00, no prédio da pós-graduação da Universidade Federal de Jataí, realizou-se a sessão pública de Defesa de Dissertação intitulada "INFLUÊNCIA DO TECIDO PERIVASCULAR NA REGULAÇÃO DA REATIVIDADE DE VEIAS DE CORDÃO UMBILICAL DE GESTANTES EM DIFERENTES ESTADOS NUTRICIONAIS". Os trabalhos foram instalados pela Orientadora, Professora Doutora NUBIA DE SOUZA LOBATO (UFJ) com a participação dos demais membros da Banca Examinadora: Professora Doutora CARLA SILVA SIQUEIRA MIRANDA (UFJ), membro titular externo; Professor Doutor RAFAEL MENEZES DA COSTA (UFJ), membro titular interno. Durante a arguição os membros da banca não fizeram sugestão de alteração do título do trabalho. A Banca Examinadora reuniu-se em sessão secreta a fim de concluir o julgamento da Dissertação, tendo sendo a candidata aprovada pelos seus membros. Proclamados os resultados pela Professora Doutora NUBIA DE SOUZA LOBATO, Presidente da Banca Examinadora, foram encerrados os trabalhos e, para constar, lavrou-se a presente ata que é assinada pelos Membros da Banca Examinadora, dia dez de janeiro de dois mil e vinte.

TÍTULO SUGERIDO PELA BANCA



Documento assinado eletronicamente por **Núbia De Souza Lobato, Coordenadora de Pós-Graduação**, em 10/01/2020, às 11:20, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



Documento assinado eletronicamente por **Carla Silva Siqueira Miranda, Professor do Magistério Superior**, em 10/01/2020, às 11:21, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



Documento assinado eletronicamente por **Rafael Menezes Da Costa, Professor do Magistério Superior**, em 10/01/2020, às 11:22, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



A autenticidade deste documento pode ser conferida no site https://sei.ufg.br/sei/controlador_externo.php?acao=documento_conferir&id_orgao_acesso_externo=0, informando o código verificador **1089496** e o código CRC **51657A4A**.

Dedicatória

**À Deus, pois sem ele nada seria possível.
À minha família pelo esforço e compreensão
dispensados à minha formação.
E a todos que estiveram comigo nesta jornada.**

Agradecimentos

À deus por tudo que me permite alcançar a cada dia.

Aos meus pais Jairo e Jucélia e aos meus irmãos Rainer e Michele pelo apoio, incentivo e pela compreensão por tantas ausências. À vocês toda minha gratidão pela educação que me foi proporcionada!

À Prof^a. Dr^a. Núbia de Souza Lobato pela orientação no desenvolvimento deste projeto, pelos ensinamentos, incentivo e pelas oportunidades que você me proporcionou. À você todo meu respeito e admiração!

À Carolina Servian, pela paciência, ensinamentos, dedicação e por tornar os dias de experimentos mais leves!

Ao professor Dr. Rafael Menezes da Costa pelo acolhimento em Ribeirão Preto, pelos conhecimentos compartilhados e por toda ajuda que vem sendo prestada!

À Jamily, pelos ótimos momentos juntas, por sempre estar disposta a me ouvir e por todo o apoio prestado durante o mestrado.

À Prof^a. Dr^a. Rita Tostes e equipe, por me receberem e disponibilizar seu laboratório de Farmacologia Vascular e Biologia Molecular, na Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, para realização de parte dos meus experimentos.

A Ginecologista/obstetra Simone Morale pela parceria instalada para a coleta do material. Ao Hospital das Clínicas Serafim de Carvalho pela parceria realizada para obtenção das amostras, aos técnicos de enfermagem e enfermeiros pela colaboração. E a todas as gestantes que aceitaram doar o cordão umbilical para desenvolvimento desta pesquisa.

À Universidade Federal de Goiás, Regional Jataí, pelos ensinamentos proporcionados desde a graduação, e ao Programa de Pós-Graduação em Ciências à Saúde pela oportunidade de realizar este trabalho.

Ao apoio financeiro da Fapeg e da Capes.

E a todos que de alguma forma contribuíram para a realização desta pesquisa.

*Nós não podemos esperar a construção de
um mundo melhor sem antes melhorar os
indivíduos.*

Marie Curie.

Resumo

Apesar do tecido perivascular já ter sido estruturalmente caracterizado, não há nenhum estudo na literatura avaliando sua influência sobre a resposta funcional tanto das veias do cordão umbilical, bem como seu papel no comprometimento da função deste território vascular na obesidade. A maioria das complicações clínicas associadas à obesidade podem ser atribuídas a alterações na função vascular. Estudos preliminares realizados em nosso grupo de pesquisa evidenciaram a presença de adipócitos no tecido perivascular das veias do cordão umbilical, bem como a influência do sobrepeso/obesidade em gestantes sobre as características estruturais deste tecido, podendo constituir assim um mecanismo importante envolvido na programação de complicações na fase adulta. O objetivo do estudo foi investigar o papel do tecido perivascular na reatividade de veias do cordão umbilical, bem como a influência do sobrepeso/obesidade (SB/OB) no início da gestação e do ganho de peso excessivo (GPE) durante o período gestacional sobre as propriedades funcionais deste tecido. Foram utilizados 40 cordões umbilicais para os estudos de reatividade vascular e testes moleculares. Na análise das curvas de relaxamento à insulina, em veias umbilicais limpas houve um aumento significativo da resposta vasodilatadora em gestantes SB/OB e GPE ($p < 0,05$), na presença de tecido perivascular esse aumento na taxa de relaxamento permaneceu apenas em gestantes SB/OB. Em gestantes controle, os vasos que foram incubados com solução perivascular apresentaram resposta maior do que vasos limpos e com tecido perivascular preservado. Gestantes com SB/OB apresentaram aumento do relaxamento nos vasos com o perivascular preservado quando comparados aos vasos limpos e aos vasos incubados com solução perivascular. Em gestantes com GPE, o relaxamento de vasos limpos incubados com solução perivascular foi maior do que em vasos limpos e vasos com o tecido perivascular preservado. O relaxamento promovido por NPS em veias umbilicais limpas foi significativamente menor em gestantes SB/OB e GPE, quando comparados ao grupo controle. Esta redução também foi observada em veias umbilicais com o tecido perivascular preservado, na concentração 3×10^{-8} M. Em gestantes controle, veias com tecido perivascular preservado e veias limpas incubadas com solução perivascular apresentaram redução significativa na resposta relaxante ao NPS quando comparadas aos vasos onde este tecido estava ausente. Gestantes SB/OB apresentaram resposta relaxante semelhante entre os vasos, exceto na concentração 3×10^{-7} M, onde houve diminuição significativa em veias com tecido perivascular preservado. As análises da expressão proteica de eNOS no tecido perivascular, pelo método de Western Blotting, evidenciaram diminuição da sua expressão em gestantes SB/OB e GPE quando comparada àquela observada no grupo Controle. Houve aumento da concentração de nitratos em veias umbilicais limpas na presença de veículo ou incubadas com insulina nos grupos SB/OB e GPE quando comparadas ao controle. Em gestantes controle, veias com tecido perivascular preservado incubadas com insulina apresentaram aumento significativo nas concentrações de nitratos. Estes dados indicam o efeito modulador exercido pelo tecido perivascular da veia umbilical e demonstram que o estado nutricional compromete a função destes vasos, além de afetar o efeito exercido pelo tecido perivascular.

Palavras chave: tecido perivascular, reatividade vascular, obesidade gestacional.

Abstract

Although perivascular tissue has already been structurally characterized, there are no studies evaluating its influence on the functional response of the umbilical cord veins, as well as its role in the impairment of these vessels in obesity. We have previously demonstrated the presence of adipocytes in the perivascular tissue of the umbilical cord veins, as well as the influence of overweight/obesity in pregnant women on the structural characteristics of this tissue. The objective of the present study was to investigate the role of perivascular tissue in the reactivity of umbilical cord veins as well as the influence of overweight/obesity (OW/OB) and excessive weight gain (EWG) during the gestational period on the functional properties of this tissue. 40 umbilical cords were used for vascular reactivity studies and molecular tests. In the analysis of insulin relaxation curves, in clean umbilical veins there was a significant increase in vasodilator response in pregnant women OW/OB e EWG ($p < 0,05$), in the presence of perivascular tissue, this increase in relaxation rate remained only in OW/OB pregnant women. In control pregnant women, vessels incubated with perivascular solution presented a greater response when compared to either clean veins and veins with preserved perivascular tissue. Pregnant women OW/OB showed increased relaxation in vessels with preserved perivascular compared to clean vessels and vessels incubated with perivascular solution. In EWG pregnant women, the relaxation of clean vessels incubated with perivascular solution was greater than in clean vessels and vessels with preserved perivascular tissue. The relaxation evoked by SNP in clean umbilical veins was significantly lower in OW/OB and EWG pregnant women when compared to the control group. This reduction was also observed in umbilical veins with preserved perivascular tissue at a concentration of $3 \times 10^{-8} \text{M}$. In control pregnant women, veins with preserved perivascular tissue and clean veins incubated with perivascular solution showed a significant reduction in the relaxing response to SPL when compared to vessels where this tissue was absent. Pregnant women OW/OB showed similar relaxing response between vessels, other than at concentration $3 \times 10^{-7} \text{M}$ where there was significant decrease in veins with preserved perivascular tissue. Analysis of protein expression of eNOS in perivascular tissue by the Western Blotting method showed reduction of its expression in pregnant women OW/OB and EWG when compared to that observed in the control group. Nitrate concentration increased in clean umbilical veins in vehicle presence or incubated with insulin in groups OW/OB and EWG when compared to control. In control pregnant women, veins with preserved perivascular tissue incubated with insulin showed a significant increase in nitrate concentrations. These findings corroborate the relaxing insulin response observed in our study, but indicate that increased nitrate concentrations are not mediated by the eNOS enzyme. These data indicate the modulating effect exerted by the perivascular tissue of the umbilical vein and demonstrate that the nutritional status compromises the function of these vessels, besides affecting the effect exerted by the perivascular tissue.

Keywords: perivascular tissue, vascular reactivity, gestational obesity.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Estrutura dos vasos sanguíneos	17
Figura 2: PVAT como componente da estrutura dos vasos sanguíneos.....	19
Figura 3: O tecido adiposo perivascular libera moléculas que modulam a função vascular.....	19
Figura 4: Corte transversal do cordão umbilical	21
Figura 5: Delineamento experimental dos protocolos de reatividade vascular	31
Figura 6: Curva de Teste Oral de Tolerância à Glicose	37
Figura 7: Contração ao Cloreto de Potássio (KCl) em veias umbilicais isoladas de gestantes controle (n=13), SB/OB (n=10) e GPE (n=17)	38
Figura 8: Curvas concentração-efeito à insulina em veias umbilicais isoladas de cordões umbilicais de gestantes controle, SB/OB e GPE.....	39
Figura 9: Curvas concentração-efeito à insulina, após incubação com solução perivascular, em veias umbilicais isoladas de cordões umbilicais de gestantes controle	40
Figura 10: Curvas concentração-efeito à insulina, após incubação com solução perivascular em veias umbilicais isoladas de cordões umbilicais de gestantes SB/OB.....	41
Figura 11: Curvas concentração-efeito à insulina, após incubação com solução perivascular em veias umbilicais isoladas de cordões umbilicais de gestantes GPE.....	42
Figura 12: Curvas concentração-efeito ao NPSem veias umbilicais isoladas de cordões umbilicais de gestantes controle, SB/OB e GPE.....	43
Figura 13: Curvas concentração-efeito ao NPS, após incubação com solução perivascular, em veias umbilicais isoladas de cordões umbilicais de gestantes controle	44
Figura 14: Curvas concentração-efeito ao NPS, após incubação com solução perivascular, em veias umbilicais isoladas de cordões umbilicais de gestantes SB/OB.....	45
Figura 15: Curvas concentração-efeito ao NPS, após incubação com solução perivascular, em veias umbilicais isoladas de cordões umbilicais de gestantes GPE.....	46
Figura 16: Expressão de eNOS total no tecido perivascular que circunda as veias de cordão umbilical	47
Figura 17: Concentrações de nitrato em veias limpas na ausência e na presença de Insulina isoladas de gestantes controle (n=6), SB/OB (n=6) e GPE (n=6)	48
Figura 18: Concentrações de nitrato em veias limpas e com tecido perivascular na ausência e na presença de Insulina isoladas de gestantes controle (n=6)	49
Figura 19: Concentrações de nitrato em veias limpas e com tecido perivascular na ausência e na presença de Insulina isoladas de gestantes SB/OB (n=6).....	50
Figura 20: Concentrações de nitrato em veias limpas e com tecido perivascular na ausência e na presença de Insulina isoladas de gestantes GPE (n=6).....	51

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Novas recomendações para ganho de peso total na gestação, de acordo com o IMC gestacional.	28
Tabela 2. Classificação da pressão arterial de acordo com medição casual ou no consultório.	29
Tabela 3. Valores de glicose plasmática (em mg/dl) para diagnóstico de diabetes mellitus...29	
Tabela 4. Caracterização da amostra total e dos grupos controle e SB/OB.	34
Tabela 5. Caracterização dos grupos controle e GPE.....	36
Tabela 6. Valores de glicemia observados nos tempos 0, 1 e 2 horas após sobrecarga de glicose ingerida.	37
Tabela 7. Porcentagens de relaxamento à Insulina em veias umbilicais limpas isoladas de gestantes controle, sobrepeso/obeso e GPE.....	39
Tabela 8: Porcentagens de relaxamento à Insulina em veias umbilicais isoladas de gestantes controle.	40
Tabela 9: Porcentagens de relaxamento à Insulina após incubação com solução perivascular em veias umbilicais isoladas de gestantes SB/OB.....	41
Tabela 10: Porcentagens de relaxamento à Insulina após incubação com solução perivascular em veias umbilicais isoladas de gestantes GPE.....	42
Tabela 11: Porcentagens de relaxamento ao NPS em veias umbilicais limpas isoladas de gestantes controle, SB/OB e GPE.	43
Tabela 12: Porcentagens de relaxamento ao NPS após incubação com solução perivascular em veias umbilicais isoladas de gestantes controle.	44
Tabela 13: Porcentagens de relaxamento ao NPS após incubação com solução perivascular em veias umbilicais isoladas de gestantes SB/OB.	45
Tabela 14: Porcentagens de relaxamento ao NPS após incubação com solução perivascular em veias umbilicais isoladas de gestantes GPE.	46

LISTA DE SIGLAS

Ang 1-7	Angiotensina-1-7
CMLVs	Células de Músculo Liso Vascular
CTMs	Células-Tronco Mesenquimais
eNOS	Óxido Nítrico Sintase Endotelial
EUA	Estados Unidos da América
EROs	Espécies Reativas de Oxigênio
GMPc	Monofosfato cíclico de Guanosina
GPG	Ganho de Peso Gestacional
GPE	Ganho de Peso Excessivo
GW	Geleia de Wharton
H ₂ S	Sulfeto de Hidrogênio
IL-6	Interleucina-6
IOM	Instituto de Medicina dos EUA
KCl	Cloreto de Potássio
MCP-1	Proteína Quimiotática de Monócitos-1
NO	Óxido Nítrico
NPS	Nitroprussiato de Sódio
PI3K	Fosfatidilinositol 3-quinase
PVAT	Tecido Adiposo Perivascular
PVCF	Fatores Contráteis Derivados do PVAT
PVRF	Fatores de Relaxamento Derivados do PVAT

SBC Sociedade Brasileira de Cardiologia

TNF- α Fator de Necrose Tumoral- α

TOTG Teste Oral de Tolerância à Glicose

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	17
1.1 Estrutura e função dos vasos sanguíneos que compõem o sistema circulatório	17
1.2 Influência do tecido adiposo perivascular no controle do tônus vascular	18
1.3 Circulação materno-fetal: estrutura e função	20
1.4 Obesidade gestacional: implicações para o controle da circulação materno fetal ..	23
2. OBJETIVOS	26
2.1 Objetivo geral	26
2.2 Objetivos específicos	26
3. MATERIAL E MÉTODOS	27
3.1 Delineamento do Estudo	27
3.2 Aspectos Éticos	27
3.3 População de Estudo	27
3.4 Critérios de inclusão	28
3.5 Critérios de exclusão	28
3.6 Coleta de dados das gestantes	28
3.7 Obtenção dos segmentos de veias umbilicais	29
3.8 Estudo da reatividade das veias umbilicais	29
3.9 Protocolo experimental	30
3.10 Avaliação da expressão da enzima eNOS por Western Blotting	32
3.11 Determinação da concentração de nitratos.....	32
3.12 Análise Estatística	33
4. RESULTADOS	34
4.1 Caracterização da amostra total e de acordo com a presença de SB/OB no início da gestação.....	34
4.2 Caracterização da amostra de acordo com o ganho de peso durante o período gestacional	36
4.3 Avaliação da tolerância oral a glicose	37
4.4 Avaliação da contração ao cloreto de potássio em veias umbilicais isoladas.....	38
4.5 Avaliação do relaxamento à insulina em veias umbilicais isoladas	39
4.6 Avaliação do relaxamento à insulina, após incubação com solução perivascular, em veias umbilicais isoladas com e sem tecido perivascular.....	40
4.7 Avaliação do relaxamento ao nitroprussiato de sódio em veias umbilicais isoladas	43
4.8 Avaliação do relaxamento ao NPS após incubação com solução perivascular em veias umbilicais isoladas.....	44
4.9 Expressão proteica de eNOS no tecido perivascular de veias do cordão umbilical	47

4.10	Determinação das concentrações de nitrato em veias umbilicais	48
5.	DISCUSSÃO	52
6.	CONCLUSÃO	58
7.	REFERENCIAS	59
Anexo 1. Parecer consubstanciado do Comitê de ética em pesquisa (CEP).....		67
Anexo 2. Termo de consentimento livre e esclarecido (TCLE).		70

1. INTRODUÇÃO

1.1 Estrutura e função dos vasos sanguíneos que compõem o sistema circulatório

Os vasos sanguíneos são constituídos pelas túnicas íntima, média e adventícia (Figura 1). A função dos vasos do sistema circulatório é regulada por diversos componentes celulares locais que interagem entre si e secretam substâncias que auxiliam na manutenção da homeostase vascular (Shimokawa, Satoh, 2014).

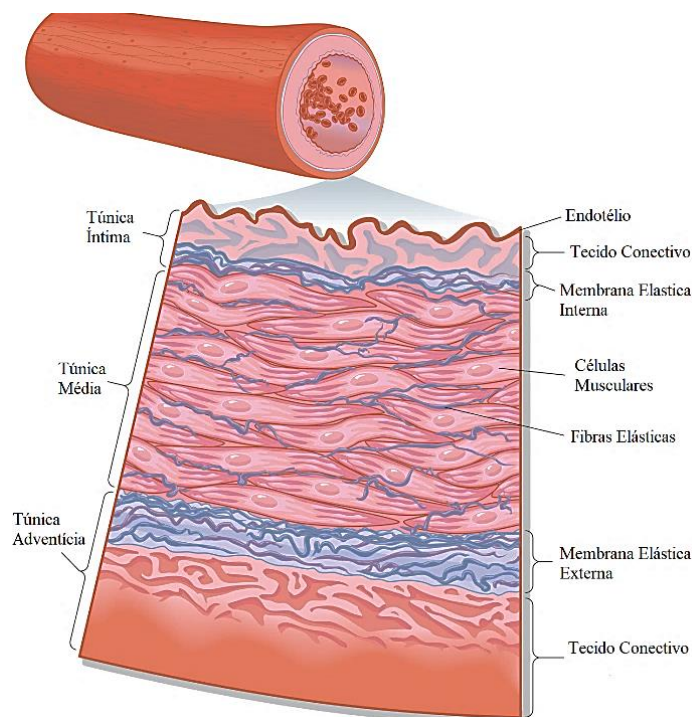


Figura 1: Estrutura dos vasos sanguíneos. Fonte: ENCYCLOPÉDIA BRITANNICA, 2008.

