

RAE-CEA 13P09

RELATÓRIO DE ANÁLISE ESTATÍSTICA SOBRE O PROJETO:

“Avaliação do *status* em Magnésio e sua relação com o estresse oxidativo e citocinas inflamatórias na Pré-eclâmpsia”.

Andressa Soreira

Victor Fossaluza

São Paulo, Junho de 2013

CENTRO DE ESTATÍSTICA APLICADA – CEA
RELATÓRIO DE ANÁLISE ESTATÍSTICA

TÍTULO: Relatório de análise estatística sobre o projeto: “Avaliação do *status* em Magnésio e sua relação com o estresse oxidativo e citocinas inflamatórias na Pré-eclâmpsia”.

PESQUISADORA: Vivianne de Sousa Rocha

ORIENTADORA: Prof.^a Dra. Célia Colli

INSTITUIÇÃO: Faculdade de Ciências Farmacêuticas - USP

FINALIDADE: Tese de Doutorado

RESPONSÁVEIS PELA ANÁLISE: Andressa Soreira
Victor Fossaluza

REFERÊNCIA DESTE TRABALHO: FOSSALUZA, V. e SOREIRA, A. (2013). **Relatório de análise estatística sobre o projeto: “Avaliação do *status* em Magnésio e sua relação com o estresse oxidativo e citocinas inflamatórias na Pré-eclâmpsia”.** São Paulo, IME-USP, 2013, (RAE-CEA 13P09).

FICHA TÉCNICA

REFERÊNCIAS:

American Journal of Obstetrics & Gynecology. (2000). **Report of the National High Blood Pressure Education Program Working Group on High Blood Pressure in Pregnancy**. v.183, S1–22.

BUSSAB, W. O., MORETTIN, P. A. (2011). **Estatística Básica**. 7ª ed. Brasil. Saraiva.

CONOVER, W. J. (1980). **Practical Nonparametric Statistics**. 2ª ed. New York. John Wiley & Sons.

HOSMER, D. W., LEMESHOW, S. (1989). **Applied Logistic Regression**. New York.

MARDIA, K. V., KENT, J. T., BIBBY, J. M. (1980). **Multivariate Analysis**. London. Academic Press.

PAULA, A. G. (2010). **Modelo de Regressão com apoio computacional**. Universidade de São Paulo.

TORGO, L. (2006). **Introdução à Programação em R**. Portugal. Universidade do Porto.

ZWEIG, MH., CAMPBELL, G. (1993). **Receiver-operating characteristic (ROC) plots: A fundamental evaluation tool in clinical medicine**. American Association for Clinical Chemistry. Washington, DC.

PROGRAMAS COMPUTACIONAIS UTILIZADOS:

Microsoft Excel for Windows (versão 2007)

Microsoft Word for Windows (versão 2007)

Software R (versão 2.14.2)

IBM SPSS Statistics (versão 20)

TÉCNICAS ESTATÍSTICAS UTILIZADAS:

Análise Descritiva Unidimensional (03:010)

Testes de Hipóteses Não Paramétricas (05:070)

Associação e Dependência de Dados Qualitativos (06:020)

Análise de Conglomerados (06:120)

Regresão Logística (07:090)

ÁREA DE APLICAÇÃO:

Bioestatística (14:030)

Sumário

| | |
|---|----|
| Resumo | 6 |
| 1. Introdução..... | 7 |
| 2. Descrição do estudo | 9 |
| 3. Descrição das variáveis | 10 |
| 3.1 Variáveis de controle e discriminantes | 10 |
| 3.2 Variáveis relacionadas com o Magnésio | 11 |
| 3.3 Variáveis oxidantes | 11 |
| 3.4 Variáveis inflamatórias | 12 |
| 3.5 Variáveis relacionadas à ingestão alimentar | 12 |
| 3.6 Variáveis contínuas complementares..... | 12 |
| 3.7 Variáveis categóricas | 13 |
| 4. Análise descritiva..... | 15 |
| 5. Análise inferencial..... | 20 |
| 5.1 Análise de conglomerados | 21 |
| 5.2 Modelos de regressão logística..... | 22 |
| 6. Conclusões | 27 |
| Apêndice A: Tabelas descritivas | 28 |
| Apêndice B: Gráficos da análise descritiva | 34 |
| Apêndice C: Tabelas da análise inferencial | 56 |
| Apêndice D: Gráficos da análise inferencial..... | 61 |
| Apêndice E: Regressão logística..... | 78 |

Resumo

A Pré-eclâmpsia é uma doença hipertensiva peculiar à gravidez humana que ocorre geralmente após a 20ª semana de gestação e caracteriza-se, além dos altos níveis pressóricos, pela presença de proteína na urina. A causa básica da doença ainda é desconhecida e não há um tratamento efetivo, ocasionando, dessa forma, elevado risco materno e fetal. Através de estudos, o mineral Magnésio tem sido relacionado com manifestações que ocorrem na presença da doença, como inflamação e estresse oxidativo. Neste contexto, objetivou-se estudar as relações entre o Magnésio e as variáveis relacionadas às manifestações da doença. As análises descritivas e inferenciais mostrou que a concentração de Magnésio no plasma possui relação significativa com a doença, assim como, a variável oxidante 8-isoprostano urinário e a variável Calorias. Além disso, a variável inflamatória $\text{TNF-}\alpha$ também se mostrou importante para a compreensão da doença.

1. Introdução

Para evitar a contração de doenças em qualquer fase da vida são necessários cuidados especiais com a saúde. Quando nos referimos a mulheres grávidas, essa precaução deve ser ainda maior, pois tanto as mães quanto os bebês estão sujeitos às complicações.

Há algumas doenças comuns nessa etapa da vida feminina, como as infecciosas (principalmente das vias urinárias), a anemia e a diabetes gestacional. Porém, uma doença que muito preocupa gestantes e obstetras é a **Pré-eclâmpsia (PE)**.

Essa doença faz parte do grupo de síndromes hipertensivas da gestação e surge, em geral, após a 20ª semana gestacional. Em conjunto com o principal sintoma, aumento da pressão arterial, ocorre a aparição de edemas, aumento exagerado do peso corpóreo e proteinúria – perda de proteína pela urina. Na forma mais grave da doença surgem quadros clínicos de convulsões, denominados eclâmpsia, em decorrência da hipertensão, sangramento vaginal e, até mesmo, coma.

Essa doença é considerada uma das principais causas de morte entre gestantes, sendo que em países subdesenvolvidos a incidência é cerca de três vezes maior que em países desenvolvidos – isso ocorre, provavelmente, devido a um menor número percentual de gestantes que realizam ou têm acesso ao acompanhamento pré-natal em países de baixa renda.

A Pré-eclâmpsia é uma doença com etiologia desconhecida e de difícil tratamento, obrigando os médicos a trabalharem com medidas paliativas para reduzir os danos causados. O diagnóstico é estabelecido com base nos níveis elevados da pressão arterial, no histórico clínico, nos sintomas da paciente e nos resultados de exames laboratoriais de sangue e de urina. A cura para a doença é o parto, pois após a retirada da placenta os níveis pressóricos tendem a se normalizar. Desse modo, alguns medicamentos para acelerar o desenvolvimento do bebê (principalmente o sistema respiratório) são prescritos nos casos mais graves e, caso não seja possível devido à precoce idade gestacional, é indicado repouso absoluto com o intuito de controlar a pressão arterial.

Apesar de ter sua causa desconhecida, estudos realizados revelaram algumas características que aumentam a incidência dessa doença. Dentre os principais fatores

de risco, podemos destacar mulheres com idades extremas (gestantes adolescentes ou com mais de 35 anos); primeira gestação; obesidade e histórico familiar da doença. É importante também destacar os fatores que são considerados como protetores das pacientes em relação à Pré-eclâmpsia: abortos prévios; exposição frequente ao mesmo líquido seminal e ao espermatozóide; gestantes fumantes.

Outras pesquisas realizadas com o intuito de desvendar a gênese e/ou agravamento da Pré-eclâmpsia relacionam fortemente a doença com a ingestão do mineral Magnésio. Tais pesquisas, realizadas em animais, têm mostrado que a baixa ingestão desse mineral induz ao estresse oxidativo e ao aumento da resposta inflamatória no ser vivo, criando um ambiente favorável à Pré-eclâmpsia. Há também estudos que sugerem que uma baixa concentração de Magnésio no plasma gera vasoconstrição (processo de contração dos vasos sanguíneos) relacionando, dessa forma, o Magnésio com o principal sintoma da Pré-eclâmpsia – o aumento da pressão arterial sanguínea.

Neste contexto, esse estudo tem como objetivo avaliar a relação do *status em Mg*¹ com os marcadores de estresse oxidativo e da resposta inflamatória em gestantes, de modo a entender o comportamento desses fatores e sua ligação com a doença, sendo possível, como consequência, desenvolver procedimentos de prevenção e contra o agravamento da Pré-eclâmpsia.

¹ O termo *status em Mg* refere-se à avaliação dos níveis do Magnésio em compartimentos biológicos das gestantes, como a concentração na urina, no plasma e intracelular, assim como, a ingestão desse mineral.

2. Descrição do estudo

O estudo realizado foi do tipo caso-controle e contou com a participação de gestantes voluntárias que realizaram acompanhamento clínico ou foram encaminhadas ao serviço obstétrico do Hospital das Clínicas (HC) da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo e do Hospital Ipiranga, do Estado de São Paulo. Com base nesse acompanhamento clínico e levando em conta que entraram no estudo apenas gestantes com idade gestacional superior a 20 semanas, foram definidos os seguintes grupos:

Grupo controle (CT) – formado por gestantes sem complicações obstétricas.

Grupo Pré-eclâmpsia (PE) – gestantes diagnosticadas com Pré-eclâmpsia utilizando como níveis de referência², pressão arterial $\geq 140/90$ mmHg e/ou proteinúria $> 0,3$ g/24h.

Foram considerados fatores de exclusão do estudo a presença de hipertensão crônica, hipertensão gestacional (antes da 20ª semana), diabetes, gestação múltipla, doença renal ou cardiovascular, uso de suplemento em magnésio e fumo. É válido ressaltar que para cada gestante no grupo PE, foi selecionada uma candidata ao grupo controle com idade gestacional próxima àquela alocada no grupo PE.

Em cada grupo foram alocadas 18 mulheres. Esse cálculo amostral foi realizado pelo Centro de Estatística Aplicada do Instituto de Matemática e Estatística da USP (CEA – IME – USP).