A túnica íntima é formada por uma camada de tecido pavimentoso que reveste internamente todos os vasos, denominada endotélio. O endotélio encontra-se apoiado na camada subendotelial de tecido conjuntivo frouxo, que pode compreender eventualmente células musculares lisas. As células endoteliais funcionam como uma barreira seletiva, facilitando a passagem de macromoléculas e gases sanguíneos para os tecidos e sangue, de forma bidirecional. A localização estratégica do endotélio permite ainda que mudanças nas forças hemodinâmicas e sinais transmitidos pelo sangue sejam detectados, ocorrendo a liberação de uma série de substâncias autócrinas e parácrinas. A liberação equilibrada desses fatores vasoativos garante a manutenção da homeostase vascular. O óxido nítrico (NO) é o principal fator de relaxamento derivado do endotélio e desempenha um papel crucial na

manutenção do tônus e da reatividade vascular (VERMA, BUCHANAN, ANDERSON, 2003). O NO é formado a partir da L-arginina, por uma reação catalizada pela enzima óxido nítrico sintase (NOS). Existem três isoformas de NOS, duas constitutivas, denominadas de endotelial (eNOS) e neuronal (nNOS) e uma induzível (iNOS) (STUEHR, 2004). O componente mais externo da túnica íntima, que a separa da média, é a lâmina elástica interna, constituída principalmente de elastina, e com a presença de aberturas que propiciam a nutrição de células situadas mais profundamente na parede do vaso, através da difusão de substâncias.

A túnica média é composta especialmente por células musculares lisas, dispostas circularmente. Interpostas entre as células musculares lisas existem quantidades variáveis de fibras e lâminas elásticas, fibras reticulares (colágeno tipo III), proteoglicanos e glicoproteínas. As células musculares lisas são as responsáveis pela produção destas moléculas da matriz extracelular. Nas artérias, a túnica média possui uma lâmina elástica externa mais delgada que separa esta da túnica adventícia (JUNQUEIRA, CARNEIRO, 2004). A túnica adventícia é formada principalmente por tecido conjuntivo, com fibroblastos, fibras colágenas (colágeno tipo I) e elásticas. Gradativamente, a túnica adventícia torna-se contínua com o tecido conjuntivo do órgão pelo qual o vaso sanguíneo está passando. A adventícia funciona como um compartimento dinâmico para o tráfico de células dentro e fora da parede da artéria, participa do crescimento e reparo da parede do vaso e medeia a comunicação entre células endoteliais vasculares e células musculares lisas e seu ambiente tecidual local. Além disso, a adventícia contém populações residentes de macrófagos, células T, células B, mastócitos e células dendríticas que desempenham importante vigilância e funções imunológicas inatas em resposta a antígenos (MAJESKY et al., 2011). Há ainda a presença de vasa vasorum (vaso dos vasos), que são arteríolas, capilares e vênulas, que desempenham função nutridora (JUNQUEIRA, CARNEIRO, 2004).

1.2 Influência do tecido adiposo perivascular no controle do tônus vascular

O tecido adiposo perivascular (PVAT) é uma bainha de tecido adiposo adjacente a túnica adventícia que circunda a maioria dos vasos sanguíneos (Figura 2) (BROWN et al., 2014). Dependendo do leito vascular específico ou de diferentes regiões do leito vascular onde está localizado, o PVAT pode ser mais abundante, como na aorta. Este tecido pode ainda encontrar-se separado do tecido adiposo adjacente, como o PVAT coronário dentro da gordura epicárdica ou até mesmo ausente, como ocorre na região cerebral ou na microcirculação (SZASZ, BOMFIM, WEBB, 2013).

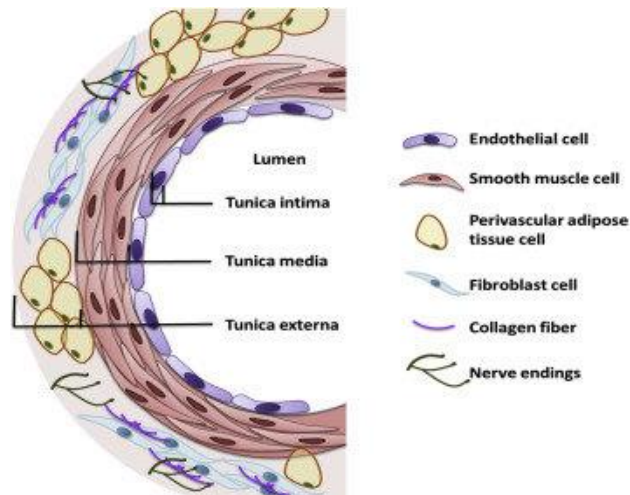


Figura 2: PVAT como componente da estrutura dos vasos sanguíneos. Fonte: ZHAO, VANHOUTTE, LEUNG, 2015.

Acreditava-se que o PVAT apenas fornecia proteção mecânica aos vasos durante a contração de tecidos vizinhos. Entretanto, diversas evidências acumuladas nos últimos anos indicam que o PVAT é um componente ativo da parede dos vasos sanguíneos e contribui para a homeostase vascular pela produção de várias moléculas biologicamente ativas, incluindo adipocinas (por exemplo, leptina, adiponectina), citocinas/quimiocinas (por exemplo, interleucina-6 [IL-6], fator de necrose tumoral- α [TNF- α], proteína quimiotática de monócitos-1 [MCP-1]), moléculas gasosas (por exemplo, óxido nítrico [NO] e sulfeto de hidrogênio [H₂S]), prostaciclina, angiotensina-1-7 (Ang 1-7), palmitato de metila e espécies reativas de oxigênio (EROs), que influenciam a contração, a proliferação e a migração de células de músculo liso vascular (CMLVs) (figura 3) (BROWN et al., 2014; QI et al., 2018).

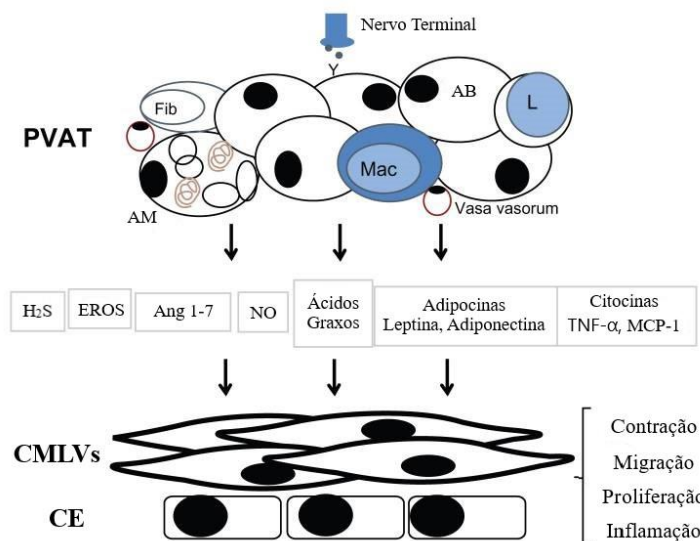


Figura 3: O tecido adiposo perivascular libera moléculas que modulam a função vascular. Abreviaturas: AM, adipócito marrom; CE, célula endotelial; Fib, fibroblasto; L, linfócito; Mac, macrófago; AB, adipócito branco; Y, receptor do sistema nervoso autônomo. Fonte: SZASZ, BOMFIM, WEBB, 2013.

Os fatores bioativos derivados do PVAT contribuem de forma coordenada para regular o tônus vascular. Fatores de relaxamento derivados do PVAT (PVRF) como adiponectina, NO, H₂S, prostaciclina, Ang 1-7 e palmitato de metila podem promover vasodilatação por atingir a camada medial e endotelial dos vasos sanguíneos, enquanto os fatores contráteis derivados do PVAT (PVCF) como Ang II, EROs e outros fatores não identificados podem induzir a constrição dos vasos sanguíneos (QI et al., 2018; BROWN et al., 2014).

A influência do PVAT difere com mudanças na adiposidade (GÁLVEZ-PRIETO et al., 2012). Em casos de obesidade, o PVAT perde seus efeitos vasoprotetores e pode contribuir para o estresse oxidativo e a disfunção endotelial, bem como a inflamação local por meio da produção de adipocitocinas pró-inflamatórias (VERHAGEN, VISSEREN, 2011; VIRDIS, 2016). Além disso, o PVAT pode influenciar a sinalização da insulina no nível vascular, fornecendo assim uma ligação potencial entre resistência sistêmica e vascular à insulina, eventos que são característicos da doença vascular relacionada à obesidade (AKOUMIANAKIS, TARUN, ANTONIADES, 2017). Portanto, o PVAT apresenta um papel deletério ou protetor, dependendo da localização do leito vascular, sua magnitude e a situação fisiológica ou fisiopatológica (FERNÁNDEZ-ALFONSO et al., 2017).

1.3 Circulação materno-fetal: estrutura e função

O ambiente intrauterino exerce grande influência sobre a saúde do feto ao longo da vida. Durante a gravidez, o crescimento e desenvolvimento fetal são completamente dependentes da placenta (LEWIS, CLEAL, HANSON, 2012). A placenta é um órgão transitório, que desempenha ações que são posteriormente adquiridas por diversos órgãos, incluindo os pulmões, fígado, intestino, rins e glândulas endócrinas. Sua principal função é suprir o feto com oxigênio e nutrientes, através do cordão umbilical (BURTON, FOWDEN, 2015).

O cordão umbilical é uma estrutura helicoidal que conecta o feto à placenta e é vital para o crescimento fetal. O formato espiralado viabiliza ao cordão umbilical estender ou encurtar, de forma a não estirar os vasos umbilicais em demasia, evitando que modificações acentuadas do fluxo sanguíneo ocorram ao longo do trajeto dos vasos (VASQUES et al., 2003). Possui em média 50 a 60 cm de comprimento, 1,5 a 2 cm de diâmetro e velocidade do sangue de 500 a 700 ml / min no cordão umbilical a termo (FILIZ et al., 2011).

Somente por meio do cordão umbilical é possível que ocorra a difusão de sangue entre mãe e feto, porém ainda existem poucas evidências sobre a função vascular feto placentária.

Classicamente, é uma estrutura composta por duas artérias e uma veia, envoltas por uma substância gelatinosa denominada geleia de Wharton (figura 4) (SADLER, 2005).

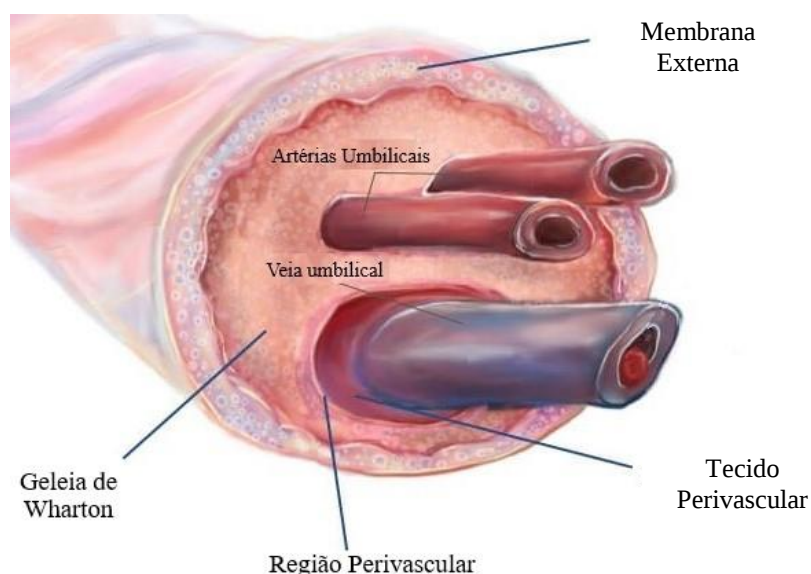


Figura 4: Corte transversal do cordão umbilical. Fonte: HUGHES, SPERLE, 2015.

A geleia de Wharton, formada por tecido conectivo gelatinoso, é uma estrutura porosa, homogênea, cheia de líquido, rica em proteoglicanos e cercada por miofibroblastos, que são células mesenquimais com características tanto de fibroblastos quanto de células musculares lisas. Os miofibroblastos situam-se em maior concentração ao redor dos vasos umbilicais, apresentando características de células produtoras de colágeno, proteoglicanos e glicoproteínas, os quais conferem propriedades elásticas e contráteis à geleia de Wharton. Desta forma, sua elasticidade ajuda a resistir à pressão externa e atua como um tampão físico na regulação do fluxo sanguíneo umbilical (VASQUES et al., 2003; FILIZ et al., 2011), caracterizando uma estrutura que envolve e protege os vasos umbilicais (SADLER, 2005).

Os vasos umbilicais encontram-se dispostos de forma helicoidal e apresentam propriedades funcionais distintas da maioria dos vasos sanguíneos, nas quais a difusão de nutrientes e oxigênio do sangue materno para o sangue do feto flui de forma pulsátil através da veia umbilical, enquanto a difusão de produtos de excreção do feto de volta para a mãe ocorre através das artérias umbilicais (FERGUSON, DODSON, 2009; GUYTON, 2006). Os vasos umbilicais são, ainda, circundados pelo tecido perivascular.

As células perivasculares das veias do cordão umbilical têm morfologia semelhante as células-tronco mesenquimais (CTMs), em forma de fuso. Foi demonstrado que as células perivasculares têm capacidade de diferenciação adipogênica, osteogênica, condrogênica e

cardiomiogênica e expressam diversos marcadores de superfície, de acordo com o tecido em que estão situadas, como o marcador CD146 específico da célula perivascular, o marcador CD105 específico de células estaminais mesenquimais, bem como a expressão de marcadores específicos de células-tronco hematopoiéticas como CD34, CD45 e marcador específico de células endoteliais CD31, em níveis menores (GÖKÇINAR-YAGCI; ÖZYÜNCÜ; ÇELEBI-SALTIK, 2016).

O tecido perivascular dos vasos sanguíneos em geral comunica-se com as células endoteliais vasculares através das junções gap localizadas nas regiões de superfície abluminal (ARMULIK, BETSHOLTZ, 2005). Células perivasculares cultivadas a partir de células-tronco mesenquimais da medula óssea humana demonstraram estar envolvidas na estabilidade e maturação dos vasos sanguíneos e no controle do fluxo sanguíneo microvascular de tecido osteogênico (MENDES et al., 2012). Pericitos cerebrais tem suas funções associadas a contratilidade da microvasculatura do Sistema Nervoso Central (SNC), regulação da atividade de células endoteliais e expressão da atividade de macrófagos. Contração parece ser a maneira que os pericitos regulam o fluxo sanguíneo microvascular, semelhante ao músculo liso vascular. A regulação das células endoteliais foi sugerida para controlar o crescimento dos vasos e contribuir para a estabilidade vascular (RUCKER, WYNDER, THOMAS, 2000.). O estudo de Wanjare, Kusuma e Gerecht (2014) evidenciou que células perivasculares derivadas de células tronco pluripotentes humanas podem possuir propriedades contráteis, no qual foi demonstrado a presença de fibras de estresse nas células deste tecido. Fibras de estresse são feixes de filamentos de actina que são importantes na mecanotransdução de células aderentes ancorando-se a substratos e criando tensão isométrica. A contração das células perivasculares está associada a um citoesqueleto mais filamentoso dentro das células (DEGUCHI et al., 2006).

Além de possuir características semelhantes às CTMs (diferenciação celular e expressão de CD105), as células perivasculares do cordão umbilical também possuem propriedades diferentes, como a expressão de Tenascina-C, uma proteína da matriz extracelular que desempenha importantes papéis durante o desenvolvimento embrionário e a lesão tecidual (MIDWOOD et al., 2011). Essas particularidades sugerem que as células perivasculares, que podem ser ancestrais como das CTMs nas regiões vasculares, desenvolvem características para adaptar-se ao seu microambiente (GÖKÇINAR-YAGCI; ÖZYÜNCÜ; ÇELEBI-SALTIK, 2016).

Evidentemente, os dados emergentes de pesquisas relacionadas ao tecido perivascular sugerem que novos estudos sejam desenvolvidos para melhor compreender os efeitos e o papel deste tecido na fisiologia vascular.

1.4. Obesidade gestacional: implicações para o controle da circulação materno fetal

A população mundial tem sido confrontada com um crescimento exponencial da obesidade entre mulheres durante o período gestacional. Mulheres obesas podem iniciar os cuidados pré-natais com hipertensão estabelecida ou apresentarem diabetes tipo 2 ainda não diagnosticado. Outras complicações emergem posteriormente na gestação, no parto ou no pós-parto, incluindo um risco aumentado de resultados insatisfatórios na gravidez, aumento das taxas de cesáreas, dificuldades para iniciar e manter a amamentação, hipertensão gestacional, pré-eclâmpsia, diabetes mellitus gestacional, parto de bebês grandes para a idade gestacional, maior incidência de defeitos congênitos e morte materna e infantil (POSTON, HARTHOORN, VAN DER BEEK, 2011). Apesar disso, a maioria das gestantes obesas não tem consciência dos problemas que enfrentam e custos crescentes dessas complicações têm ampliado cada vez mais os orçamentos de saúde (RAPOSO et al., 2011). O Instituto de Medicina dos EUA (IOM) publicou recentemente diretrizes revisadas para ganho de peso gestacional (GPG) em gestantes com baixo peso (IMC 18,5; ganho de peso recomendado 12,5-18 kg), peso normal (IMC, 18,5-24,9; 11,5-16 kg), sobrepeso (IMC, 25,0 a 29,9; 7 a 11,5 kg) e obesidade (IMC 30; 5 a 9 kg) (IOM, 2009). A revisão foi impulsionada por novas evidências dos efeitos do GPG sobre os resultados maternos e infantis, o aumento da obesidade e do GPG médio e a maior diversidade étnica, além do aumento da idade materna das mulheres grávidas. A alta prevalência desta condição em diversas regiões do mundo mostra claramente que as metas estabelecidas nas novas diretrizes não estão sendo alcançadas por mulheres com sobrepeso ou obesas.

Várias vias metabólicas são susceptíveis de influenciar o desenvolvimento fetal e os resultados neonatais, contribuindo para desfechos maternos adversos. A glicemia materna, por exemplo, mesmo sutilmente aumentada em mulheres obesas (MONTEIRO et al., 2016), pode influenciar o crescimento fetal e a adiposidade, como evidenciado pelo estudo HAPO (METZGER et al., 2008). Outros parâmetros pertinentes incluem triglicérides e ácidos graxos maternos, além da insulina fetal, que podem contribuir para o acúmulo de tecido adiposo na prole, além de evidências de um estado inflamatório de baixo grau na mãe, comprometendo componentes fetais (RAMSAY et al., 2002).

Além das complicações descritas acima, evidências recentes sugerem a existência de influências adversas que afetam o desenvolvimento do feto durante a vida uterina (Programação Fetal) e, dependendo da idade gestacional, podem alterar estruturas e/ou funções de células, órgãos ou vias metabólicas, refletindo posteriormente na vida adulta. Assim, influências adversas durante este período do desenvolvimento fetal, como a presença de sobrepeso ou

obesidade, podem acarretar o desenvolvimento de doenças na vida adulta do feto (GLUCKMAN, HANSON, 2004).

O entendimento da Programação Fetal começou com Barker (1995), a partir de observações que relacionavam o baixo peso ao nascimento com o desenvolvimento de doenças metabólicas na vida adulta. Neste estudo, evidenciou-se que o risco para desenvolver complicações na fase adulta é função não apenas da carga genética ou dos hábitos de vida do adulto, como também da atuação de fatores ambientais em períodos críticos no desenvolvimento fetal e que este processo está muito relacionado com a capacidade de um genótipo poder originar diferentes estados morfológicos ou fisiológicos em resposta a diferentes exposições durante o desenvolvimento (MATTOS, 2006; BARKER, 2007). Além destes trabalhos, diversos estudos demonstraram que doenças acometidas na fase adulta podem ter relações com alterações na fase intrauterina (GODFREY, 2002; DRAKE, WALKER, 2004; MATTOS, 2006; JANSSEN, POWELL, 2007; RINAUDO et al., 2012; MARCINIAK et al., 2017).