² Níveis de referência definidos pelo American Journal of Obstetrics & Gynecology. (2000).

3. Descrição das variáveis

As gestantes participantes do estudo foram submetidas a coletas de sangue e de urina de 24 horas³ para determinar o nível de Magnésio nos fluídos biológicos, assim como, foram medidos os marcadores de estresse oxidativo, óxido nítrico e da resposta inflamatória. Além disso, houve a avaliação antropométrica e dietética das pacientes, através da aplicação de um questionário de frequência alimentar, a fim de obter informações quanto ao consumo de Magnésio e a ingestão de macronutrientes (proteínas, carboidratos e lipídios).

3.1 Variáveis de controle e discriminantes

Grupo: grupo ao qual a gestante pertence segundo a sua condição.

CT – Controle

PE – Pré-eclâmpsia

Idade da gestante (anos)

Idade gestacional (semanas gestacionais)

As três variáveis a seguir, como já citado, foram as variáveis analisadas para determinar se a gestante possuía ou não Pré-eclâmpsia de acordo com os níveis encontrados. Neste trabalho, estas variáveis são denominadas ***variáveis discriminantes***.

A pressão arterial foi aferida no braço esquerdo com a gestante sentada e, caso fosse detectado um alto nível pressórico, uma nova medição era feita após um intervalo de 4 horas para verificar se a pressão alta não era apenas momentânea. Para a análise do nível de proteinúria, as pacientes receberam frascos e foram instruídas a coletarem sua urina no dia que antecederesse a coleta de sangue.

³ Coleta de urina de 24 horas refere-se a toda urina produzida pela gestante em um período de 24 horas.

Pressão arterial sistólica (PAS) (milímetros de mercúrio – mmHg)

Pressão arterial diastólica (PAD) (milímetros de mercúrio – mmHg)

Proteinúria (gramas por urina de 24 horas – g/24h)

3.2 Variáveis relacionadas com o Magnésio

As concentrações de Magnésio foram analisadas no plasma, no eritrócito (intracelular) e na urina. A ingestão de Magnésio foi determinada por meio da avaliação feita pelo questionário nutricional.

Ingestão de Magnésio (miligramas/dia – mg/d)

Magnésio plasmático (milimol/litro – mmol/L)

Magnésio eritrocitário (milimol/litro – mmol/L)

Magnésio urinário (milimol/dia – mmol/d)

3.3 Variáveis oxidantes

Variáveis pró-oxidantes

A variável pró-oxidante Malondialdeído foi analisada no plasma, enquanto que a variável pró-oxidante 8-isoprostano foi analisada na amostra de urina⁴.

Malondialdeído (MDA) (micromolar – μ M)

8-isoprostano urinário (picograma/miligramma de creatinina – pg/mg)

Variáveis anti-oxidantes

As variáveis anti-oxidantes foram avaliadas na amostra plasmática e seus valores foram determinados através de reações químicas feitas em laboratório.

⁴ Apesar de um interesse maior em avaliar a concentração do marcador oxidante 8-isoprostano no plasma, nesse estudo, essa variável foi medida na amostra de urina, pois foi verificado que alguns medicamentos de uso das gestantes poderiam interferir na concentração desse marcador no plasma.

Glutathione peroxidase (GPx) (unidade por grama de hemoglobina U/gHb)

Catalase (CAT) ($\times 10^4$ unidades por grama de hemoglobina – $\times 10^4$ U/gHb)

3.4 Variáveis inflamatórias

As variáveis de marcadores inflamatórios também foram avaliadas na amostra plasmática.

Proteína C-Reativa (PCR) (nanograma/mililitro – ng/mL)

Interleucina-6 (picograma/mililitro – pg/mL)

Fator de necrose tumoral-alfa (TNF- α) (picograma/mililitro – pg/mL)

3.5 Variáveis relacionadas à ingestão alimentar

As variáveis relacionadas à ingestão alimentar foram obtidas através das informações do questionário nutricional aplicado nas gestantes.

Calorias (quilo calorias/dia – kcal/d)

Carboidratos (gramas/dia – g/d)

Proteínas (gramas/dia – g/d)

Lipídios (gramas/dia – g/d)

Fibras (gramas/dia – g/d)

3.6 Variáveis contínuas complementares

A variável óxido nítrico (NO) foi medida na amostra de sangue coletada. As variáveis Creatinina sérica e Clearance creatinina estão relacionadas à função renal da gestante e foram medidas, também, na amostra de sangue.

A variável IMC pré-gestacional é uma estimativa do IMC da gestante antes da gravidez, medida através do peso pré-gestacional declarado pela paciente no momento da entrevista. Por sua vez, a variável IMC gestacional foi calculada utilizando o peso da paciente medido no momento da entrevista.

Óxido nítrico (NO) (micromol/mililitro – $\mu\text{mol/L}$)

Clearance creatinina (mL/min/1,73 m²)

Creatinina sérica (miligrama/decilitro – mg/dL)

IMC pré-gestacional (kg/m²)

IMC gestacional (kg/m²)

3.7 Variáveis categóricas⁵

Ocupação da gestante

Dona de casa (0)

Trabalha (33)

Não trabalha (77)

Grau de escolaridade

Ensino fundamental incompleto (11)

Ensino fundamental completo (22)

Ensino médio incompleto (33)

Ensino médio completo (44)

Ensino superior incompleto (55)

Ensino superior completo (66)

Antecedentes familiares de Pré-eclâmpsia

Não sabe (0)

Não (1)

Sim (2)

Estado nutricional pré-gestacional

Baixo peso (0)

Eutrofia (1)

⁵ Algumas variáveis categóricas foram codificadas pela pesquisadora. Os respectivos códigos utilizados estão representados entre parênteses após a descrição da categoria.

Sobrepeso (2)

Obesidade (3)

Estado nutricional gestacional

Baixo peso (0)

Eutrofia (1)

Sobrepeso (2)

Obesidade (3)

Suplemento vitamínico-mineral

Não ingere (0)

Ácido fólico (1)

Sulfato ferroso (2)

Ácido fólico/sulfato ferroso (3)

Paridade

Nenhum filho (11)

Um ou mais filhos (22)

Quantidade de abortos / natimortos

Nenhum

Um ou mais

Quantidade de filhos

Nenhum

Um

Dois ou mais

4. Análise descritiva

Com o intuito de avaliar e comparar os marcadores de interesse em ambos os grupos, inicialmente são apresentadas, no Apêndice A, tabelas descritivas das variáveis e, no Apêndice B, gráficos de percentis, que permitem uma melhor visualização das diferenças encontradas entre o grupo Controle e o grupo Pré-eclâmpsia. A fim de melhor entender essas diferenças, os níveis descritivos para o teste não paramétrico de Mann-Whitney⁶ também são apresentados junto às estatísticas descritivas. A utilização de um teste não paramétrico para a comparação entre os grupos se deve ao fato de que o tamanho amostral é pequeno e a suposição de normalidade dos dados (necessária para a aplicação de testes paramétricos) não é satisfeita para a maioria das variáveis.

♦ Variáveis de controle e discriminantes

Para ilustrar as distinções nas variáveis que discriminam os grupos, são apresentados a Tabela A.1 e o Gráfico B.4, onde o diâmetro da “bolha” representa o nível de proteína na urina para cada paciente. É possível observar que, tanto as variáveis relacionadas à pressão arterial quanto a variável proteinúria, apresentam valores bem diferentes entre os grupos, sendo que as observações para o grupo PE são expressivamente superiores aos do grupo CT. O teste de Mann-Whitney para essas variáveis confirma, através do valor-p do teste $< 0,001$, as significativas diferenças observadas.

Como era de se esperar, para algumas pacientes do grupo PE o nível de proteinúria observado foi altíssimo. Esse alto nível encontrado, junto com os altos níveis pressóricos, formam dentro do grupo doente, um subgrupo com três pacientes que são consideradas em estado de Pré-eclâmpsia grave – vide Tabela A.7.

Através do Gráfico B.3 é possível confirmar que há uma alta correlação linear entre as 3 variáveis discriminantes. Além da correlação esperada entre as variáveis da

⁶ O Teste não paramétrico de Mann-Whitney testa a hipótese de igualdade entre as Medianas (M_e) dos grupos analisados. Uma abordagem mais detalhada deste teste pode ser encontrada em CONOVER (1980).

pressão arterial, o nível de proteína na urina também é altamente correlacionado com os marcadores da pressão.

O Gráfico B.1 nos fornece informações sobre a idade das pacientes. Verifica-se que as gestantes do grupo PE possuem, em sua maioria, idades inferiores às do grupo CT, fato este que está relacionado a uma das causas de risco da doença – idades extremas (mulheres jovens ou mais velhas).

No Gráfico B.2 vemos que, apesar da distribuição dos dois grupos estarem centradas em, aproximadamente, 32 semanas gestacionais, a variância da variável idade gestacional no grupo PE é maior do que no grupo CT.

♦ Variáveis de interesse

Com relação às variáveis associadas ao Magnésio, apenas para a concentração de Magnésio na urina a média foi maior no grupo CT do que no grupo PE. Para as outras três variáveis relacionadas ao mineral, o grupo PE apresentou valores médios superiores ao do grupo CT sendo que as observações para a concentração no plasma e no eritrócito do grupo PE foram todas superiores às medidas do grupo CT (Gráficos B.5 a B.8). O valor encontrado para os níveis descritivos do teste de Mann-Whitney (Tabela A.2) apontou diferença entre os dois grupos nas variáveis que medem a concentração de Magnésio no plasma e no eritrócito.

Quanto às variáveis pró-oxidantes, o marcador 8-isoprostano apresentou valores maiores no grupo CT, enquanto que para o marcador Malondialdeído os valores, em geral, foram maiores no grupo PE (Tabela A.3 e Gráficos B.9 e B.10). De acordo com a literatura da área de estudo, é de se esperar que, quando medido na urina, os valores da variável 8-isoprostano sejam maiores no grupo saudável. Já com relação aos marcadores anti-oxidantes, atividade de Catalase e Glutathione Peroxidase (Gráficos B.11 e B.12), os valores para o grupo PE foram todos maiores quando comparados aos do grupo CT. Analisando essa situação, cria-se a hipótese de que os marcadores anti-oxidantes apresentem valores maiores no grupo PE com a finalidade de combater a oxidação presente em gestantes com a doença. Os valores-p para o teste de Mann-Whitney apontaram diferenças significantes entre os grupos para as variáveis 8-isoprostano e Catalase a um nível de confiança de 5%.