Embora os mecanismos fisiopatológicos envolvendo o aumento dos riscos adversos para os fetos de gestantes com sobrepeso/obesidade ainda não tenham sido completamente esclarecidos, um componente potencialmente envolvido é a circulação fetoplacentária. Os vasos umbilicais, assim como os demais vasos do sistema circulatório, são sensíveis a substâncias vasoativas, como a serotonina, a angiotensina II e a insulina (BENIRSCHKE et al., 2006). Além disso, as células endoteliais que compõem estes vasos secretam substâncias que influenciam de maneira parácrina a contratilidade do músculo liso. A adventícia, considerada como sendo o tecido conjuntivo mucoso (GW) que compõe o tecido perivascular e que tem como papel descrito até o momento, o suporte vascular, também pode constituir um componente potencialmente envolvido no controle da função dos vasos do cordão umbilical. De fato, alterações na composição deste tecido foram descritas recentemente em condições onde há excesso de tecido adiposo, levando-o a liberar vários fatores parácrinos, como adipocinas (resistina, leptina e visfatina) e citocinas (IL - 6 e TNF - α) que podem afetar diretamente CMLVs e células endoteliais e que iniciam e orquestram a inflamação vascular. Essas alterações têm sido observadas nas principais patologias vasculares e em associação com fatores de risco cardiovasculares, incluindo aterosclerose, hipertensão arterial e vasculopatias diabéticas (NOSALSKI, GUZIK, 2017).

JUSTIFICATIVA

Apesar do tecido perivascular já ter sido estruturalmente caracterizado, não há nenhum estudo na literatura avaliando sua influência sobre a resposta funcional tanto das veias do cordão umbilical, bem como seu papel no comprometimento da função deste território vascular na obesidade. A maioria das complicações clínicas associadas à obesidade podem ser atribuídas a alterações na função vascular. Estudos preliminares realizados em nosso grupo de pesquisa evidenciaram a presença de adipócitos no tecido perivascular das veias do cordão umbilical, bem como a influência do sobrepeso/obesidade em gestantes sobre as características estruturais deste tecido, podendo constituir assim um mecanismo importante envolvido na programação de complicações na fase adulta. Considerando a importância das veias umbilicais no transporte de diversos componentes maternos, incluindo sangue oxigenado e rico em nutrientes, sendo vital para o crescimento e desenvolvimento fetal adequados, alterações na função exercida por este vaso ou nos componentes responsáveis pela modulação desta função podem explicar complicações futuras ao feto.

2. OBJETIVOS

2.1 Objetivo geral

O objetivo geral do presente estudo foi investigar o papel do tecido perivascular na reatividade de veias do cordão umbilical, bem como a influência do sobrepeso/obesidade (SB/OB) e do ganho de peso excessivo (GPE) durante o período gestacional sobre as propriedades funcionais deste tecido.

2.2 Objetivos específicos

- Avaliar os efeitos do tecido perivascular na resposta a agonistas relaxantes em veias do cordão umbilical de gestantes controle, com SB/OB e GPE durante o período gestacional;
- Investigar influência do endotélio sobre as propriedades funcionais do tecido perivascular;
- Averiguar quais vias de sinalização estão sendo modificadas pelo tecido perivascular e como elas contribuem para a modulação da função vascular exercida por este tecido.
- Relacionar características clínicas das pacientes com as alterações observadas na função das veias do cordão umbilical;

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Delineamento do Estudo

Trata-se de um estudo caso-controle, no qual foram avaliados parâmetros funcionais das veias umbilicais de gestantes controles, SB/OB ou que apresentaram GPE durante o período gestacional.

3.2 Aspectos Éticos

O presente estudo foi avaliado e aprovado pelo Comitê de Ética em pesquisa da Universidade Federal de Goiás (número de aprovação CAAE 62155316.0.0000.5083) (Anexo 1) e está de acordo com a Resolução 466/2012 do Conselho Nacional de Saúde que regulamenta pesquisas envolvendo seres humanos. A coleta dos dados e dos cordões umbilicais foi realizada após a concordância das pacientes e mediante consentimento livre e esclarecido (Anexo 2) das pacientes selecionadas para compor a amostra.

3.3 População de Estudo

A população do presente estudo foi composta por 57 pacientes gestantes controle, SB/OB e GPE atendidas no Hospital Unimed de Jataí – GO, acompanhadas pela Prof.^a MSc. Simone Oliveira Morale (Médica Especialista em Ginecologia e Obstetrícia e Professora do curso de Medicina da Universidade Federal de Goiás - Regional Jataí), selecionadas pelos critérios de inclusão/exclusão infra citados.

Para a caracterização e análise dos dados, as pacientes foram divididas em duas formas de amostragem. Primeiramente, a divisão foi feita de acordo com o estado nutricional das gestantes no início da gestação, através o IMC: 1 - grupo controle; 2 - grupo SB/OB. Posteriormente foram divididas de acordo com o ganho de peso durante a gestação: 1- grupo controle (gestantes com IMC normal ou SB/OB que ganharam peso dentro da faixa permissível); 2 - grupo GPE (gestantes com IMC normal ou SB/OB que ganharam peso excessivo). Para a determinação da faixa adequada de ganho de peso de cada gestante, avaliamos cada uma por faixa do seu IMC, conforme a diretriz do *Institute of medicine of the national academies* (Instituto de Medicina) (Tabela 1) (IOM, 2009).

Tabela 1. Novas recomendações para ganho de peso total na gestação, de acordo com o IMC gestacional.

IMC gestacional	Ganho de peso total (Kg)
Baixo peso ($< 18,5 \text{ Kg/m}^2$)	12,5-18
Peso normal ($18,5\text{-}24,9 \text{ Kg/m}^2$)	11,5-16
Sobrepeso ($25,0\text{-}29,9 \text{ Kg/m}^2$)	7-11,5
Obeso ($\geq 30,0 \text{ Kg/m}^2$)	5-9

IMC: índice de massa corporal.

Fonte: Adaptado de (IOM, 2009).

3.4 Critérios de inclusão

Foram incluídas no estudo pacientes com segmento pré-natal desde o início da gestação, e com idade gestacional igual ou superior a 37 semanas, normotensas e normoglicêmicas.

3.5 Critérios de exclusão

Foram excluídos do estudo as pacientes com parto de recém-nascido morto; recém-nascido com malformações fetais à ultrassonografia e/ou exames pós-natal, cordão umbilical com mecônio, pacientes hipertensas e diabéticas e pacientes que não aceitaram participar da pesquisa e que não assinaram o termo de consentimento livre e esclarecido.

3.6 Coleta de dados das gestantes

A avaliação dos dados clínicos e laboratoriais de gestantes que realizaram seguimento pré-natal no hospital Unimed de Jataí – GO foi realizada de modo retrospectivo. Os dados como: idade materna, idade gestacional, altura da paciente, peso no início da gestação e peso no dia do parto, pressão arterial no dia do parto, tipo de parto, peso do recém-nascido e comprimento do recém-nascido, foram coletados por meio de consulta ao banco de dados do hospital Unimed de Jataí – GO.

Os dados referentes à pressão arterial coletados na hora do parto, foram avaliados de acordo com a sétima diretriz da sociedade brasileira de cardiologia (Tabela 2) (SBC, 2016). Os dados referentes à glicemia em jejum e ao teste oral de tolerância a glicose coletados no segundo trimestre de gestação, foram analisados conforme a diretriz 2015-2016 da sociedade brasileira de diabetes (Tabela 3) (SBD, 2016).

Tabela 2. Classificação da pressão arterial de acordo com medição casual ou no consultório.

Classificação	PAS (mm Hg)	PAD (mm Hg)
Normal	≤120	≤80
Pré-hipertenso	121-139	81-89
Hipertensão estágio 1	140-159	90-99
Hipertensão estágio 2	160-179	100-109
Hipertensão estágio 3	≥180	≥110

PAS: pressão arterial sistólica. **PAD:** pressão arterial diastólica.

Fonte: Adaptado de (SBC, 2016).

Tabela 3. Valores de glicose plasmática (em mg/dl) para diagnóstico de diabetes mellitus.

Categoria	Jejum	TOTG após 2h
Glicemia normal	<100	<140
Tolerância a glicose diminuída	100-126	140-200
Diabetes mellitus	≥126	≥200

TOTG: teste oral de tolerância à glicose.

Fonte: Adaptado de (SBD, 2016).

3.7 Obtenção dos segmentos de veias umbilicais

Amostras de cordão umbilical foram obtidas (n=40), pós-parto, a partir das gestantes pré-selecionadas de acordo com os critérios de inclusão e exclusão estabelecidos neste estudo. Para o estudo de reatividade nossa amostra foi dividida em três grandes grupos: 1 – grupo controle (IMC normal e ganho de peso gestacional normal, n=13); 2 – grupo SB/OB (IMC sobrepeso ou obesidade com ganho de peso gestacional normal, n=10); 3 – grupo GPE (IMC normal ou SB/OB que ganharam peso excessivo durante a gestação, n=17).

3.8 Estudo da reatividade das veias umbilicais

Após o desprendimento do cordão umbilical da placenta, posteriormente ao parto, as amostras de cordão coletadas foram imersas imediatamente em solução nutriente Krebs-Henseleit à 4°C (ph: 7,4; composição em mM: NaCl – 130; NaHCO₃ – 14,9; KCl – 4,7; KH₂PO₄ – 1,18; MgSO₄.7H₂O – 1,17; CaCl₂.2H₂O – 1,6; glicose – 5,5, EDTA 0,03) como já descrito em outros trabalhos (OLIVEIRA et al., 2012; OLIVEIRA et al., 2016). Foram obtidos

segmentos de aproximadamente 10 cm de comprimento da porção medial do cordão umbilical para dissecação da veia umbilical a ser montada no sistema de banho de órgãos. Os cordões eram mantidos em Krebs-Henseleit, trocando a solução até o prazo máximo que ainda respondiam a reatividade, 24 horas pós-parto. Em seguida, as veias umbilicais foram cuidadosamente dissecadas, obtendo-se segmentos de vaso com remoção total da região perivascular (controle) e segmentos de vaso com região perivascular preservada (perivascular +), que posteriormente foram seccionados em anéis transversais de 4 mm de comprimento. Os anéis vasculares sem região perivascular e com região perivascular foram montados em um sistema de banho de órgãos (EFF 321, Insight®, Brasil) suspensos individualmente por um par de hastes de aço inoxidável, em cubas de vidro (10 mL) contendo solução nutritiva de Krebs-Henseleit sob temperatura constante de 37°C e aerada com carbogênio (95% de O₂ e 5% de CO₂). Uma das extremidades do gancho foi conectada a um transdutor de força isométrica (Insight®) acoplado a um sistema computadorizado de aquisição de dados que permitiu o registro das contrações (AQCAD, AVS Projetos, São Carlos, Brasil).

As preparações permaneceram sob tensão de repouso de 3,0 g (Fernandes, 2015) durante 60 minutos, período para estabilização, com trocas de solução nutritiva e ajuste de tensão a cada 15 minutos. Após estabilização, foram adicionados agonistas vasodilatadores, para avaliação da função vascular, bem como para o estudo dos mecanismos envolvidos nas alterações detectadas, de acordo com os protocolos experimentais executados.

3.9 Protocolo experimental

Posterior a estabilização, cada anel foi contraído utilizando solução KCl 65 mmol/L, para alcançar uma resposta máxima e ajustar o diâmetro do vaso, e lavado com solução nutriente. Em seguida os anéis foram estabilizados por mais 30 minutos e a tensão ajustada para 3g. Para investigar a capacidade do tecido perivascular de secretar moléculas vasoativas, o anel de vaso limpo foi incubado com solução presente na cuba contendo vaso com região perivascular preservada por 30 minutos dentro da solução nutriente. Foram realizadas curvas concentração-efeito para insulina (vasodilatador dependente do endotélio, que tem sua ação mediada pela via fosfatidilinositol 3-quinase (PI3K), que ativa a enzima NO sintase endotelial (eNOS) levando ao aumento da produção NO do endotélio vascular [MUNIYAPPA, 2007]) e nitroprussiato de sódio (10^{-9} M – 10^{-5} M, doador direto de NO, sendo composto por Fe²⁺ complexado com NO e cinco ânions cianeto, é degradado espontaneamente em NO, ativando a via NO/GMPC) em vasos pré-contraídos com KCl 40 mmol/L. A pré-contracção dos

vasos foi realizada utilizando o composto KCl, uma vez que a contração com felinefrina não produziu uma resposta contrátil mantida para que as curvas de relaxamento fossem executadas. Estabelecemos uma contração que produzia 70% - 80% da resposta máxima do vaso utilizando o KCl 40 mmol/L para realização das curvas de relaxamento (figura 5). Os valores das respostas de relaxamento foram expressos como porcentagem do relaxamento em relação a pré-contracção induzida pelo KCl.

Figura 5: Delineamento experimental dos protocolos de reatividade vascular.



3.10 Avaliação da expressão da enzima eNOS por Western Blotting

O Tecido Perivascular retirado dos segmentos de veia umbilical foi isolado, congelado em nitrogênio líquido, pulverizado e homogeneizado em tampão de lise gelado [(em mM): TRIS 100 (pH 7,4), pirofosfato de sódio 100, fluoreto de sódio 100, EDTA 10, ortovanadato de sódio 10, fluoreto de fenilmetilsulfonil (PMSF) 2], Triton-X-100 1% e aprotinina 0,01 mg/mL. O extrato foi colocado em tubos de Eppendorf, os quais foram centrifugados a 13.000 rpm a 4°C por 15 minutos. Após a centrifugação, o sobrenadante foi coletado e o conteúdo proteico total foi quantificado, através da metodologia de Bradford (BioRad®, Hercules, Califórnia, EUA) (Bradford, 1976).

Após determinar a concentração de proteínas (40 µg) extraídas da veia umbilical, pelo método de Bradford, foi realizada a separação por eletroforese em gel de poliacrilamida (SDSPAGE) e transferidas para membrana de nitrocelulose mediante campo elétrico por 1 hora a 100 V. Cada gel possuía um padrão para a marcação do peso molecular com valores pré-estabelecidos. Para afirmar a eficiência da transferência, as membranas foram coradas com vermelho de Ponceau 2%. Sítios de ligação inespecíficos foram bloqueados com soro fetal bovino (5%), diluído em tampão salina Tris contendo Tween [*Tris-Buffered Saline Tween-20*, TBS-T (100 mL de TBS 10X; 1mL de Tween 20 e água destilada q.s.p. 1L)], por 1 h a 24 °C. Membranas foram incubadas com anticorpos primários anti-eNOS (1:500, Santa Cruz – sc – 376751) e anti-GAPDH (1:10.000, Sigma Aldrich – G9545), *overnight*, a 4 °C. Em seguida, depois da solução bloqueadora por 1 hora, as membranas foram lavadas com solução tampão, 30 minutos. Após isso, a incubação com anticorpo secundário por 1 hora a temperatura ambiente, a emissão de luz foi detectada e visualizada por quimioluminescência. Os resultados foram normalizados pela expressão protéica de GAPDH e expressos em unidades arbitrárias. A captura da imagem das membranas foi realizada em fotodocumentador ImageQuant 350 (GE Healthcare®, Piscata Way, NJ, EUA) e a intensidade das bandas foi quantificada por densitometria óptica através da utilização de programa de análise de intensidade de bandas (ImageJ, National Institute of Mental Health, Bethesda, Maryland).

3.11 Determinação da concentração de nitratos

A formação do óxido nítrico foi verificada através da dosagem dos produtos de oxidação estáveis do metabolismo do óxido nítrico (nitratos). As concentrações de nitrato na veia umbilical limpa e veia umbilical com tecido perivascular, na presença ou ausência de insulina, foram obtidas pela subtração dos valores de nitrito dos valores NOx (nitrito + nitrato). Para a

determinação de NO_x foi utilizada a reação de Griess. O extrato de veias umbilicais foi incubado com nitrato redutase, livres da luz e à 37°C por 12 horas. O reagente de Griess foi adicionado e a leitura realizada por espectrofotometria a 540 nm.

3.12 Análise Estatística

A análise estatística dos resultados obtidos até a presente etapa foi feita com auxílio do programa *Statistical Package for the Social Sciences*® (SPSS) versão 17.0 (SPSS *Incorporation*, 2016). As características clínicas e laboratoriais, além dos resultados das análises *in vitro* foram descritas para toda a amostra. A normalidade das variáveis foi testada pelo teste de Shapiro-Wilk. As variáveis que apresentaram distribuição normal foram representadas por média $\pm$ erro padrão da média (epm). As diferenças entre os grupos para as variáveis quantitativas foram comparadas através do teste t de *student* ou análise de variância de uma via (ANOVA one way) ou duas vias (ANOVA two way) para amostras repetidas, seguido do teste de múltiplas comparações Bonferroni ou do teste tukey. O nível de significância mínima aceitável foi de $p < 0,05$.

4. RESULTADOS

4.1 Caracterização da amostra total e de acordo com a presença de SB/OB no início da gestação

Foram incluídas no presente estudo, amostras de cordão umbilical de 57 gestantes. Destes 12 foram excluídos de acordo com os critérios de exclusão estabelecidos e 5 foram utilizados para padronização do protocolo experimental, portanto utilizamos 40 cordões reatividade da veia realização de testes moleculares.

Com o objetivo de avaliar a influência do SB/OB no início da gestação sobre os parâmetros obtidos, as gestantes foram distribuídas em dois grupos de acordo com estado nutricional no início do acompanhamento obstétrico: grupo controle (IMC<25) e grupo SB/OB (IMC≥25). A média de idade das gestantes que compõem estes grupos foi semelhante (idade em anos: $28,19 \pm 4,30$ no grupo controle e $29,29 \pm 5,54$ no grupo sobrepeso/obesos).

Tabela 4. Caracterização da amostra total e dos grupos controle e SB/OB.

Variável	Amostra Total	Grupos (n)	Média (DP)	P
Idade (anos)	$28,76 \pm 4,96$	Controle (26) Sobrepeso/obesos (28)	$28,19 \pm 4,30$ $29,29 \pm 5,54$	0,424
IMC (Kg/m ²)	$24,96 \pm 3,91$	Controle (26) Sobrepeso/obesos (28)	$21,60 \pm 1,85$ $28,07 \pm 2,45$	0,000*
Pressão arterial sistólica (mmHg)	$114,50 \pm 11,48$	Controle (26) Sobrepeso/obesos (28)	$116,20 \pm 11,06$ $113,00 \pm 11,84$	0,306
Pressão arterial diastólica (mmHg)	$75,56 \pm 10,81$	Controle (26) Sobrepeso/obesos (28)	$74,96 \pm 9,29$ $76,11 \pm 12,20$	0,701
Peso do recém-nascido (kg)	$3,45 \pm 0,52$	Controle (27) Sobrepeso/obesos (28)	$3,31 \pm 0,52$ $3,59 \pm 0,51$	0,039*
Comprimento do recém-nascido (cm)	$49,31 \pm 1,82$	Controle (26) Sobrepeso/obesos (26)	$48,92 \pm 1,85$ $49,69 \pm 1,74$	0,129

Valores apresentam a média $\pm$ dp. **mmHg**: milímetro de mercúrio. **DP**: desvio padrão. **n**: número amostral. A diferença entre os grupos foi avaliada através do teste T de *Student*. * $p < 0,05$.