Para as variáveis de inflamação, é visível (Tabela A.4 e Gráficos B.13 e B.14) que os valores para os marcadores TNF- α e Interleucina-6 são muito maiores no grupo PE. Com relação ao marcador inflamatório Proteína C Reativa (Gráfico B.15) o grupo CT apresentou uma gestante com valores superiores ao do grupo PE, sendo tal valor muito discrepante dos demais encontrados nos dois grupos. Isso ocorreu, provavelmente, pelo fato desse marcador ser considerado muito sensível, ou seja, aumentando muito seu valor quando ocorre uma pequena variação na situação inflamatória da paciente. Desse modo, esse é considerado um *outlier* e, portanto, será retirado das análises inferenciais para que não exerça influência nos resultados. Exceto para a variável Proteína C Reativa, o teste de Mann-Whitney apontou diferença entre os grupos.

Para a variável Calorias, exceto por uma observação, o grupo PE apresentou valores maiores que o grupo CT (Gráfico B.16). Com relação às variáveis Carboidratos e Lipídios, o grupo PE apresentou valores superiores ao do grupo CT (Gráficos B.17 e B.18). As distribuições das variáveis Proteína e Fibras são bem próximas para os grupos (Gráficos B.19 e B.20). Analisando o teste de Mann-Whitney para as variáveis relacionadas à ingestão alimentar, a um nível de significância de 5%, apenas para a variável Carboidratos o teste apontou diferença entre o grupo CT e o grupo PE (Tabela A.5).

A variável relacionada à função renal, Óxido nítrico (NO), apresentou valores no grupo PE superiores aos do grupo CT (Gráfico B.21). Duas pacientes do grupo PE apresentaram valores bem maiores que o restante do grupo elevando a média da variável NO (Tabela A.6). Para a variável Clearance creatinina (Gráfico B.22), o grupo CT apresentou, em sua maioria, valores superiores aos do grupo PE, com médias iguais a 1,76 e 1,44, respectivamente. Já, para a variável Creatinina sérica (Gráfico B.23), os valores para o grupo PE foram, em geral, maiores do que os do grupo PE. O teste para comparação entre os grupos não indicou diferença significativa para a variável Clearance creatinina, mas indicou para a variável Creatinina sérica, a um nível de confiança de 5%.

Como a obesidade antes da gravidez é citada como um dos fatores de risco para a doença, foi analisada a variável IMC pré-gestacional, que, através da observação do gráfico de percentis (Gráfico B.24), nos mostra que, praticamente, não há diferença na

distribuição dessa variável para os dois grupos. Essas observações podem ser comprovadas pelos valores encontrados para as médias: CT – 24,41 e PE – 24,88 e pelo valor-p para o teste de Mann-Whitney: 0,682 (Tabela A.6).

Para as variáveis IMC gestacional e Renda per capita também não há evidências de diferença entre os grupos (Tabela A.6). Os valores do grupo PE são superiores ao do grupo CT para a variável IMC gestacional (Gráfico B.25) e, para a variável Renda per capita (Gráfico B.26), as distribuições dos dois grupos são bem próximas, porém, em geral, o grupo CT apresenta valores superiores aos do grupo PE.

♦ Variáveis categóricas

Para a variável escolaridade, optou-se por agrupar os 6 níveis iniciais em apenas 3 – Nível fundamental; Nível médio; Nível superior. Essa opção se deve ao fato de que, em algumas categorias, a frequência encontrada foi zero. Assim como, para a variável Ocupação da gestante optou-se por agrupar a categoria Dona de casa com a categoria Não trabalha.

Analisando os gráficos de barra para as variáveis categóricas apresentados no Apêndice B (Gráficos B.29 a B.37), vemos que 3 variáveis destacam certa distinção entre os grupos, sendo elas, Antecedentes familiares de Pré-eclâmpsia, Quantidade de filhos e Paridade.

Com relação à variável relacionada aos antecedentes familiares, apenas 11% das gestantes do grupo CT apresentaram resposta à categoria *sim*, sendo que no grupo PE, esse número sobe para 33% das gestantes.

No grupo PE, a quantidade de mulheres que não possuem filhos é quase 25% maior que no grupo CT (Gráfico B.35); vale lembrar que esta também é uma variável considerada como fator de risco para o surgimento da Pré-eclâmpsia. Para a variável Paridade (Gráfico B.36), o grupo PE é predominantemente formado por gestantes que ainda não tiveram filhos (cerca de 67%) e o grupo CT por gestantes que já tiveram, pelo menos, um filho (cerca de 60%).

A Tabela A.8 ilustra a frequência e o percentual encontrado para as categorias de cada variável categórica e apresenta, também, o valor do teste Qui-quadrado para comparação das frequências observadas em cada grupo, sendo que para nenhuma

variável, o teste não rejeitou a hipótese nula de homogeneidade. É válido ressaltar que, devido ao reduzido tamanho amostral, algumas categorias para certas variáveis apresentaram frequências baixíssimas, dificultando, dessa forma, identificar-se possíveis diferenças significantes através do teste realizado.

♦ Análise de correlações

A fim de verificar de que forma as variáveis acima analisadas se relacionam, foram calculados os coeficientes de correlação de Pearson e de Kendall entre as variáveis. Na análise de correlação linear utilizando o coeficiente de Pearson, ocorreu a formação de dois grupos com correlação significativa dentre as variáveis que o compõem.

No 1º grupo temos as variáveis *concentração de Magnésio no plasma*, os marcadores inflamatórios *TNF* e *IL6*, os marcadores anti-oxidantes *GPx* e *Catalase* e o *Óxido nítrico*. Os valores dos coeficientes de correlação e os gráficos de dispersão encontram-se no Gráfico B.27.

Para o 2º grupo temos 3 variáveis que apresentaram correlação significativa com a variável *Clearance creatinina*, sendo elas, a *ingestão de Magnésio*, a *Catalase* e o IMC pré-gestacional, sendo essas duas últimas correlacionadas negativamente com a variável medidora da função renal, *Clearance creatinina* (Gráfico B.28).

Com o intuito de verificar se as variáveis se relacionam de forma não linear, é apresentada a tabela de correlações utilizando o coeficiente não paramétrico de Kendall (Tabela A.9). Nessa tabela é possível verificar novamente que os marcadores inflamatórios *TNF* e *IL6* foram os que apresentaram correlação significativa com um maior número de variáveis. Além disso, as variáveis relacionadas às concentrações de *Magnésio no plasma* e *no eritrócito* apresentaram correlação significativa com as variáveis discriminantes, *Pressão arterial* (sistólica e diastólica) e *Proteinúria*.

5. Análise inferencial

Com a finalidade de classificar as gestantes participantes através das variáveis de interesse* da pesquisadora foi aplicada a técnica estatística multivariada, Análise de Conglomerados (MARDIA et al. 1980). Além disso, com o intuito de identificar um possível fator de causa da Pré-eclâmpsia foram ajustados 3 modelos de Regressão Logística. Os modelos, além de identificar as variáveis significantes para distinguir os grupos, permitem classificar futuras gestantes de acordo com a probabilidade calculada de apresentar Pré-eclâmpsia.

As próximas seções apresentam o resultado da Análise de conglomerados e as etapas para a pré-seleção das variáveis e os resultados obtidos com os ajustes dos modelos.

* Variáveis de interesse:

Ingestão de Magnésio (*IngestãoMg*)

Magnésio plasmático (*MgPlasma*)

Magnésio eritrocitário (*MgEr*)

Magnésio urinário (*MgUrina*)

Malondialdeído (*MDA*)

8-isoprostano

Glutathione peroxidase (*GPx*)

Catalase (*CAT*)

Proteína C-Reativa (*PCR*)

Interleucina-6 (*IL6*)

Fator de necrose tumoral-alfa (*TNF*)

Óxido nítrico (*NO*)

Clearance creatinina

IMC pré-gestacional (*IMC_pré*)

Calorias

5.1 Análise de conglomerados

O principal objetivo desta parte da análise foi classificar as gestantes segundo as variáveis de interesse da pesquisadora. O método de agrupamento utilizado é denominado *Ward* e caracteriza-se por buscar máxima homogeneidade dentro de cada grupo e máxima heterogeneidade entre os grupos.

Inicialmente aplicou-se a técnica para o agrupamento das variáveis. Para agrupar as variáveis, o método considera a matriz de correlação de Spearman entre as variáveis, sendo que o valor **1** para a correlação é considerado máxima similaridade entre as variáveis e o valor **-1** é considerado mínima similaridade (ou máxima dissimilaridade). O resultado obtido encontra-se no Gráfico D.1.

Analisando o resultado, podemos ver a formação de, basicamente, 4 grupos de variáveis: 1º grupo: 8-isoprostano, Magnésio eritrocitário, Interleucina-6, Magnésio plasmático e TNF- α ; 2º grupo: Magnésio urinário, Catalase, Glutathione peroxidase; 3º grupo: PCR e IMC pré-gestacional; 4º grupo: Calorias, NO, Clearance creatinina, Ingestão de Magnésio e Malondialdeído.

Para o agrupamento das gestantes também foi utilizado o método de *Ward* (Gráfico D.2). É possível identificar a formação de 5 grupos, sendo que dois deles (grupos 0 e 1) são predominantemente formados por gestantes do grupo CT e os outros três (grupos 2, 3 e 4) são predominantemente formados por gestantes do grupo PE.

Observando os Gráficos Box-plot D.3 a D.6, vemos que, com relação às variáveis relacionadas ao Magnésio, Ingestão de Magnésio e Magnésio plasmático são as variáveis que mais se diferem entre os grupos formados. Já, com relação às variáveis oxidantes, as variáveis Catalase e 8-isoprostano são as que parecem apresentar maiores diferenças entre os grupos. As variáveis inflamatórias TNF- α e Interleucina-6 também apresentam valores bem diferentes entre os grupos e, observando as demais variáveis (Gráfico D.6), a variável Clearance creatinina é a que assume valores mais discrepantes entre os grupos e, para a variável Óxido nítrico, o cluster 4 se difere bastante dos demais grupos. Além disso, o cluster 4 (formado por apenas 3 observações) é o que possui maior variabilidade dentre a maioria das variáveis analisadas quando comparado com os demais grupos.

5.2 Modelos de regressão logística

Os modelos de regressão logística apresentados a seguir têm como objetivo prever a probabilidade, a partir de um conjunto de medidas (variáveis preditoras), de uma gestante apresentar Pré-eclâmpsia. Uma breve introdução à essa técnica estatística pode ser vista no Apêndice E.