Os valores de pressão arterial sistólica ($116,20 \pm 11,06$ no grupo controle e $113,00 \pm 11,84$ no grupo SB/OB) e diastólica ($74,96 \pm 9,29$ no grupo controle e $76,11 \pm 12,20$ no grupo SB/OB) obtidos na hora do parto, permitiram classificar as pacientes como normotensas, de

acordo com as Diretrizes da Sociedade Brasileira de Cardiologia (SBC, 2016). Não foram observadas diferenças estatísticas entre os grupos avaliados no que se refere a este parâmetro. Em relação aos parâmetros avaliados nos recém-nascidos, os valores de peso ($3,31 \pm 0,52$ no grupo controle e $3,59 \pm 0,51$ no grupo SB/OB) foram estatisticamente maiores para os recém-nascidos de gestantes do grupo SB/OB do que para recém-nascidos de gestantes do grupo controle. A variável comprimento do recém-nascido ($48,92 \pm 1,85$ no grupo controle e $49,69 \pm 1,74$ no grupo SB/OB) não apresentou diferença significativa entre os grupos.

4.2 Caracterização da amostra de acordo com o ganho de peso durante o período gestacional

As gestantes foram divididas em dois grupos de acordo com seu ganho de peso durante a gravidez: grupo com ganho de peso ideal (controle) e grupo com GPE (GPE). No final do período gestacional, do total de pacientes que participaram do estudo, 21 gestantes permaneceram na faixa de ganho de peso considerado normal (controle), enquanto 22 gestantes ultrapassaram a faixa de ganho de peso ideal (GPE).

No que se refere aos valores da idade, pressão arterial sistólica e diastólica não houve diferença entre os grupos (Tabela 5). Além disso, foi possível verificar que as pacientes do grupo GPE, assim como as pacientes do grupo SB/OB foram consideradas normotensas. No entanto, os recém-nascidos de gestantes do grupo GPE apresentaram peso e comprimento significativamente maior do que recém-nascidos de gestantes do grupo controle.

Tabela 5. Caracterização dos grupos controle e GPE.

Variável	Grupos (n)	Média (DP)	P
Idade (anos)	Controle (21)	28,38 ± 4,72	0,523
	GPE (22)	27,41 ± 5,16	
Ganho de peso (Kg/m ²)	Controle (21)	11,62 ± 4,22	0,000*
	GPE (22)	17,89 ± 4,95	
Pressão arterial sistólica (mmHg)	Controle (21)	115,80 ± 11,97	0,659
	GPE (22)	117,40 ± 10,95	
Pressão arterial diastólica (mmHg)	Controle (21)	72,81 ± 8,38	0,117
	GPE (22)	78,00 ± 12,38	
Peso do recém-nascido (kg)	Controle (21)	3,21 ± 0,52	0,004*
	GPE (22)	3,69 ± 0,53	
Comprimento do recém-nascido (cm)	Controle (20)	48,65 ± 1,81	0,014*
	GPE (22)	50,18 ± 2,04	

Valores representam a média ± dp. **mmHg**: milímetro de mercúrio. **DP**: desvio padrão. **n**: número amostral. A diferença entre os grupos foi avaliada através do teste T de *Student*. * p<0,05.

4.3 Avaliação da tolerância oral a glicose

Na realização do teste oral de tolerância à glicose, os valores da glicemia em jejum permitiram classificar as gestantes que compõem este estudo como normoglicêmicas. Porém, ao avaliarmos a área sob a curva do teste oral de tolerância a glicose foi possível verificar uma diferença significativa entre os três grupos avaliados. De acordo com a análise das curvas foi possível verificar que tanto no tempo de 1 hora quanto no tempo de 2 horas após a sobrecarga de glicose, o valor de glicemia observado nos grupos sobrepeso/obeso e GPE foi significativamente maior quando comparado ao grupo controle (Figura 6, tabela 6).

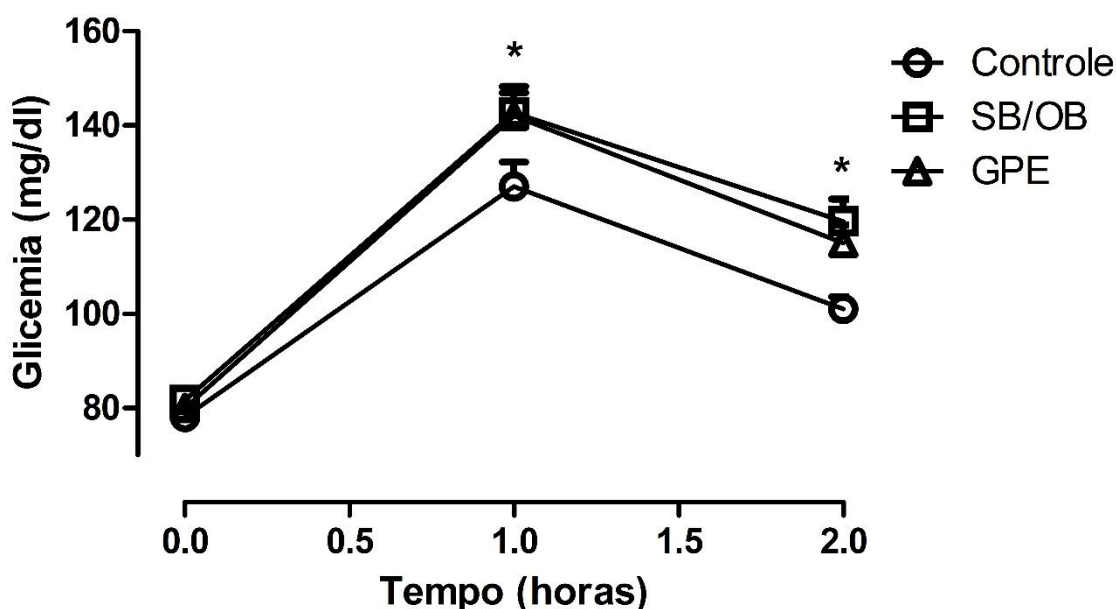


Figura 6: Curva de Teste Oral de Tolerância à Glicose. Foi calculado a área total sob a curva da concentração plasmática de glicose em condições basais (jejum), 1ª hora e 2ª hora após sobrecarga de glicose ingerida. Cada ponto representa a média $\pm$ epm. Anova two way com medidas repetidas, seguido pelo teste post hoc de bonferroni.

Tabela 6. Valores de glicemia observados nos tempos 0, 1 e 2 horas após sobrecarga de glicose ingerida.

	Controle	Sobrepeso/obeso		GPE	
	Glicemia	Glicemia	IC 95 %	Glicemia	IC 95%
Jejum	78,12	81,68	-8.375 - 15.50	80,06	-11.11 - 14.98
1	127,0	142,7*	2.276 - 29.00	142,0*	0.06085 - 29.84
2	101,0	119,6*	5.223 - 31.94	115,1*	-0.8622 - 28.92

Valores de glicemia representam a média. IC 95%: intervalo de confiança de 95%. * $p < 0,05$ vs controle.

4.4 Avaliação da contração ao cloreto de potássio em veias umbilicais isoladas

A resposta contrátil induzida pelo KCl foi semelhante nas veias umbilicais no grupo controle ($9,015 \pm 0,663$), sobrepeso ($9,347 \pm 0,969$) e GPE ($9,836 \pm 0,879$) (Figura 7).

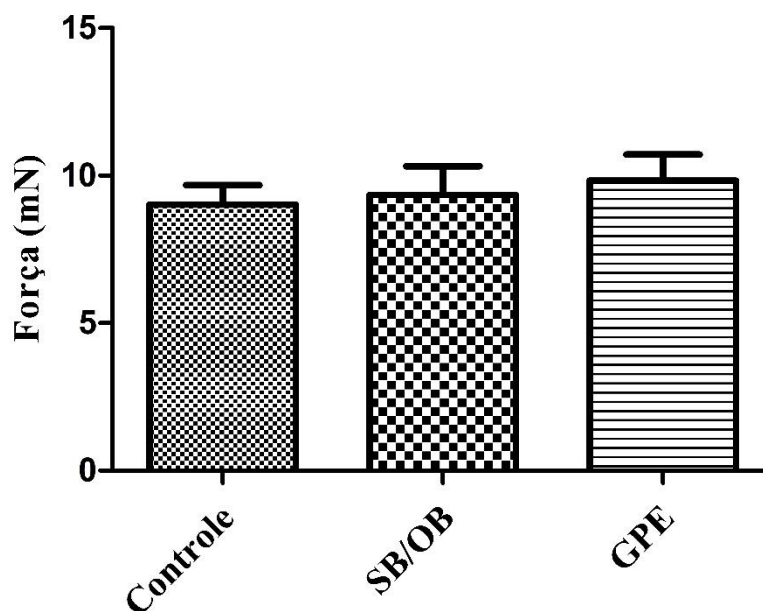


Figura 7: Contração ao Cloreto de Potássio (KCl) em veias umbilicais isoladas de gestantes controle (n=13), SB/OB (n=10) e GPE (n=17). Cada ponto representa a média $\pm$ epm.

4.5 Avaliação do relaxamento à insulina em veias umbilicais isoladas

A insulina induziu relaxamento dependente de concentração em veias umbilicais limpas nos 3 grupos avaliados. Entretanto, o grupo sobrepeso/obeso e o grupo GPE apresentaram aumento significativo na taxa de relaxamento induzido pela insulina quando comparados ao grupo controle (Figura 8, Tabela 7).

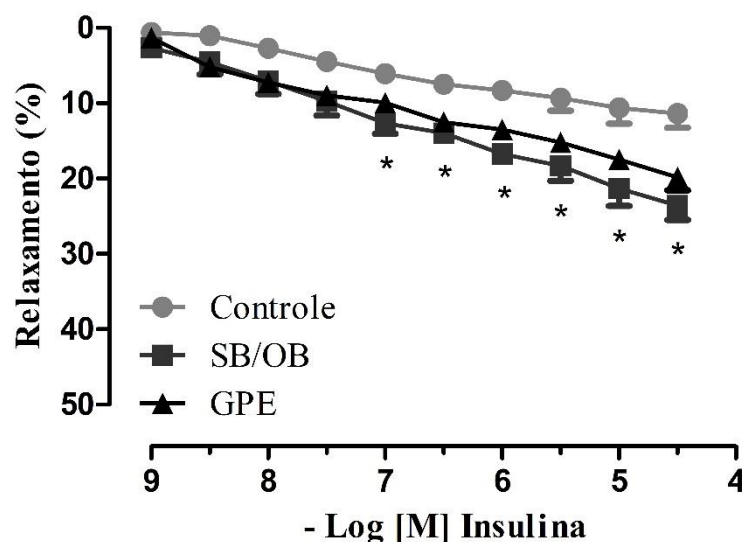


Figura 8: Curvas concentração-efeito à insulina em veias umbilicais isoladas de cordões umbilicais de gestantes controle, SB/OB e GPE. Cada ponto representa $\pm$ epm.

Tabela 7. Porcentagens de relaxamento à Insulina em veias umbilicais limpas isoladas de gestantes controle, sobrepeso/obeso e GPE.

Concentração	Controle	SB/OB	GPE
10^{-9}	$0,666 \pm 0,666$	$2,731 \pm 1,293$	$1,344 \pm 0,573$
3×10^{-9}	$1,072 \pm 0,657$	$4,593 \pm 1,626$	$5,256 \pm 0,561$
10^{-8}	$2,762 \pm 0,902$	$7,092 \pm 1,733$	$7,288 \pm 0,884$
3×10^{-8}	$4,517 \pm 0,802$	$9,797 \pm 1,901$	$9,003 \pm 0,876$
10^{-7}	$6,155 \pm 0,820$	$12,694 \pm 1,398^*$	$9,959 \pm 0,863$
3×10^{-7}	$7,512 \pm 0,942$	$13,986 \pm 1,350^*$	$12,567 \pm 0,848$
10^{-6}	$8,375 \pm 1,240$	$16,766 \pm 1,195^*$	$13,528 \pm 1,179$
3×10^{-6}	$9,382 \pm 1,639$	$18,346 \pm 1,991^*$	$15,249 \pm 1,131^*$
10^{-5}	$10,649 \pm 2,107$	$21,378 \pm 2,297^*$	$17,517 \pm 1,164^*$
3×10^{-5}	$11,409 \pm 1,919$	$23,648 \pm 1,865^*$	$19,904 \pm 1,701^*$

Cada ponto representa a média $\pm$ epm. Two-way ANOVA com pós-teste Bonferroni. * $p < 0,05$ vs controle.

4.6 Avaliação do relaxamento à insulina, após incubação com solução perivascular, em veias umbilicais isoladas com e sem tecido perivascular

Ao analisarmos as curvas de concentração-efeito à insulina em gestantes do grupo controle, observamos que não houve diferença significativa no relaxamento das veias umbilicais sem tecido perivascular (PV -) e com tecido perivascular (PV +), porém, os anéis vasculares limpos que foram incubados com solução perivascular apresentaram aumento significativo na taxa de relaxamento induzido pela insulina quando comparados aos anéis vasculares com e sem tecido perivascular. (Figura 9, Tabela 8).

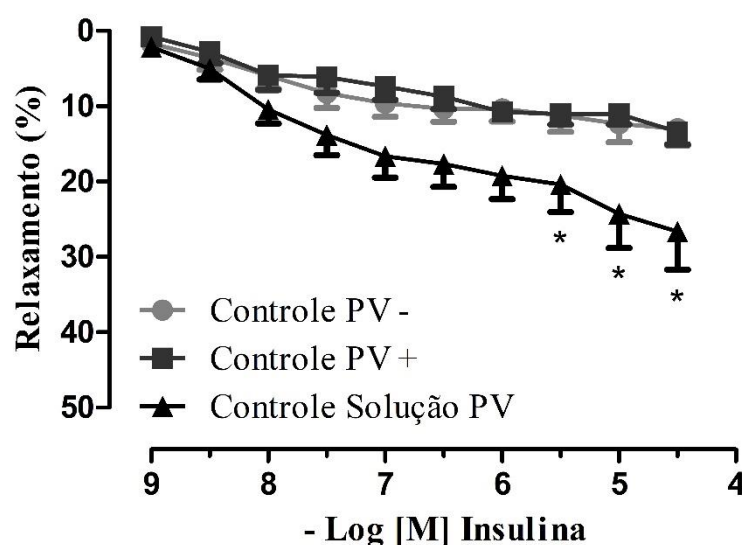


Figura 9: Curvas concentração-efeito à insulina, após incubação com solução perivascular, em veias umbilicais isoladas de cordões umbilicais de gestantes controle. Cada ponto representa $\pm$ epm.

Tabela 8: Porcentagens de relaxamento à Insulina em veias umbilicais isoladas de gestantes controle.

Concentração	PV-	PV+	Solução PV
10^{-9}	$1,720 \pm 1,186$	$0,816 \pm 0,816$	$2,198 \pm 0,984$
3×10^{-9}	$3,657 \pm 1,556$	$2,837 \pm 1,519$	$5,073 \pm 1,454$
10^{-8}	$6,007 \pm 1,749$	$5,907 \pm 1,964$	$10,496 \pm 1,836$
3×10^{-8}	$8,333 \pm 1,988$	$6,177 \pm 2,110$	$13,875 \pm 2,662$
10^{-7}	$9,665 \pm 1,775$	$7,447 \pm 1,755$	$16,672 \pm 2,830$
3×10^{-7}	$10,375 \pm 1,752$	$8,767 \pm 1,664$	$17,695 \pm 3,049$
10^{-6}	$10,372 \pm 1,708$	$10,828 \pm 1,199$	$19,282 \pm 3,112$
3×10^{-6}	$11,262 \pm 2,178$	$11,074 \pm 1,399$	$20,436 \pm 3,649 \#$
10^{-5}	$12,391 \pm 2,448$	$11,074 \pm 1,399$	$24,321 \pm 4,556 * \#$
3×10^{-5}	$13,024 \pm 2,250$	$13,436 \pm 1,678$	$26,690 \pm 5,038 * \#$

Cada ponto representa a média $\pm$ epm. Two-way ANOVA com pós-teste Bonferroni. * $p < 0,05$ vs PV-. # $p < 0,05$ vs PV+.

A análise das curvas de relaxamento à insulina das gestantes do grupo sobrepeso/obeso evidenciou que a resposta relaxante promovida pela insulina foi significativamente maior em veias umbilicais com o tecido perivascular preservado (PV +) quando comparada à observada em veias limpas (PV -) e em veias limpas que foram incubadas com solução perivascular (Solução PV) (Figura 10, Tabela 9).

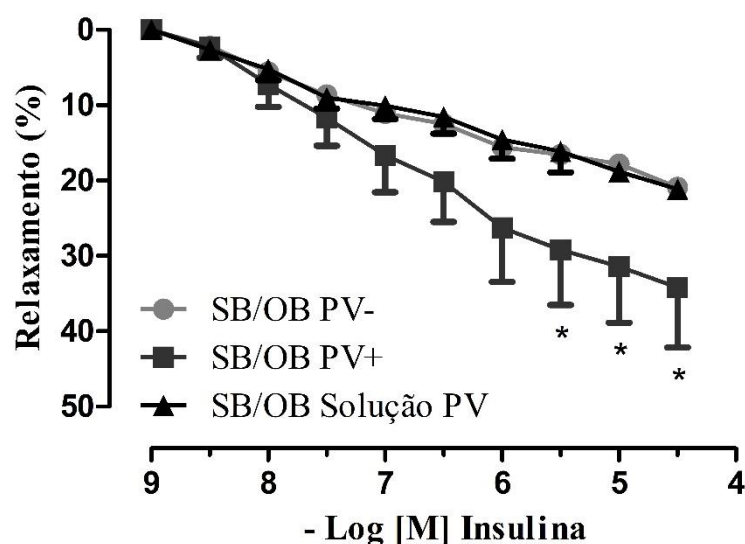


Figura 10: Curvas concentração-efeito à insulina, após incubação com solução perivascular em veias umbilicais isoladas de cordões umbilicais de gestantes SB/OB. Cada ponto representa $\pm$ epm.

Tabela 9: Porcentagens de relaxamento à Insulina após incubação com solução perivascular em veias umbilicais isoladas de gestantes SB/OB.

Concentração	PV-	PV+	Solução PV
10^{-9}	$0,000 \pm 0,000$	$0,000 \pm 0,000$	$0,000 \pm 0,000$
3×10^{-9}	$2,264 \pm 1,192$	$2,338 \pm 1,456$	$2,719 \pm 1,174$
10^{-8}	$5,647 \pm 1,007$	$7,302 \pm 2,963$	$5,232 \pm 1,500$
3×10^{-8}	$8,701 \pm 1,172$	$11,750 \pm 3,705$	$9,072 \pm 1,427$
10^{-7}	$11,126 \pm 1,185$	$16,708 \pm 4,885$	$10,122 \pm 1,767$
3×10^{-7}	$12,535 \pm 1,218$	$20,189 \pm 5,355$	$11,611 \pm 2,204$
10^{-6}	$15,640 \pm 0,969$	$26,298 \pm 7,180$	$14,604 \pm 2,535$
3×10^{-6}	$16,600 \pm 0,704$	$29,226 \pm 7,307$ *#	$16,202 \pm 2,762$
10^{-5}	$17,864 \pm 0,478$	$31,456 \pm 7,449$ *#	$18,881 \pm 0,954$
3×10^{-5}	$20,965 \pm 0,971$	$34,242 \pm 7,939$ *#	$21,171 \pm 1,323$

Cada ponto representa a média $\pm$ epm. Two-way ANOVA com pós-teste Bonferroni. * $p < 0,05$ vs PV-. # $p < 0,05$ vs solução PV.

Nas gestantes do grupo GPE a resposta relaxante promovida pela insulina foi significativamente maior em veias umbilicais limpas que foram incubadas com solução perivascular (solução PV) quando comparada à observada em veias limpas (PV -) e em veias com tecido perivascular preservado (PV +) (Figura 11, Tabela 10).