Para o ajuste dos modelos logísticos, as variáveis explicativas, por apresentarem valores/unidades de medida muito discrepantes, foram padronizadas (BUSSAB e MORETTIN (2011)), ou seja, transformadas através da seguinte função:

$$z_i = \frac{x_i - \bar{x}}{s},$$

em que,

$$\bar{x} = \frac{\sum_{i=1}^n x_i}{n} \text{ é a média amostral e,}$$

$$s = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x})^2}{n-1}} \text{ é o desvio padrão amostral.}$$

O primeiro modelo apresentado (Modelo 1) inclui, apenas, a variável inflamatória *TNF-α*. Essa variável, na análise descritiva, apresentou correlação significativa, dentre aquelas de interesse, com um grande número de variáveis. Também foi possível observar que, para esse marcador inflamatório, os valores para o grupo PE são expressivamente superiores aos do grupo CT (vide Gráfico B.13). Para o ajuste desse modelo, 2 observações foram excluídas por apresentarem dados faltantes.

O segundo modelo (Modelo 2) inclui as variáveis *Magnésio plasmático* e *8-isoprostano*. No ajuste desse modelo, 5 observações foram excluídas por apresentarem observações incompletas.

Levando em conta um dos fatores de risco da doença, obesidade pré-gestacional, era de interesse da pesquisadora analisar a variável IMC pré-gestacional. O coeficiente referente a essa variável não foi estatisticamente significativo no modelo logístico ajustado, porém, a variável Calorias mostrou-se significativa. É válido ressaltar

que assim como a variável IMC pré-gestacional a variável Calorias também está relacionada ao comportamento alimentar da gestante. Dessa forma, ajustou-se o Modelo 3, que inclui as variáveis *Magnésio plasmático*, *8-isoprostano* e *Calorias*.

Interpretação dos resultados

A interpretação de um modelo de Regressão Logística pode ser feita em termos de razão de chances. Os valores e^{β_i} são interpretados como a razão de chances, ou seja, como a quantidade de vezes que a chance de uma gestante apresentar Pré-eclâmpsia é multiplicada quando a variável relacionada ao coeficiente β_i aumenta em uma unidade⁷.

As Tabelas C.1, C.2 e C.3 apresentam as estimativas dos parâmetros da Regressão Logística com os respectivos erros padrão, bem como, as razões de chances e seus intervalos com confiança de 90% para os Modelos 1, 2 e 3, respectivamente. A seguir, são descritas as interpretações de cada modelo obtido, variável a variável.

Com relação ao Modelo 1 ajustado, apresentado na Tabela C.1, o valor e^{β_1} igual a 25,004 para a variável TNF- α nos diz que, quando a variável TNF- α aumenta em uma unidade, a chance de uma gestante apresentar a doença é multiplicada por 25.

Para os Modelos 2 e 3, os valores e^{β_i} para cada variável significativa no modelo devem ser interpretados considerando as demais variáveis com valores fixos.

Sendo assim, para o Modelo 2, fixando-se a variável 8-isoprostano, a chance de uma gestante apresentar Pré-eclâmpsia é multiplicada por 9,821 quando a variável Magnésio plasmático aumenta em uma unidade. Para a variável 8-isoprostano, considerando a variável Magnésio plasmático fixa, a chance de uma gestante apresentar a doença é multiplicada por 0,152 quando a variável 8-isoprostano aumenta em uma unidade. Como a razão de chances para esta variável é menor que 1 ($e^{\beta_2} =$

⁷ Uma breve explicação sobre o modelo de Regressão Logística é obtida no Apêndice E. Uma abordagem mais detalhada pode ser encontrada em HOSMER e LEMESHOW (1989).

0,152), a probabilidade de Pré-eclâmpsia tende a diminuir quando a variável 8-isoprostano aumenta.

Analogamente, a interpretação para a variável 8-isoprostano pode ser feita da seguinte forma: a cada decréscimo de uma unidade para esta variável, a chance de uma gestante apresentar Pré-eclâmpsia fica multiplicada por $\frac{1}{0,152} = 6,58$.

Já, para o Modelo 3, a cada acréscimo de uma unidade na variável Magnésio plasmático, fixando-se as variáveis Calorias e 8-isoprostano, a chance de uma gestante apresentar a doença é multiplicada por 21,838. De modo análogo, fixando-se as variáveis Magnésio plasmático e 8-isoprostano, a chance de uma gestante apresentar Pré-eclâmpsia fica multiplicada por 5,533 quando a variável Calorias aumenta em uma unidade.

Por fim, para a variável oxidante 8-isoprostano, quando o valor para essa variável aumenta em uma unidade, fixando-se as outras duas, a chance de uma gestante apresentar Pré-eclâmpsia é multiplicada por 0,104, isto é, à medida que a variável 8-isoprostano aumenta, a chance de uma gestante apresentar Pré-eclâmpsia tende a diminuir. Equivalentemente, podemos interpretar mais facilmente essa variável do seguinte modo: quando a variável 8-isoprostano apresenta decréscimo em uma unidade, fixando-se as variáveis Magnésio plasmático e Calorias, a chance de uma gestante apresentar a doença é multiplicada por $\frac{1}{0,104} = 9,62$. Novamente, essa interpretação se deve ao fato da razão de chances ser menor que 1 para a variável 8-isoprostano ($e^{\beta_3} = 0,104$).