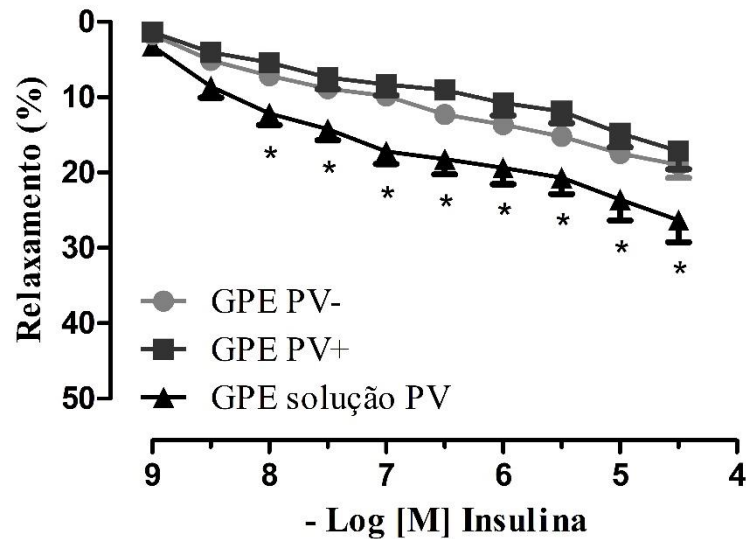


Figura 11: Curvas concentração-efeito à insulina, após incubação com solução perivascular em veias umbilicais isoladas de cordões umbilicais de gestantes GPE. Cada ponto representa $\pm$ epm.

Tabela 10: Porcentagens de relaxamento à Insulina após incubação com solução perivascular em veias umbilicais isoladas de gestantes GPE.

Concentração	PV-	PV+	Solução PV
10^{-9}	$1,756 \pm 0,529$	$1,411 \pm 0,553$	$3,256 \pm 0,952$
3×10^{-9}	$5,173 \pm 0,478$	$4,112 \pm 0,931$	$8,655 \pm 1,440$
10^{-8}	$7,181 \pm 0,798$	$5,448 \pm 1,071$	$12,196 \pm 1,532\#$
3×10^{-8}	$8,919 \pm 0,686$	$7,438 \pm 1,537$	$14,304 \pm 1,408\#$
10^{-7}	$9,882 \pm 0,775$	$8,379 \pm 1,408$	$17,235 \pm 1,699\#*$
3×10^{-7}	$12,356 \pm 1,145$	$9,105 \pm 1,344$	$18,250 \pm 2,037\#$
10^{-6}	$13,699 \pm 0,884$	$10,830 \pm 1,668$	$19,439 \pm 2,171\#$
3×10^{-6}	$15,267 \pm 1,181$	$11,905 \pm 1,592$	$20,718 \pm 2,160\#$
10^{-5}	$17,527 \pm 1,351$	$14,845 \pm 1,849$	$23,630 \pm 2,801\#$
3×10^{-5}	$19,008 \pm 1,766$	$17,185 \pm 2,429$	$26,367 \pm 2,914\#*$

Cada ponto representa a média $\pm$ epm. Two-way ANOVA com pós-teste Bonferroni. * $p < 0,05$ vs PV-. # $p < 0,05$ vs PV+.

4.7 Avaliação do relaxamento ao nitroprussiato de sódio em veias umbilicais isoladas

A análise das curvas de relaxamento independente do endotélio induzido pelo NPS mostrou que os grupos SB/OB e GPE apresentaram redução significativa no relaxamento induzido por esse agonista quando comparado ao grupo controle (Figura 12, Tabela 11).

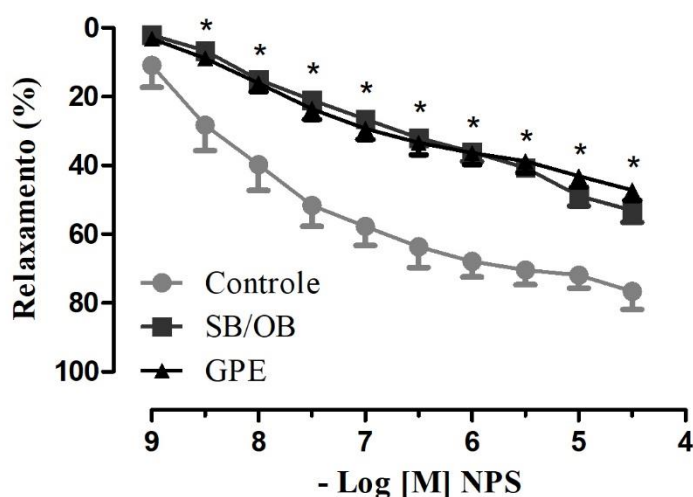


Figura 12: Curvas concentração-efeito ao NPS em veias umbilicais isoladas de cordões umbilicais de gestantes controle, SB/OB e GPE. Cada ponto representa $\pm$ epm.

Tabela 11: Porcentagens de relaxamento ao NPS em veias umbilicais limpas isoladas de gestantes controle, SB/OB e GPE.

Concentração	Controle	SB/OB	GPE
10^{-9}	10,974 $\pm$ 6,375	2,197 $\pm$ 1,275	3,160 $\pm$ 0,998
3×10^{-9}	28,383 $\pm$ 7,432	6,727 $\pm$ 2,083*	8,922 $\pm$ 1,912*
10^{-8}	39,867 $\pm$ 7,508	15,122 $\pm$ 0,903*	16,187 $\pm$ 2,508*
3×10^{-8}	51,700 $\pm$ 6,132	21,106 $\pm$ 1,687*	23,657 $\pm$ 3,054*
10^{-7}	57,792 $\pm$ 5,561	26,598 $\pm$ 0,340*	29,368 $\pm$ 3,223*
3×10^{-7}	63,792 $\pm$ 5,958	32,085 $\pm$ 1,859*	33,479 $\pm$ 3,471*
10^{-6}	68,011 $\pm$ 4,579	36,146 $\pm$ 2,798*	36,414 $\pm$ 3,452*
3×10^{-6}	70,537 $\pm$ 4,193	40,797 $\pm$ 2,546*	38,842 $\pm$ 3,413*
10^{-5}	71,992 $\pm$ 3,821	48,944 $\pm$ 2,949*	43,215 $\pm$ 3,249*
3×10^{-5}	76,739 $\pm$ 5,216	53,226 $\pm$ 3,385*	47,299 $\pm$ 2,968*

Cada ponto representa a média $\pm$ epm. Two-way ANOVA com pós-teste Bonferroni. * $p < 0,05$ vs controle.

4.8 Avaliação do relaxamento ao NPS após incubação com solução perivascular em veias umbilicais isoladas

Ao analisarmos as curvas concentração-efeito ao NPS em gestantes do grupo controle, houve uma redução significativa no relaxamento de veias umbilicais com o tecido perivascular preservado (PV +) e veias umbilicais limpas que foram incubadas com solução perivascular (Solução PV) em comparação com veias umbilicais limpas (PV -). (Figura 13, Tabela 12).

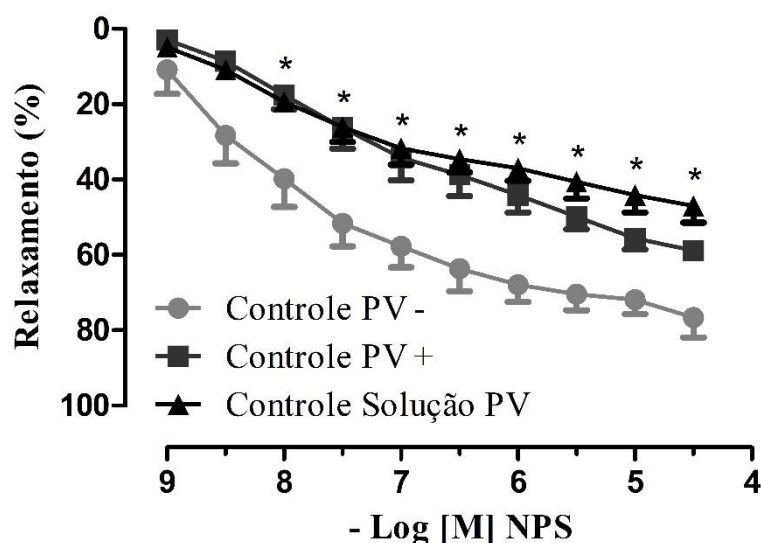


Figura 13: Curvas concentração-efeito ao NPS, após incubação com solução perivascular, em veias umbilicais isoladas de cordões umbilicais de gestantes controle. Cada ponto representa $\pm$ epm.

Tabela 12: Porcentagens de relaxamento ao NPS após incubação com solução perivascular em veias umbilicais isoladas de gestantes controle.

Concentração	PV-	PV+	Solução PV
10^{-9}	$10,974 \pm 6,375$	$2,985 \pm 1,434$	$4,949 \pm 2,021$
3×10^{-9}	$28,383 \pm 7,432$	$8,631 \pm 1,359^*$	$11,006 \pm 2,116$
10^{-8}	$39,867 \pm 7,508$	$17,633 \pm 3,085^*$	$19,500 \pm 2,577^*$
3×10^{-8}	$51,700 \pm 6,132$	$26,382 \pm 5,559^*$	$26,153 \pm 3,997^*$
10^{-7}	$57,792 \pm 5,561$	$34,287 \pm 6,051^*$	$31,841 \pm 4,303^*$
3×10^{-7}	$63,792 \pm 5,958$	$38,833 \pm 5,626^*$	$34,691 \pm 3,466^*$
10^{-6}	$68,011 \pm 4,579$	$44,199 \pm 4,615^*$	$37,127 \pm 3,313^*$
3×10^{-6}	$70,537 \pm 4,193$	$49,931 \pm 3,318^*$	$40,708 \pm 4,420^*$
10^{-5}	$71,992 \pm 3,821$	$55,662 \pm 3,022$	$44,189 \pm 4,611^*$
3×10^{-5}	$76,739 \pm 5,216$	$58,890 \pm 2,268$	$47,068 \pm 4,459^*$

Cada ponto representa a média $\pm$ epm. Two-way ANOVA com pós-teste Bonferroni. * $p < 0,05$ vs PV-.

O relaxamento promovido por NPS em veias umbilicais de gestantes do grupo SB/OB foi semelhante, porém houve diminuição significativa na taxa de relaxamento observada apenas na concentração de 3×10^{-7} em veias com tecido perivascular preservado (PV +) quando comparado com veias limpas que foram incubadas com solução perivascular (Solução PV), (Figura 14, Tabela 13).

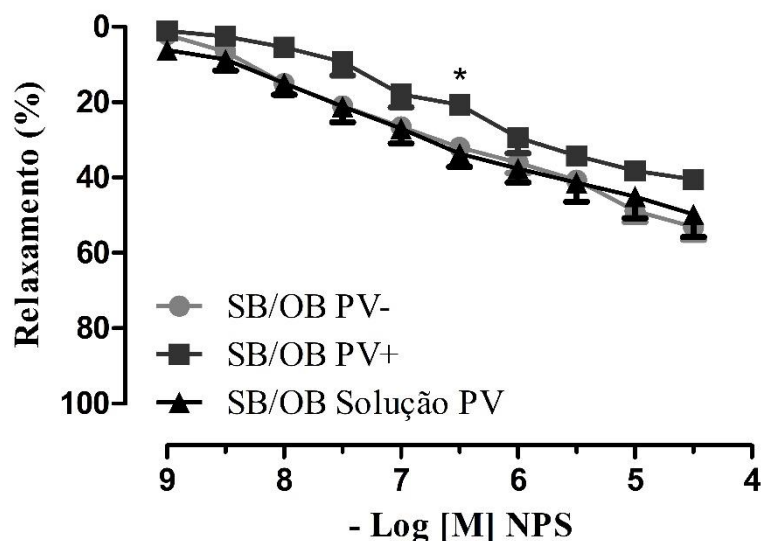


Figura 14: Curvas concentração-efeito ao NPS, após incubação com solução perivascular, em veias umbilicais isoladas de cordões umbilicais de gestantes SB/OB. Cada ponto representa $\pm$ epm.

Tabela 13: Porcentagens de relaxamento ao NPS após incubação com solução perivascular em veias umbilicais isoladas de gestantes SB/OB.

Concentração	PV-	PV+	Solução PV
10^{-9}	$2,197 \pm 1,275$	$1,143 \pm 1,143$	$6,266 \pm 2,549$
3×10^{-9}	$6,727 \pm 2,083$	$2,669 \pm 1,661$	$8,794 \pm 2,948$
10^{-8}	$15,122 \pm 0,903$	$5,480 \pm 2,646$	$15,059 \pm 3,064$
3×10^{-8}	$21,106 \pm 1,687$	$9,414 \pm 3,627$	$21,288 \pm 4,111$
10^{-7}	$26,598 \pm 0,340$	$18,050 \pm 3,384$	$27,079 \pm 3,953$
3×10^{-7}	$32,085 \pm 1,859$	$20,806 \pm 2,414^*$	$33,719 \pm 3,546$
10^{-6}	$36,146 \pm 2,798$	$29,489 \pm 4,149$	$37,758 \pm 3,657$
3×10^{-6}	$40,797 \pm 2,546$	$34,325 \pm 2,150$	$41,407 \pm 5,151$
10^{-5}	$48,944 \pm 2,949$	$38,288 \pm 0,886$	$45,140 \pm 5,699$
3×10^{-5}	$53,226 \pm 3,385$	$40,630 \pm 0,413$	$49,871 \pm 6,040$

Cada ponto representa a média $\pm$ epm. Two-way ANOVA com pós-teste Bonferroni. * $p < 0,05$ vs Solução PV.

No grupo de gestantes com GPE não houve diferença significativa na taxa de relaxamento induzida por NPS em veias umbilicais limpas (PV -), com o tecido perivascular preservado (PV +) e em veias umbilicais limpas que foram incubadas com solução perivascular (Solução PV) (Figura 15, Tabela 14).

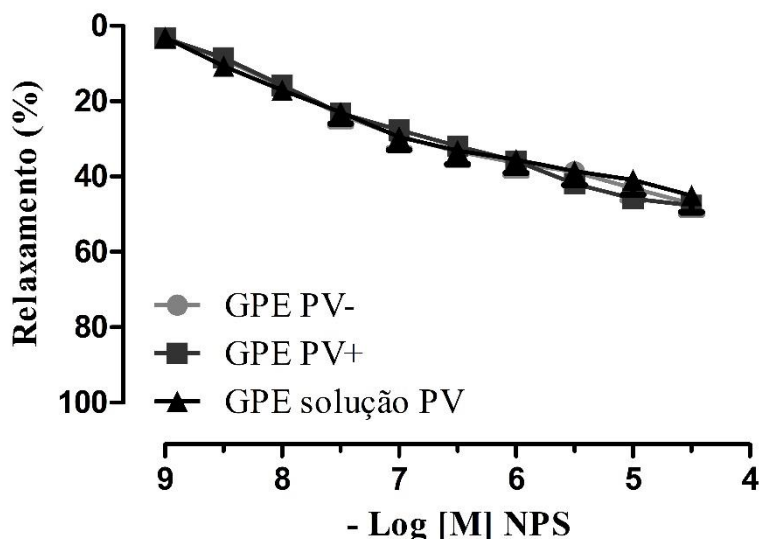


Figura 15: Curvas concentração-efeito ao NPS, após incubação com solução perivascular, em veias umbilicais isoladas de cordões umbilicais de gestantes GPE. Cada ponto representa $\pm$ epm.

Tabela 14: Porcentagens de relaxamento ao NPS após incubação com solução perivascular em veias umbilicais isoladas de gestantes GPE.

Concentração	PV-	PV+	Solução PV
10^{-9}	$3,160 \pm 0,998$	$3,375 \pm 1,141$	$3,154 \pm 0,572$
3×10^{-9}	$8,922 \pm 1,912$	$8,569 \pm 1,818$	$10,802 \pm 2,256$
10^{-8}	$16,187 \pm 2,508$	$15,893 \pm 2,353$	$17,134 \pm 2,480$
3×10^{-8}	$23,657 \pm 3,054$	$23,255 \pm 2,526$	$23,042 \pm 2,993$
10^{-7}	$29,368 \pm 3,223$	$27,699 \pm 2,323$	$29,538 \pm 3,426$
3×10^{-7}	$33,479 \pm 3,471$	$32,013 \pm 2,570$	$33,201 \pm 3,614$
10^{-6}	$36,414 \pm 3,452$	$35,999 \pm 2,461$	$35,626 \pm 3,467$
3×10^{-6}	$38,842 \pm 3,413$	$42,013 \pm 2,091$	$38,651 \pm 3,710$
10^{-5}	$43,215 \pm 3,249$	$45,971 \pm 1,729$	$40,985 \pm 3,934$
3×10^{-5}	$47,299 \pm 2,968$	$47,746 \pm 1,904$	$45,131 \pm 4,317$

Cada ponto representa a média $\pm$ epm. Two-way ANOVA com pós-teste Bonferroni. * $p < 0,05$ vs PV+.

4.9 Expressão proteica de eNOS no tecido perivascular de veias do cordão umbilical

Ao analisarmos a expressão da eNos no tecido perivascular foi possível observar redução da expressão nos grupos SB/OB ($0,2534 \pm 0,0241$) e GPE ($0,3060 \pm 0,0149$) quando comparados ao grupo controle ($0,4205 \pm 0,0161$) [Unidades arbitrárias (U.A.); $P < 0,05$] (Figura 16).

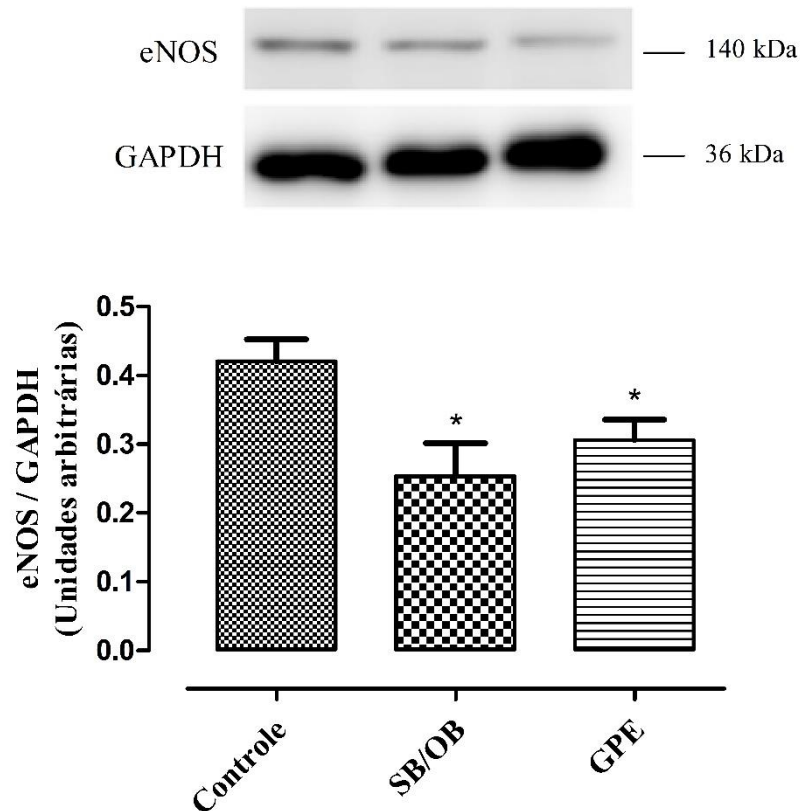


Figura 16: Expressão de eNOS total no tecido perivascular que circunda as veias de cordão umbilical. Na parte superior, imagens representativas do Western Blotting. Na parte inferior, os gráficos mostram a análise densitométrica correspondente à razão de eNOS em função do Ponceau, usado como normalizador (n= 4/grupo). Cada ponto representa a média $\pm$ epm. Oneway ANOVA com pós-teste Tukey. * $p < 0,05$ vs controle.

4.10 Determinação das concentrações de nitrato em veias umbilicais

Ao avaliarmos os gráficos de NOx para a veia umbilical limpa observamos um aumento nas concentrações de NO nos grupos SP/OB ($26,000 \pm 1,254$) e GPE ($27,317 \pm 2,210$) em relação ao grupo controle ($10,967 \pm 1,254$). Em gestantes controle foi observado um aumento significativo das concentrações de NO nos vasos incubados com insulina ($18,750 \pm 1,622$) em relação aos vasos com o veículo ($10,967 \pm 1,254$). Além disso, os vasos incubados com insulina também apresentaram aumento significativo nas concentrações de NO nos grupos SP/OB ($26,817 \pm 1,466$) e GPE ($29,617 \pm 1,735$) em relação ao grupo controle ($18,750 \pm 1,622$) (Figura 17).

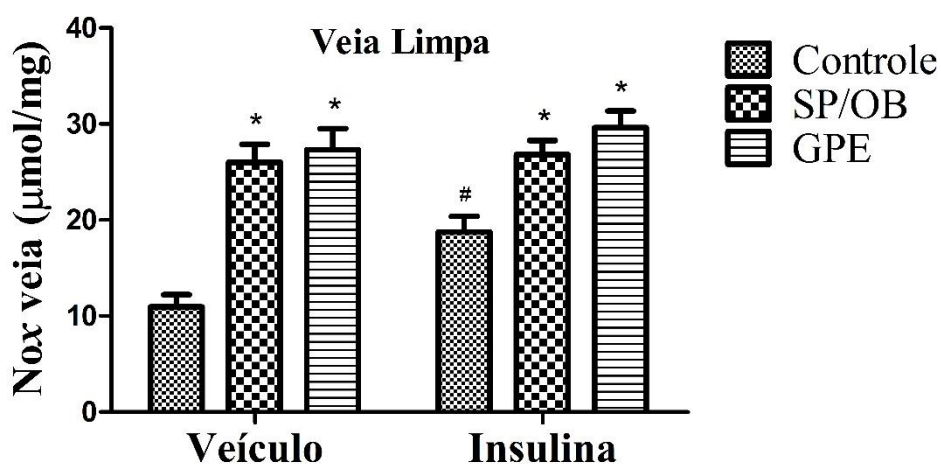


Figura 17: Concentrações de nitrato em veias limpas na ausência e na presença de Insulina isoladas de gestantes controle (n=6), SB/OB (n=6) e GPE (n=6). Cada ponto representa a média $\pm$ epm. Twoway ANOVA com pós-teste Tukey. * $p < 0,05$ vs controle. # $p < 0,05$ vs controle/veículo.

Em gestantes controle as concentrações de NO foram semelhantes nas veias umbilicais limpas na presença de veículo ($10,967 \pm 1,254$) e nas veias umbilicais com tecido perivascular na presença de veículo ($11,617 \pm 0,999$). Os vasos limpos incubados com insulina ($10,967 \pm 1,254$) apresentaram aumento significativo nas concentrações de NO em relação aos vasos limpos na presença de veículo ($18,750 \pm 1,622$). Os vasos com tecido perivascular preservado incubados com insulina ($34,133 \pm 1,666$) apresentaram aumento significativo nas concentrações de NO em relação a vasos com tecido perivascular preservado na presença de veículo ($11,617 \pm 0,999$). Além disso, os vasos com tecido perivascular preservado incubados com insulina ($34,133 \pm 1,666$) apresentaram aumento significativo nas concentrações de NO em relação ao vasos limpos incubados com insulina ($10,967 \pm 1,254$) (figura 18).

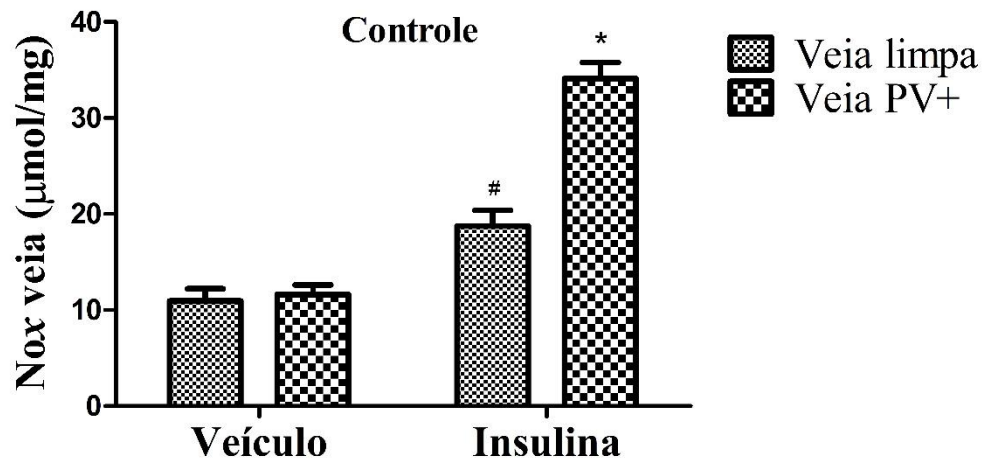


Figura 18: Concentrações de nitrato em veias limpas e com tecido perivascular na ausência e na presença de Insulina isoladas de gestantes controle ($n=6$). Cada ponto representa a média $\pm$ epm. Twoway ANOVA com pós-teste Tukey. * $p < 0,05$ vs controle.

Em gestantes SB/OB as concentrações de NO foram semelhantes nas veias umbilicais limpas na presença de veículo ($26,000 \pm 1,897$) e nas veias umbilicais com tecido perivascular na presença de veículo ($22,383 \pm 2,637$). Os vasos com tecido perivascular preservado incubados com insulina ($27,750 \pm 1,754$) também apresentaram concentrações de NO semelhantes aos vasos limpos incubados com insulina ($26,817 \pm 1,466$). Não houve diferença nas concentrações de NO entre os vasos incubados com insulina e vasos com veículo (figura 19).

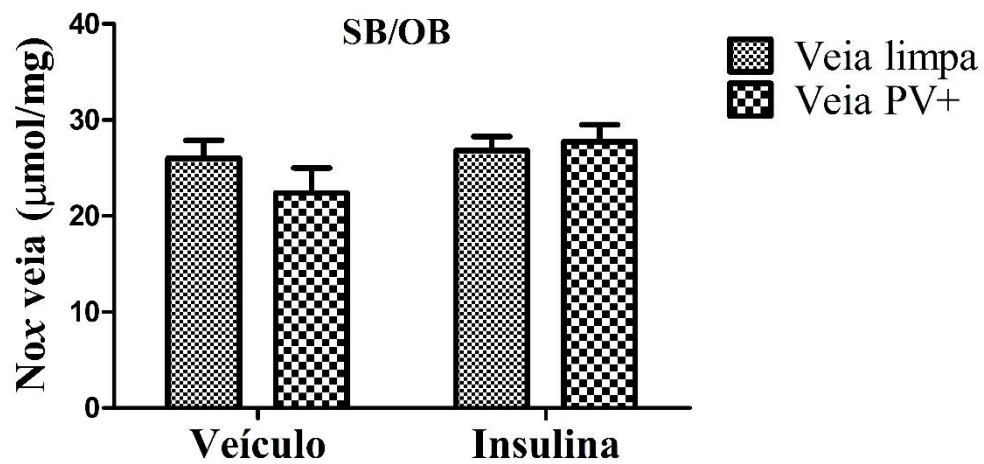


Figura 19: Concentrações de nitrato em veias limpas e com tecido perivascular na ausência e na presença de Insulina isoladas de gestantes SB/OB (n=6). Cada ponto representa a média $\pm$ epm. Twoway ANOVA com pós-teste Tukey. * $p < 0,05$ vs controle.

No grupo de gestantes GPE também não houve diferença significativa nas concentrações de NO nas veias umbilicais limpas na presença de veículo ($27,317 \pm 2,210$) e nas veias umbilicais com tecido perivascular na presença de veículo ($30,233 \pm 2,103$). Os vasos com tecido perivascular preservado incubados com insulina ($27,783 \pm 2,415$) também apresentaram concentrações de NO semelhantes aos vasos limpos incubados com insulina ($30,233 \pm 2,103$). Não houve diferença nas concentrações de NO entre os vasos incubados com insulina e vasos com veículo, assim como foi observado no grupo SB/OB (figura 20).

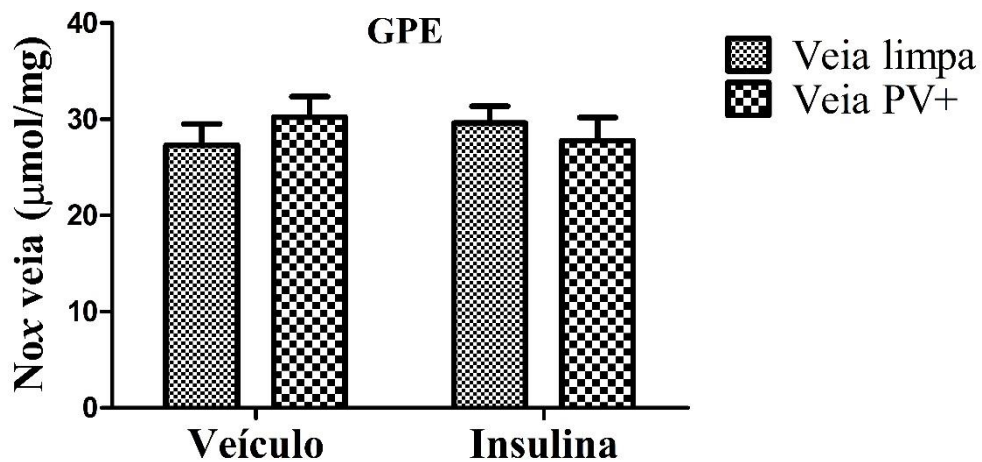


Figura 20: Concentrações de nitrato em veias limpas e com tecido perivascular na ausência e na presença de Insulina isoladas de gestantes GPE (n=6). Cada ponto representa a média $\pm$ epm. Twoway ANOVA com pós-teste Tukey. * $p < 0,05$ vs controle.

5. DISCUSSÃO

Cerca de metade das mulheres nos Estados Unidos iniciam a gestação com sobrepeso ou obesidade e esta situação também tem sido observada em diversos países, como o Brasil. Desde que o Instituto de Medicina estabeleceu as diretrizes para o ganho de peso durante o período gestacional, em 2009, quase metade das mulheres ainda ganham mais peso do que o recomendado de acordo com o seu IMC pré-gestacional (RASMUSSEN, K. M., et al., 2009). As consequências destas condições têm sido descritas tanto no que se refere ao perfil do feto, quanto aos componentes maternos. Nosso estudo demonstrou que um importante componente estrutural do cordão umbilical, o tecido perivascular, exerce papel modulador sobre a resposta relaxante de veias do cordão umbilical, e que este encontra-se alterado em gestantes com sobrepeso/obesidade pré-gestacional, assim como naquelas que apresentaram ganho de peso excessivo durante a gestação.

Sabe-se que a obesidade materna e o ganho de peso acima do recomendado durante a gravidez são fatores que levam ao aumento do risco de obesidade, além de aumento do risco do desenvolvimento de resistência à insulina e marcadores precoces de doenças cardiovasculares na prole em estágios posteriores da vida (GUZMÁN-GUTIÉRREZ et al., 2014). Em nosso estudo, já foi possível verificar a presença de alterações no feto, quanto ao peso e tamanho, que foram maiores nos grupos SB/OB e GPE quando comparados ao grupo controle.

No que se refere à gestante, a obesidade no período gestacional está também associada ao aumento da probabilidade de desenvolvimento de hipertensão arterial e diabetes mellitus gestacional (POSTON et al., 2011). Ao analisarmos os parâmetros de pressão arterial sistólica e diastólica, e a glicemia em jejum, verificamos que não houve diferenças entre os grupos de gestantes. No entanto ao avaliarmos o TOTG, diferenças significativas foram observadas nos tempos 1 e 2 horas após sobrecarga de glicose evidenciando que, supostamente, mesmo que as pacientes não apresentem hiperglicemia em jejum, apresentam tolerância à sobrecarga de glicose diminuída. Li; Chen; Li (2013) descobriram em seu estudo que o ganho de peso da mãe aumentado em camundongos promove um aumento na função de troca de nutrientes, tornando-se necessário um estado fisiológico de resistência à insulina para direcionar preferencialmente os nutrientes maternos para a unidade fetoplacentária, permitindo o crescimento adequado do feto. Quando as mulheres desenvolvem diabetes mellitus gestacional, a resistência à insulina torna-se mais grave e perturba o meio intrauterino, o que resulta em alterações no desenvolvimento fetal.

Os experimentos de reatividade vascular nos anéis de veias umbilicais foram realizados inicialmente utilizando a insulina, vasodilatador dependente do endotélio, que tem sua ação mediada pela via fosfatidilinositol 3-quinase (PI3K), que ativa a enzima NO sintase endotelial (eNOS), levando ao aumento da produção NO pelo endotélio vascular (MUNIYAPPA, 2007). De modo inédito, no presente estudo demonstramos que o tecido perivascular das veias do cordão umbilical exerce um efeito modulador sobre a resposta relaxante destes vasos, uma vez que gestantes do grupo controle obtiveram aumento no relaxamento de vasos limpos incubados com solução perivascular. Estes resultados indicam que o tecido perivascular pode liberar moléculas vasodilatadoras que medeiam o relaxamento vascular. Em outros territórios vasculares, a importância do tecido perivascular na modulação da resposta vascular tem sido amplamente descrita. Lynch et al. (2013) demonstrou em seu estudo a presença de um fator liberado por PVAT que influencia tanto a função endotelial quanto a do músculo liso. No estudo de Lynch, artérias mesentéricas de resistência de camundongos C57BL / 6J foram montadas em um miógrafo, onde a solução do banho de órgãos foi retirada de uma artéria com PVAT e utilizada para substituir a solução de uma artéria sem PVAT, identificando que a solução transferida causa relaxamento significativo de vasos desprovidos de PVAT. Os mecanismos pelos quais isso ocorre precisam ser esclarecidos, um mecanismo que justificaria esses achados é o fato de o tecido adiposo atuar como um órgão endócrino capaz de secretar fatores bioativos que regulam uma ampla variedade de funções fisiológicas, a adiponectina é um desses fatores (FANG; JUDD, 2018). Ela atua sobre os receptores AdipoR1 e AdipoR2, que estão presentes na vasculatura em células endoteliais, CMLV's e adipócitos perivasculares (GUO et al., 2018). A adiponectina possui a capacidade de controlar o tônus vascular local, atuando como um vasodilatador direto, como foi observado em aorta de camundongos (FESUS et. al., 2007).

O entendimento de como o tecido perivascular de vasos do cordão umbilical atua é de grande relevância. Em nosso laboratório, Mello et al. (2018) observou que em condições de SB/OB e GPE há um comprometimento das características estruturais do tecido perivascular. Estas modificações na estrutura vascular podem estar relacionadas a alterações na função vascular. Em gestantes com SB/OB, na presença do tecido perivascular, as veias umbilicais se mostraram mais responsivas do que em veias limpas e em veias incubadas com solução perivascular, diferentemente da resposta encontrada em veias de gestantes controle. Em um estudo utilizando como modelo de obesidade camundongos C57BL / 6J alimentados com dieta hiperglicêmica sem resistência à insulina, diabetes ou hipertensão, foi observado na aorta desses animais um aumento na expressão de iNOS e superprodução de NO. Esses achados indicam um papel importante da iNOS na modulação da resposta anti-contrátil na aorta de animais

obesos. Além disso, isso pode representar um mecanismo compensatório relacionado à obesidade na ausência de outras comorbidades, o que permite melhorar a complacência aórtica em resposta a um fluxo sanguíneo possivelmente aumentado para nutrir tecidos em crescimento (SILVA et al., 2016). Estas observações, associadas ao fato de que as veias das gestantes com SB/OB, avaliadas em nosso estudo, apresentam aumento do relaxamento à insulina, quando comparados ao grupo controle, tanto na presença quanto na ausência do tecido perivascular, indicam um importante papel deste tecido no desenvolvimento de alterações crônicas em componentes envolvidos no controle do tônus e da resposta vascular, a estímulos vasodilatadores.

O controle da pressão arterial, em condições fisiológicas, é proporcionado por variações do sistema vascular, tanto no diâmetro quanto na área total e área da parede da vasculatura, mantendo, assim a homeostase do sistema circulatório (GUYTHON e HALL, 2006). Mello et al. (2018) demonstrou que o excesso de tecido adiposo associado ao sobrepeso/obesidade promove alterações na estrutura de vasos sanguíneos do cordão umbilical, conforme evidenciado pelo aumento do diâmetro, área total, área da parede, área do lúmen e espessura da veia nas porções fetal, medial e placentária. Estudos realizados em outros territórios vasculares demonstraram que o excesso de tecido adiposo está associado com modificações na estrutura dos vasos sanguíneos. Por exemplo, Kappus et al. (2014), ao analisar se o excesso de tecido adiposo está associado com modificações na estrutura dos vasos sanguíneos, encontrou que o diâmetro da carótida aumenta linearmente com o aumento do IMC. A obesidade é acompanhada de maior rigidez deste vaso, assim como outras alterações hemodinâmicas e arteriais consistentes com prejuízo da função arterial e aumento do risco cardiovascular. Realmente, o aumento do diâmetro do lúmen da carótida está relacionado a inúmeros fatores de risco cardiovascular (KOPP et al., 1996). Há uma associação positiva entre o diâmetro do lúmen carotídeo com o infarto agudo do miocárdio, onde, quanto maior for o lúmen na diástole, menor será a elasticidade intrínseca do vaso e, conseqüentemente, maior a será a sua rigidez, explicando a associação positiva (BOTS et al, 2005). Foi demonstrado por Kappus et al. (2014) que o aumento do lúmen arterial de outras artérias do organismo associado ao elevado IMC, pode causar danos severos permanentes, resultando no desenvolvimento de doenças como a aterosclerose e a hipertensão arterial.

O tamanho braquial maior observado em indivíduos com excesso de peso ocorre de modo concomitante com a manutenção do estresse de cisalhamento, o que sugere que o remodelamento da artéria braquial constitui um processo adaptativo no qual a presença de deformação da parede arterial causada pelo estresse de cisalhamento do fluxo sanguíneo na

camada íntima do vaso, resultante da presença de um sítio estenótico, parece estimular o aumento da luz do vaso (CHUNG et al., 2009). Hamburg et al. 2010, ao estudar pacientes severamente obesos, demonstrou que em artérias braquiais houve um remodelamento arterial expansivo com o aumento da obesidade, havendo um aumento do diâmetro da artéria braquial, muito provavelmente para compensar o efeito do estresse de cisalhamento neste vaso, que consequentemente poderá evoluir para a um quadro de aterosclerose, caso a obesidade não seja revertida. Estes resultados sugerem que as alterações arteriais estruturais que ocorrem na obesidade refletem um processo disfuncional destes vasos, o que corrobora os achados do nosso estudo.

A análise do relaxamento de veias umbilicais de gestantes GPE mostrou que o SB/OB no início da gestação afeta de forma diferenciada a resposta desses vasos na presença do tecido perivascular, quando comparado aos efeitos promovidos pelo GPE durante a gestação. A possibilidade de a gestante entrar no período gestacional com seu estado nutricional normal, e durante o período de gestação adquirir peso acima do considerado normal, pode também acarretar complicações inerentes ao tecido adiposo excessivo, mas no que se refere à resposta relaxante das veias do cordão umbilical, estas alterações foram evidenciadas de modo diferente daquele evidenciado em gestantes com sobrepeso ou obesidade. Neste aspecto, vale destacar que o início da gestação com o quadro de obesidade já instalada está associado com alterações no organismo materno provenientes deste estado, como processos inflamatórios crônicos que se originam de substâncias pró-inflamatórias secretadas pelo tecido adiposo, que também tem ações na vasculatura do cordão umbilical (VIRTUE; PUIG, 2010; VANHOUTTE et al., 2012). De fato, trabalhos como os de Vanhoutte (2012), Jamaluddin et al. (2012) e Crew et al. (2016) mostram que o tecido adiposo secreta mediadores pró-inflamatórios que agem na vasculatura, levando a complicações como aumento da resistência vascular periférica, aumento da pressão arterial e até mesmo a aterosclerose.

No que se refere ao balanço energético positivo gerado pelo ganho de peso excessivo, as consequências são mais agudas do que crônicas, de modo que, com a maior quantidade de tecido adiposo que vai se estabelecendo, a curto prazo, existe a maior chance de se desenvolver resistência à insulina (LYER et al., 2010). Estas complicações ocorrem por conta da não metabolização da glicose circulante pelas células presentes nos vasos do cordão umbilical, o que pode afetar negativamente a funcionalidade da vasculatura do cordão umbilical, que por sua vez, sofre alterações na produção de substâncias que agem no controle do funcionamento destes vasos, como Amrithraj (2017) mostra em seu trabalho. De grande relevância, nosso grupo de pesquisa já demonstrou previamente que gestantes que ganham peso em excesso na

gestação já exibem respostas de adaptação estrutural nas veias do cordão umbilical, semelhantes às observadas nas gestantes que iniciaram a gestação com o quadro de sobrepeso/obesidade instalado (MELLO et al., 2018), o que justificaria a presença de alterações também na resposta relaxante das veias umbilicais.

Com a finalidade de avaliar o relaxamento das veias umbilicais em uma via de resposta independente do endotélio, utilizamos como vasodilatador o agente farmacológico nitroprussiato de sódio (NPS). O NPS é considerado um doador direto de NO, sendo composto por Fe^{2+} complexado com NO e cinco ânions cianeto, é degradado espontaneamente em NO, ativando a via NO/GMPc, a qual desencadeia uma cascata de reações que promovem o relaxamento do músculo liso vascular (HOTTINGER et al., 2014). Em nosso estudo, a resposta relaxante de veias umbilicais limpas a esse vasodilatador foi significativamente menor em gestantes SB/OB e GPE em comparação com gestantes controle. A obesidade está intimamente associada ao desenvolvimento de disfunção vascular (STAPLETON, 2008). Em estudo realizado para avaliar a tolerância ao NPS em aorta de camundongos Balb/c foi demonstrado que houve uma diminuição da potência vasodilatadora do NPS ocasionada por um aumento da produção de ânions O_2^- (via NADPH), que desencadeia a ativação de COX-2 e resulta na produção exacerbada de derivados vasoconstritores, $\text{PGF}_{2\alpha}$ e TXA_2 (DINIZ, 2012). Na presença do tecido perivascular, a diminuição da resposta relaxante permaneceu apenas em vasos de gestantes SB/OB. Em gestantes GPE a diferença na resposta relaxante foi abolida em comparação com gestantes controle. Estes resultados, em conjunto com as alterações observadas na resposta à insulina, indicam que os efeitos promovidos pelo sobrepeso ou obesidade pré-gestacional, assim como pelo ganho de peso excessivo na gestação, estão relacionados a alterações no endotélio vascular.

A manutenção do tônus vascular é regulada por uma variedade de mediadores com propriedades vasoconstritoras e vasodilatadoras (ALTHOFF; OFFERMANN, 2015), os quais atuam sobre CMLVs determinando o diâmetro luminal vascular e o fluxo sanguíneo (AMBERG; NAVEDO, 2013). Em gestantes controle, a presença da solução perivascular e do tecido perivascular atenuou a resposta relaxante ao NPS em comparação com veias umbilicais limpas. Isso demonstra que por uma via independente do endotélio, o tecido perivascular de veias umbilicais libera fatores vasoativos que estão modulando negativamente a vasomotricidade destes vasos, além de afetarem a liberação de mediadores pelo endotélio.

Ao dosarmos as concentrações de nitratos em veias umbilicais limpas, observamos concentrações significativamente maiores em gestantes SB/OB e GPE. Estes resultados corroboram com os experimentos de reatividade vascular, que demonstraram aumento

significativo na taxa de relaxamento a insulina em gestantes SB/OB e GPE, ou seja, esse aumento observado na taxa de relaxamento ocorreu devido aos níveis de NO estarem aumentados nos vasos destas gestantes. Porém ao avaliarmos a expressão da enzima eNOS observamos que ela estava menos expressa nesse grupo de gestantes, sugerindo que o aumento de NO é mediado por outra via, como a da iNOS. No entanto, em um estudo que avaliou a função vascular nos primeiros estágios de obesidade em artérias mesentéricas de camundongos, quando as alterações metabólicas são moderadas, verificou aumento na produção de NO pelo PVAT, o qual contribuiria para um aumento do relaxamento vascular, de modo semelhante ao observado com a insulina em nosso estudo. Estes resultados sugerem que mecanismos compensatórios são desenvolvidos para proteger a função vascular nos estágios iniciais da obesidade (GIL-ORTEGA et al., 2010). Esses mecanismos compensatórios são ideais para manter a baixa resistência da circulação feto-placentária, ideal para a troca gasosa e de nutrientes entre a placenta e o feto.

6. CONCLUSÃO

Com os resultados apresentados neste estudo é possível concluir que o tecido perivascular exerce um efeito modulador sobre a resposta relaxante mediada por diferentes agonistas em veias do cordão umbilical. Adicionalmente, observamos que gestantes que apresentam sobrepeso ou obesidade no início do período gestacional ou que ganharam peso excessivo durante a gestação apresentam alterações significativas no efeito modulador exercido pelo tecido perivascular de veias do cordão umbilical.

7. REFERENCIAS

AKOUMIANAKIS, Ioannis; TARUN, Akansha; ANTONIADES, Charalambos. Perivascular adipose tissue as a regulator of vascular disease pathogenesis: identifying novel therapeutic targets. **British journal of pharmacology**, v. 174, n. 20, p. 3411-3424, 2017.

ALTHOFF, T. F.; OFFERMANN, S. G-protein-mediated signaling in vascular smooth muscle cells—implications for vascular disease. *Journal of Molecular Medicine*, v. 93, n. 9, p. 973-981, 2015.

AMBERG, Gregory C.; NAVEDO, Manuel F. Calcium dynamics in vascular smooth muscle. **Microcirculation**, v. 20, n. 4, p. 281-289, 2013.

AMRITHRAJ, A. I.; KODALI, A.; NGUYEN, L.; TEO, A. K. K.; CHANG, C. W.; KARNANI, N.; NG, K. L.; GLUCKMAN, P. D.; CHONG, Y.S.; STUNKEL, W. Gestational diabetes alters functions in offspring's umbilical cord cells with implications for cardiovascular health. **Endocrine Society**. v. 158, n. 1, p. 2102-2112, 2017.

ARMULIK, Annika; ABRAMSSON, Alexandra; BETSHOLTZ, Christer. Endothelial/pericyte interactions. **Circulation research**, v. 97, n. 6, p. 512-523, 2005

ASCHROFT, F. M.; RORSMAN, P. Diabetes mellitus and the β -cell: the Last Ten Years. **Cell**, v. 148, n. 6, p. 1160–1171, 2012.

BARKER, D. J. P. Fetal origins of coronary heart disease. **BMJ**. v. 311, p. 171-174, 1995.

BARKER, D. J. P. The origins of the developmental origins theory. **J Intern Med**. v. 261, n. 5, p. 412-417, 2007.

BENIRSCHKE, K.; KAUFMANN, P.; BAERGEN, R. Pathology of the human placenta. **Springer Science**. 5ª ed, Cap. 12, p. 380-451, 2006.

BOTS, M. L.; GROBBEE, D. E.; HOFMAN, A.; WITTEMAN, J. C. M. Common carotid intima-media thickness and risk of acute myocardial infarction – the role of lumen diameter. **American Heart Association**. v. 36, n. 4, p. 762-767, 2005.

BROWN, N.K. et al. Perivascular adipose tissue in vascular function and disease: a review of current research and animal models. **Arteriosclerosis, thrombosis, and vascular biology**, v. 34, n. 8, p. 1621-1630, 2014.

BURTON, Graham J.; FOWDEN, Abigail L. The placenta: a multifaceted, transient organ. **Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences**, v. 370, n. 1663, p. 20140066, 2015.

CHANG, Lin et al. Paradoxical roles of perivascular adipose tissue in atherosclerosis and hypertension. **Circulation Journal**, p. CJ-12-1393, 2012.

CHONG, Deborah Yeh; MICHEL, Thomas. Farmacologia do tônus vascular. **Golan DE, Tashjian AH, Armstrong EJ, Armstrong AW. Princípios de farmacologia: a base**

fisiopatológica da farmacoterapia. 2a ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, p. 346-7, 2009.

CHUNG, W. B. et al. The brachial artery remodels to maintain local shear stress despite the presence of cardiovascular risk factors. **Arterioscler Thromb Vasc Biol.** v. 29, n. 4, p. 606-612, 2009.

CREW, R. C.; WADDELL, B.J.; MARK, P. J. Maternal obesity induced by a ‘cafeteria’ diet in the rat does not increase inflammation in maternal, placental or fetal tissues in late Gestation. **Placenta.** v. 39, p. 33-40, 2016.

DA COSTA, Rafael Menezes et al. Increased mitochondrial ROS generation mediates the loss of the anti-contractile effects of perivascular adipose tissue in high-fat diet obese mice. **British journal of pharmacology**, v. 174, n. 20, p. 3527-3541, 2017.

DAVIES, J. E.; WALKER, J. T.; KEATING, A. Concise review: Wharton’s jelly: The rich, but enigmatic, source of mesenchymal stromal cells. **Stem Cells Translational Medicine.** v. 6, n. 7, p. 1620-1630, 2017.

DEGUCHI, Shinji; OHASHI, Toshiro; SATO, Masaaki. Tensile properties of single stress fibers isolated from cultured vascular smooth muscle cells. **Journal of biomechanics**, v. 39, n. 14, p. 2603-2610, 2006.

DINIZ, M. C. **A participação do estresse oxidativo e da inflamação na tolerância induzida pelo nitroprussiato de sódio.** 2012 Dissertação (Mestrado em Ciências Biológicas: Fisiologia e Farmacologia) – Universidade Federal de Minas Gerais.

DRAKE, A. J.; WALKER, B. R. The intergenerational effects of fetal programming: non-genomic mechanisms for the inheritance of low birth weight and cardiovascular risk. **Journal of Endocrinology.** v. 180, p. 1-16, 2004.

DUQUE-GUIMARÃES, D. E.; OZANNE, S. E. Nutritional programming of insulin resistance: causes and consequences. **Trends Endocrinol Metab**, v. 24, n. 10, p. 525–535, 2013.

ENCYCLOPÆDIA BRITANNICA, Inc. Seção transversal de uma artéria, 2008. Disponível em: < <https://www.britannica.com/science/tunica-media> > Acessado em: 07 de março de 2018.

FANG, H.; JUDD, R. L. Adiponectin regulation and function. **Compr Physiol**, v. 8: 1031–1063, 2018.

FANG, H.; JUDD, R. L. Adiponectin regulation and function. **Comprehensive Physiology**, v. 8, p. 1031-1063, 2018.

FERGUSON, Virginia L.; DODSON, Reuben B. Bioengineering aspects of the umbilical cord. **European Journal of Obstetrics & Gynecology and Reproductive Biology**, v. 144, p. S108-S113, 2009.

FERNANDES, M. C. A. **Caracterização do efeito vasodilatador dos nitratos orgânicos GTN, NTHF, NCOE E BIS-NTHF em artéria e veia isoladas de cordão umbilical humano.** João Pessoa: UFPB, 2015. 182 f. Tese (Doutorado em Produtos Naturais e Sintéticos Bioativos) – Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa, 2015.

FERNÁNDEZ-ALFONSO, M. S. et al. Role of PVAT in coronary atherosclerosis and vein graft patency: friend or foe?. **British journal of pharmacology**, v. 174, n. 20, p. 3561-3572, 2017.

FERNÁNDEZ-ALFONSO, M. S.; GIL-ORTEGA, M.; GARCÍA-PRIETO, C. F.; ARANGUEZ, I.; RUIZ-GAYO, M.; SOMOZA, B.. Mechanisms of perivascular adipose tissue dysfunction in obesity. **International journal of endocrinology**, 2013.

FÉSÜS, G. et al. Adiponectin is a novel humoral vasodilator. **Cardiovascular research**, v. 75, n. 4, p. 719-727, 2007.

FÉSUS, G.; et al. Adiponectin is a novel humoral vasodilator. **Cardiovasc Res**, v. 75, n. 4, p. 719-727, 2007.

FILIZ, Avsar A. et al. Positive correlation between the quantity of Wharton's jelly in the umbilical cord and birth weight. **Taiwanese Journal of Obstetrics and Gynecology**, v. 50, n. 1, p. 33-36, 2011.

GÁLVEZ-PRIETO, Beatriz et al. Anticontractile effect of perivascular adipose tissue and leptin are reduced in hypertension. **Frontiers in pharmacology**, v. 3, p. 103, 2012.

GIL-ORTEGA, Marta et al. Adaptative nitric oxide overproduction in perivascular adipose tissue during early diet-induced obesity. **Endocrinology**, v. 151, n. 7, p. 3299-3306, 2010.

GLUCKMAN, Peter D.; HANSON, Mark A. Developmental origins of disease paradigm: a mechanistic and evolutionary perspective. **Pediatric research**, v. 56, n. 3, p. 311, 2004.

GODFREY, K. M. The role of the placenta in fetal programming – a review. **Placenta**. v. 23, p. 20-27, 2002.

GÖKÇINAR-YAGCI, Beyza; ÖZYÜNCÜ, Özgür; ÇELEBI-SALTIK, Betül. Isolation, characterisation and comparative analysis of human umbilical cord vein perivascular cells and cord blood mesenchymal stem cells. **Cell and tissue banking**, v. 17, n. 2, p. 345-352, 2016.

GUO, R. et al. Adiponectin and its receptors are involved in hypertensive vascular injury. **Molecular medicine reports**, v. 1, n. 17, p. 209-215, 2018.

GUO, R. et al. Adiponectin and its receptors are involved in hypertensive vascular injury. **Molecular medicine reports**, v. 17, n. 1, p. 209-215, 2018.

GUYTHON, A. C.; HALL, J. E. Tratado de fisiologia médica. **Elsevier**, 11ªed. cáp. 82, p. 1027-1041, 2006.

GUYTHON, A. C.; HALL, J. E. Tratado de fisiologia médica. **Elsevier**, 11ªed. cáp. 82, p. 1027-1041, 2006.

GUZMÁN-GUTIÉRREZ, Enrique et al. Role of insulin and adenosine in the human placenta microvascular and macrovascular endothelial cell dysfunction in gestational diabetes mellitus. **Microcirculation**, v. 21, n. 1, p. 26-37, 2014.

HOTTINGER, Daniel G. et al. Sodium nitroprusside in 2014: A clinical concepts review. **Journal of anaesthesiology, clinical pharmacology**, v. 30, n. 4, p. 462, 2014.

HUGHES E.A; SPERLE C.K. **Fetal and Newborn Cardiopulmonary Physiology**, 2015. Disponível em: <<https://clinicalgate.com/fetal-and-newborn-cardiopulmonary-physiology/>> Acessado em: 07 de março de 2018.

IOM (Institute of Medicine) and NRC (National Research Council). Weight gain during pregnancy: Reexamining the guidelines. Washington D.C. **National Academies Press**, 2009. JAMALUDDIN, M. D. S.; WEAKLEY, S.; YAO, Q.; CHEN, C. Resistin: functional roles and therapeutic considerations for cardiovascular disease. **Br J Pharmacol**. v. 165, p. 622-632, 2012.

JANSSON, T.; POWELL, T. L. Role of the placenta in fetal programming: underlying mechanisms and potential interventional approaches. **Biochemical Society**. v. 113, p. 1-13, 2007.

JUNQUEIRA, L.C.U. & CARNEIRO, J. **Histologia Básica**. 10ª Ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2004.

KAPPUS, R. M. et al. Obesity and overweight associated with increased carotid diameter and arterial function in young otherwise health men. **American Journal of Hypertension**. v. 27, n.4, p. 628-634, 2014.

KAPPUS, R. M. et al. Obesity and overweight associated with increased carotid diameter and arterial function in young otherwise health men. **American Journal of Hypertension**. v. 27, n.4, p. 628–634, 2014.

KOPP, C. B.; TOUBOUL, P. J.; BEER, C.; MAGNE, C.; DUCIMETIÈRE. Factors of carotid arterial enlargement in a population aged 59 to 71 years. **Stroke**. v. 27, n. 4, p. 654-660, 1996.

LEWIS, R. M.; CLEAL, J. K.; HANSON, Mark A. Placenta, evolution and lifelong health. **Placenta**, v. 33, p. S28-S32, 2012.

LI, Hua-Ping; CHEN, Xuan; LI, Ming-Qing. Gestational diabetes induces chronic hypoxia stress and excessive inflammatory response in murine placenta. **International journal of clinical and experimental pathology**, v. 6, n. 4, p. 650, 2013

LIM, Soo; MEIGS, James B. Links between ectopic fat and vascular disease in humans. **Arteriosclerosis, thrombosis, and vascular biology**, v. 34, n. 9, p. 1820-1826, 2014.

LUMENG, Carey N.; BODZIN, Jennifer L.; SALTIEL, Alan R. Obesity induces a phenotypic switch in adipose tissue macrophage polarization. **The Journal of clinical investigation**, v. 117, n. 1, p. 175-184, 2007.

LYER, A.; FAIRLIE, D. P.; PRINS, J. B.; HAMMOCK, B. D.; BROWN, L. Inflammatory lipid mediators in adipocyte function and obesity. **Nature reviews Endocrinology**. v. 6, p. 71-82, 2010.

LYNCH, Fiona M. et al. Perivascular adipose tissue-derived adiponectin activates BKCa channels to induce anticontractile responses. **American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology**, v. 304, n. 6, p. H786-H795, 2013.

MAHABADI, A. A.; REINSH, N.; LEHMAN, N.; ALTENBERND, J.; KALSCH, H.; SEIBEL, R. M.; ERBEL, R.; MOHLENKAMP, S. Association of pericoronary fat volume with atherosclerotic plaque burden in the underlying coronary artery: a segment analysis. **Atherosclerosis**, v. 211, p.195-199, 2010.

MAJESKY, Mark W. et al. The adventitia: a dynamic interface containing resident progenitor cells. **Arteriosclerosis, thrombosis, and vascular biology**, v. 31, n. 7, p. 1530-1539, 2011.

MARCINIAK, Aleksandra et al. Fetal programming of the metabolic syndrome. **Taiwanese Journal of Obstetrics and Gynecology**, v. 56, n. 2, p. 133-138, 2017.

MATTOS, S. S. Programação intra-uterina para doenças da vida adulta. **Rev. Assoc. Med. Bras.** v. 52, n. 4, p. 187-201, 2006.

MCLACHLAN, Kylie A. et al. Do adiponectin, TNF α , leptin and CRP relate to insulin resistance in pregnancy? Studies in women with and without gestational diabetes, during and after pregnancy. **Diabetes/metabolism research and reviews**, v. 22, n. 2, p. 131-140, 2006. CHANG, Lin et al. Paradoxical roles of perivascular adipose tissue in atherosclerosis and hypertension. **Circulation Journal**, p. CJ-12-1393, 2012.

MELLO, J. P. L. **Influência do sobrepeso/obesidade e do ganho de peso excessivo durante a gestação sobre componentes estruturais de veias do cordão umbilical**. 2018. Dissertação (Mestrado em Ciências Aplicadas à Saúde) – Universidade Federal de Goiás, Jataí.

MENDES, Luís F. et al. Perivascular-like cells contribute to the stability of the vascular network of osteogenic tissue formed from cell sheet-based constructs. **PLoS One**, v. 7, n. 7, p. e41051, 2012.

METZGER, Boyd E. et al. Hyperglycemia and adverse pregnancy outcomes. **New England Journal of Medicine**, v. 358, n. 19, p. 1991-2002, 2008.

MIDWOOD, Kim S. et al. Advances in tenascin-C biology. **Cellular and molecular life sciences**, v. 68, n. 19, p. 3175, 2011.

MONTEIRO, Lara J. et al. Fetal programming and gestational diabetes mellitus. **Placenta**, v. 48, p. S54-S60, 2016.

MUNIYAPPA, Ranganath et al. Cardiovascular actions of insulin. **Endocrine reviews**, v. 28, n. 5, p. 463-491, 2007.

NOMURA, Roseli Mieko Yamamoto et al. Influência do estado nutricional materno, ganho de peso e consumo energético sobre o crescimento fetal, em gestações de alto risco. **Revista Brasileira de Ginecologia e Obstetrícia**, 2012.

NOSALSKI, Ryszard; GUZIK, Tomasz J. Perivascular adipose tissue inflammation in vascular disease. **British journal of pharmacology**, v. 174, n. 20, p. 3496-3513, 2017.

ORIOWO, M. A. Perivascular adipose tissue, vascular reactivity and hypertension. **Med Princ Pract**. v. 24, p. 29-37, 2015.

PAIVA, Therezinha Bandiera; FARIAS, Nelson Carvalho. Mecanismos da contração do músculo liso vascular. **075 Measuring blood pressure: the importance of understanding variation**, v. 12, n. 2, p. 89-92, 2005.

PARDO, F.; SILVA, L.; SÁEZ, T.; SALSOSO, R.; GUTIÉRREZ, J.; SANHUEZA, C.; LEIVA, A.; SOBREBIA, L. Human supraphysiological gestational weight gain and fetoplacental vascular dysfunction. **Int J Obes**, London, p. 1–42, 2015.

PLOWS, J. F.; STANLEY, J. L.; BAKER, P. N.; REYNOLDS, C. M.; VICKERS, M. H. The Pathophysiology of Gestational Diabetes Mellitus. **Int J Mol Sci**, v. 19, n. 3342, p. 1–21, 2018.

POSTON, L.; HARTHOORN, L. F.; VAN DER BEEK E. M. Obesity in Pregnancy: Implications for the Mother and Lifelong Health of the Child. **A Consensus Statement. International Pediatric Research Foundation**, v. 69, n. 2, 2011.

QI, Xiao-Yan et al. Perivascular adipose tissue (PVAT) in atherosclerosis: a double-edged sword. **Cardiovascular diabetology**, v. 17, n. 1, p. 134, 2018.

RAMSAY, Jane E. et al. Maternal obesity is associated with dysregulation of metabolic, vascular, and inflammatory pathways. **The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism**, v. 87, n. 9, p. 4231-4237, 2002.

RAPOSO, Laura et al. Complicações da obesidade na gravidez. **Arquivos de Medicina**, v. 25, n. 3, p. 115-122, 2011.

RASK-MADSEN, C.; KAHN, C. R. Tissue-specific insulin signaling, metabolic syndrome and cardiovascular disease. **Arterioscler Thromb Vasc Biol**, v. 32, n. 9, p. 2052–2059, 2012.

RASMUSSEN, K. M., et al. **Committee to reexamine IOM pregnancy weight guidelines**. Food and Nutrition Board, Board on Children, Youth and Families, Institute of Medicine, National Research Council. Weight gain during pregnancy: reexamining the guidelines. Washington, DC: National Academies Press, 2009.

RICK, I. M.; SERNE, E. H.; YVO, S. M.; VICTOR, W. M. V. H.; JOHN, S. Y.; ETTO, C. E. Perivascular adipose tissue and its role in type 2 diabetes and cardiovascular disease. **Curr Diab Rep**. v. 11, p. 211-217, 2011.

RINAUDO, P.; WANG, E. Fetal programming and metabolic syndrome. **Annu Rev Physiol**. v. 74, p. 107-130, 2012.

RUCKER, Hubert K.; WYNDER, Howard J.; THOMAS, W. Eric. Cellular mechanisms of CNS pericytes. **Brain research bulletin**, v. 51, n. 5, p. 363-369, 2000.

SADLER, T.W. Langman – Embriologia Médica. **Guanabara Koogan, 9ª ed.** cap 6, p. 78-98, 2005. SHIMOKAWA, Hiroaki; SATOH, Kimio. Vascular function. **Arteriosclerosis, thrombosis, and vascular biology**, v.34, n.11, p.2359-2362, 2014.

SAKAUE, Tomoki et al. Perivascular adipose tissue angiotensin II type 1 receptor promotes vascular inflammation and aneurysm formation. **Hypertension**, v. 70, n. 4, p. 780-789, 2017.

SAKUE, T.; SUZUKI, J.; HAMAGUCHI, M.; SUEHIRO, C.; TANINO, A.; NAGAO, T.; UEATANI, T.; AONO, J.; NAKAOAKA, H.; KURATA, M.; SAKUE, T.; OKURA, T.; YASUGI, T.; IZUTANI, H.; HIGAKI, J.; IKEDA, S. Perivascular adipose tissue angiotensin II type 1 receptor promotes vascular inflammation and aneurysm formation. **Hypertension**. v. 70, n. 4, p.780-789, 2017.

SHIMOKAWA, Hiroaki; SATOH, Kimio. Vascular function. **Arteriosclerosis, thrombosis, and vascular biology**, v. 34, n. 11, p. 2359-2362, 2014.

SILVA, J. F., et al. Obesity, inflammation, and exercise training: relative contribution of iNOS and eNOS in the modulation of vascular function in the mouse aorta. **Frontiers in physiology**, v. 7, p. 386, 2016.

STAPLETON, Phoebe A., et al. Obesity and vascular dysfunction. *Pathophysiology*, v. 15 n. 2: p. 79-89, 2008.

STUEHR, D. J. Enzymes of the L-arginine to nitric oxide pathway. **The Journal of nutrition**, v. 134, n. 10, p. 2748S-2751S, 2004.

SZASZ, Theodora; BOMFIM, Gisele Facholi; WEBB, R. Clinton. The influence of perivascular adipose tissue on vascular homeostasis. **Vascular health and risk management**, v. 9, p. 105, 2013.

VANHOUTTE, P. M. Obesity and vascular dysfunction: the fat-e of rich and poor. **British Journal of Pharmacology**. v. 165, p. 541-543, 2012.

VASQUES, Flávio Augusto Prado et al. Correlação da área do cordão umbilical com parâmetros antropométricos em gestações normais. **Radiologia Brasileira**, 2003.

VERHAGEN, Sandra N.; VISSEREN, Frank LJ. Perivascular adipose tissue as a cause of atherosclerosis. **Atherosclerosis**, v. 214, n. 1, p. 3-10, 2011.

VERMA, Subodh; BUCHANAN, Michael R.; ANDERSON, Todd J. Endothelial function testing as a biomarker of vascular disease. **Circulation**, v. 108, n. 17, p. 2054-2059, 2003.

VIRDIS, Agostino. Endothelial dysfunction in obesity: role of inflammation. **High Blood Pressure & Cardiovascular Prevention**, v. 23, n. 2, p. 83-85, 2016.

VIRTUE, S.; PUIG, A. V. Adipose tissue expandability, lipotoxicity and the metabolic syndrome – an allostatic perspective. **Biochemica et Biophysica Acta**. v. 18, n. 01, p. 338-349, 2010.

WANG, Y.; ZHAO, S. Vascular biology of the placenta. **Morgan e Claypool Life Sciences**. Cáp. 2, 2010.

WANJARE, Maureen; KUSUMA, Sravanti; GERECHT, Sharon. Defining differences among perivascular cells derived from human pluripotent stem cells. **Stem cell reports**, v. 2, n. 5, p. 561-575, 2014.

XIA, N. et al. Uncoupling of endothelial nitric oxide synthase in perivascular adipose tissue of diet-induced obese mice. **Arteriosclerosis, thrombosis, and vascular biology**, v. 36, n. 1, p. 78-85, 2016.

XIA, N.; LI, H. The role of perivascular adipose tissue in obesity-induced vascular dysfunction. **British journal of pharmacology**, v. 174, n. 20, p. 3425-3442, 2017.

XU, A.; WANG, Y.; LAM, K. S. L.; VANHOUTTE, P. M. Vascular actions of adipokines: Molecular mechanisms and therapeutic implications. **Advances in Pharmacology**. v. 60, p. 229-255, 2010.

YANNARELLI, G. et al. Human umbilical cord perivascular cells exhibit enhanced cardiomyocyte reprogramming and cardiac function after experimental acute myocardial infarction. **Cell transplantation**, v. 22, n. 9, p. 1651-1666, 2013.

Anexo 1. Parecer consubstanciado do Comitê de ética em pesquisa (CEP).**PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP****DADOS DO PROJETO DE PESQUISA**

Título da Pesquisa: INFLUÊNCIA DA OBESIDADE MATERNA SOBRE OS MECANISMOS ENVOLVIDOS NO CONTROLE DO TÔNUS DE VEIAS UMBILICAIS

Pesquisador: JOAO PEDRO LOURENCO MELLO

Área Temática:

Versão: 2

CAAE: 62155316.0.0000.5083

Instituição Proponente: Universidade Federal de Goiás - UFG

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 1.919.405

Apresentação do Projeto:

Trata-se de um estudo caso-controle, no qual serão avaliados parâmetros funcionais e estruturais das veias umbilicais de gestantes controles, com sobrepeso e obesas. A população será composta pelas pacientes gestantes controle, sobre parto, peso do recém-nascido e comprimento do recém-nascido que serão coletados por meio de consulta ao banco de dados o hospital Unimed de Jataí – GO. A coleta dos dados e dos cordões umbilicais se dará após a concordância das pacientes e mediante consentimento livre e esclarecido das pacientes selecionadas para compor a amostra.

Objetivo da Pesquisa:

Objetivo Primário:

O objetivo geral do presente estudo é verificar a relação entre alterações associadas ao sobrepeso e à obesidade e as disfunções na estrutura e funcionalidade da veia do cordão umbilical de gestantes.

Objetivo Secundário:

Avaliar parâmetros funcionais e estruturais das veias umbilicais de gestantes; Coletar dados clínicos e laboratoriais de gestantes controles, com sobrepeso e obesas contidos no banco de dados do hospital Unimed de Jataí - GO; Obter de fragmentos de veias umbilicais para estudo da

Endereço: Prédio da Reitoria Térreo Cx. Postal 131

Bairro: Campus Samambaia

CEP: 74.001-970

UF: GO

Município: GOIANIA

Telefone: (62)3521-1215

Fax: (62)3521-1163

E-mail: cep.prpi.ufg@gmail.com



Continuação do Parecer: 1.919.405

reatividade, caracterização estrutural e análise estatísticas.

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

os pesquisadores garantem que o estudo não apresentará risco direto aos participantes, pois os cordões já seriam retirados de qualquer maneira no ato do parto e descartados posteriormente. Ainda assim, o procedimento será realizado por profissional capacitado, médico obstetra, minimizando qualquer risco às pacientes. Na etapa seguinte da pesquisa, serão realizadas as análises morfológicas e de funcionalidade das veias dos cordões, não haverá nenhuma intervenção com as pacientes, não acarretando nenhum risco adicional;

Benefícios:

Os pesquisadores referem que as voluntárias terão análises mais elaboradas de possíveis alterações das veias umbilicais provenientes do sobrepeso e da obesidade, podendo ainda evidenciar a necessidade de investigações aprofundadas no que se refere aos mecanismos responsáveis pela associação entre obesidade e as diversas complicações adversas da gravidez, para que intervenções seguras e eficazes possam ser estabelecidas.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

Pesquisa de grande relevância social e acadêmica, pesquisadores apresentaram estruturas físicas adequadas para o desenvolvimento do estudo e currículo adequado.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Atenderam todos os termos exigidos pelo CEP: termo de anuência do hospital onde será realizado a coleta dos dados, TCLE com linguagem clara e adequada para o entendimento da participante, garantindo anonimato e confidencialidade. Cronograma adequado para início da coleta após parecer do CEP. Termo de compromisso assinado por todos os pesquisadores participantes.

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Aprovado smj deste comitê

Considerações Finais a critério do CEP:

Informamos que o Comitê de Ética em Pesquisa/CEP-UFG considera o presente protocolo APROVADO, o mesmo foi considerado em acordo com os princípios éticos vigentes. Reiteramos a importância deste Parecer Consubstanciado, e lembramos que o(a) pesquisador(a) responsável deverá encaminhar ao CEP-UFG o Relatório Final baseado na conclusão do estudo e na incidência de publicações decorrentes deste, de acordo com o disposto na Resolução CNS n. 466/12. O prazo para entrega do Relatório é de até 30 dias após o encerramento da pesquisa, prevista para

Endereço: Prédio da Reitoria Térreo Cx. Postal 131			
Bairro: Campus Samambaia		CEP: 74.001-970	
UF: GO	Município: GOIANIA		
Telefone: (62)3521-1215	Fax: (62)3521-1163	E-mail: cep.prpi.ufg@gmail.com	



Continuação do Parecer: 1.919.405

dezembro de 2019.

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_PROJETO_805018.pdf	17/01/2017 16:24:40		Aceito
Outros	Carta_encaminhamento.doc	17/01/2017 16:24:20	JOAO PEDRO LOURENCO MELLO	Aceito
Outros	Termo_de_anuencia.jpg	17/01/2017 16:20:13	JOAO PEDRO LOURENCO MELLO	Aceito
Outros	Termo_de_compromisso.jpg	17/01/2017 16:19:51	JOAO PEDRO LOURENCO MELLO	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLE_ed.docx	17/01/2017 16:19:15	JOAO PEDRO LOURENCO MELLO	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	Projeto_ed.docx	17/01/2017 16:18:51	JOAO PEDRO LOURENCO MELLO	Aceito
Folha de Rosto	FR.pdf	18/11/2016 21:56:09	JOAO PEDRO LOURENCO MELLO	Aceito

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

GOIANIA, 14 de Fevereiro de 2017

Assinado por:
João Batista de Souza
(Coordenador)

Endereço: Prédio da Reitoria Térreo Cx. Postal 131

Bairro: Campus Samambaia

CEP: 74.001-970

UF: GO **Município:** GOIANIA

Telefone: (62)3521-1215

Fax: (62)3521-1163

E-mail: cep.prpi.ufg@gmail.com

Anexo 2. Termo de consentimento livre e esclarecido (TCLE).



SERVIÇO PÚBLICO FEDERAL
UNIVERSIDADE FEDERAL DE GOIÁS
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
COMITÊ DE ÉTICA E PESQUISA



TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Apresentação:

Você está sendo convidada a participar, como voluntária, da pesquisa intitulada: *“Influência do tecido perivascular do cordão umbilical humano sobre o controle do tônus de veias umbilicais: Efeitos do ganho de peso e da obesidade gestacional”*. Este projeto é de responsabilidade dos pesquisadores: Profª. Drª. Núbia de Souza Lobato (coordenadora) e Carolina do Prado Servian (aluna de mestrado), vinculados ao Programa de Pós-graduação em Ciências Aplicadas à Saúde da Universidade Federal de Goiás - Regional Jataí. Após receber os esclarecimentos e as informações a seguir, caso aceite participar do estudo, assine ao final deste documento, que está em duas vias. Uma delas é sua e a outra é dos pesquisadores responsáveis. Em caso de recusa, você não será penalizada de forma alguma. Em caso de dúvida, procure o pesquisador responsável, Profª. Drª. Núbia de Souza Lobato, telefone: (64) 98454 7854.

Justificativa e objetivos da pesquisa

Tornou-se evidente nos últimos anos o aumento acentuado na prevalência de obesidade tanto na população adulta quanto em crianças e adolescentes. Alguns dos efeitos adversos da obesidade sobre a saúde e o bem-estar têm sido amplamente descritos, uma vez que esta condição é considerada uma das principais causas de morbidade e mortalidade da população mundial por estar associada a diversas complicações metabólicas e cardiovasculares. Na prática obstétrica, está bem estabelecido que o acúmulo de tecido adiposo está associado com uma ampla gama de desordens, incluindo a hipertensão arterial na gestação, a diminuição da tolerância à glicose, complicações durante o parto, maior necessidade de cesariana e macrosomia fetal. Pesquisas recentes indicaram ainda que os produtos secretados pelo tecido adiposo podem modular a atividade uterina, além de afetar diretamente os vasos da circulação feto-placentária, podendo trazer implicações para o crescimento e o desenvolvimento fetal. Entretanto, nenhum estudo avaliou até o presente momento, os mecanismos envolvidos nessas alterações. Portanto, o presente estudo propõe avaliar a influência do tecido perivascular do cordão umbilical sobre o controle do tônus de veias umbilicais, bem como os efeitos promovidos pelo ganho de peso e pela obesidade gestacional.

Procedimentos que serão utilizados e propósitos

Será retirada uma parte do cordão umbilical proveniente do bebê e da mãe após o parto. É importante salientar que a placenta e o cordão umbilical não são mais necessários para o bebê após o nascimento. Deste modo, a coleta do material (cordão umbilical) não afetará em nada o paciente que se disponibilizar a participar, pois este já teria como destino, o descarte após o término do parto. Caso a placenta precise ir para alguma análise após o parto, a retirada de parte do cordão umbilical não prejudica esta análise.

Após a coleta do cordão umbilical, será realizada a separação dos vasos sanguíneos (veia e artérias) para análise *in vitro* da estrutura e função. Estes procedimentos serão realizados nos laboratórios de pesquisa da Universidade Federal de Goiás.

Esta pesquisa possui caráter de diagnóstico. Não haverá manipulação ou qualquer tipo de intervenção no paciente, assim como, nenhum tipo de procedimento experimental na mãe ou no feto.



**SERVIÇO PÚBLICO FEDERAL
UNIVERSIDADE FEDERAL DE GOIÁS
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
COMITÊ DE ÉTICA E PESQUISA**



Os achados da presente pesquisa serão mantidos em segredo (serão utilizados apenas para esse estudo) e nenhum paciente será identificada, porém, os resultados poderão ser publicados em revistas científicas futuramente. Não haverá nenhuma identificação em nenhuma publicação que possa resultar deste estudo. A participação da paciente não acarretará custos e não será disponível nenhuma compensação financeira adicional. Se possuir alguma dúvida quanto aos procedimentos da coleta, iremos ouvi-la e orientá-la. E se, em algum momento, a paciente não quiser mais participar, não haverá nenhum prejuízo ou perda de benefícios.

Desconfortos e riscos esperados

Nenhum.

Acesso, a qualquer momento, às informações sobre os procedimentos, riscos e benefícios relacionados à pesquisa, inclusive para esclarecimento de eventuais dúvidas:

Em qualquer etapa do estudo, você terá acesso aos profissionais responsáveis pela pesquisa para esclarecimento de eventuais dúvidas. A principal investigadora é a Prof. Dra Núbia de Souza Lobato, que pode ser encontrada na Universidade Federal de Goiás-Regional Jataí, telefones: fone (64) 8454-7854, email: nubialobato@yahoo.com.br. O aluno de mestrado envolvido no desenvolvimento desta pesquisa é Carolina do Prado Servian, fone (64) 98128-7931, email: carolservian@hotmail.com.

Após as explicações, ficaram claros para mim quais são os propósitos do estudo, os procedimentos a serem realizados e as garantias de confidencialidade. Ficou claro também que minha participação é isenta de despesas. Concordo voluntariamente em participar deste estudo e poderei retirar o meu consentimento a qualquer momento, antes ou durante o mesmo, sem penalidades ou perda de qualquer benefício que eu possa ter adquirido.

Jataí, ____ de ____ de ____.

Assinatura do Paciente ou representante legal

Carolina do Prado Servian
Aluna de Mestrado

Núbia de Souza Lobato
Coordenadora da Pesquisa