As interpretações citadas acima podem ser visualizadas nos gráficos de probabilidade ajustada vs variável preditora apresentados no Apêndice D.

Os Gráficos D.7 e D.8 nos mostram que, para o Modelo 1, a medida que a variável TNF- α aumenta, a probabilidade de apresentar Pré-eclâmpsia também aumenta.

Para o Modelo 2, os Gráficos D.9 e D.10, nos mostram que, respectivamente, a medida que a variável Magnésio plasmático aumenta a probabilidade também aumenta e, a medida que a variável 8-isoprostano aumenta, a probabilidade diminui.

Os Gráficos D.11 e D.12 representam a variação da probabilidade em função das duas variáveis preditoras do modelo.

Por sua vez, para o Modelo 3, a medida que as variáveis Magnésio plasmático e Calorias aumentam, a probabilidade de Pré-eclâmpsia também aumenta (Gráficos D.13 e D.14) e, quando a variável 8-isoprostano assume valores maiores, a probabilidade diminui (Gráfico D.15). O Gráfico D.16 representa a variação da probabilidade em função das 3 variáveis preditoras do modelo, sendo que, o diâmetro de cada ponto é proporcional à probabilidade estimada para a gestante.

Precisão e ajuste dos modelos

Considerando as probabilidades calculadas para cada gestante, deve-se determinar um **ponto de corte** que será aplicado para classificar futuras gestantes no grupo CT ou PE, ou seja, para qual valor da probabilidade devemos considerar uma mulher pertencente ao grupo PE ou ao grupo CT.

Dentro deste contexto, devemos considerar dois importantes termos para verificar a precisão do modelo ajustado: Sensibilidade e Especificidade.

- ♦ **Sensibilidade:** mede a capacidade do teste em identificar corretamente a doença entre aquelas que a possuem, ou seja, o quão sensível é o teste.
- ♦ **Especificidade:** mede a capacidade do teste em excluir corretamente aquelas que não possuem a doença, ou seja, o quão específico é o teste.

Estes dois índices medem a eficiência da previsão e é desejável um ponto de corte que maximize as duas medidas conjuntamente.

Para o Modelo 1, com o ponto de corte 0,60, a estimativa pontual da sensibilidade é de 83,3%, isto é, em 83,3% das vezes o modelo classificou corretamente uma gestante com Pré-eclâmpsia no grupo PE. Já, para a especificidade, o valor encontrado foi 93,8%, ou seja, em 93,8% das vezes o modelo classificou gestantes no grupo CT quando a gestante realmente não possuía a doença (Tabela C.4). Tais valores, juntamente com as respectivas estimativas intervalares, são

encontrados no Gráfico D.17, que também ilustra a curva ROC (ZWEIG e CAMPBELL, 1993) do modelo ajustado.

O Modelo 2, considerando o ponto de corte 0,34, apresentou uma sensibilidade de 93,3% e uma especificidade de 75,0%, (Tabela C.5 e Gráfico D.19). Já, para o Modelo 3 (Tabela C.6 e Gráfico D.21), encontramos o valor 91,7% para a sensibilidade e 92,7% para a especificidade com o ponto de corte igual a 0,52. Os Gráficos D.18, D.20 e D.22 ilustram, respectivamente para os modelos 1, 2 e 3, as probabilidades preditas para as gestantes, bem como, as linhas de sensibilidade representam os pontos de corte acima citados.

Com relação à análise de ajuste dos modelos, são apresentados os gráficos *envelope* e da *distância de Cook* (PAULA, 2010) para verificar a qualidade do ajuste. Vemos que, para o 3 modelos apresentados, os ajustes estão bons, já que, para os gráficos envelope (Gráficos D.23 a D.25) os pontos residuais encontram-se dentro da banda de confiança e para os da distância de Cook, não há nenhuma observação de grande influência no ajuste dos modelos (Gráficos D.26 a D.28).

6. Conclusões

Através da análise descritiva podemos observar que as variáveis de concentração de Magnésio que mais parecem se relacionar com as variáveis discriminantes (PAS, PAD e proteinúria) são a concentração de Mg no plasma e a concentração no eritrócito. Para tais variáveis, a concentração no grupo PE é significativamente maior do que no grupo CT.

Com relação aos marcadores inflamatórios, o grupo PE apresentou valores significativamente maiores do que o grupo CT, levando-nos a considerar uma possível relação da doença com as manifestações inflamatórias. Dentre os marcadores inflamatórios, as variáveis TNF e Catalase, juntamente com a concentração de Óxido nítrico, apresentaram correlações significantes com um maior número de variáveis.

Através da análise inferencial, é possível notar que a variável inflamatória TNF- α é a variável que melhor discrimina os indivíduos da amostra. Além disso, as variáveis Magnésio plasmático, 8-isoprostano e Calorias demonstraram ser significantes para a detecção de Pré-eclâmpsia.

Com os modelos ajustados é possível determinar a probabilidade de uma gestante apresentar Pré-eclâmpsia e, dessa forma, decidir a melhor forma de prevenção/tratamento da doença.

Apêndice A:
Tabelas descritivas

Tabela A.1 – Estatísticas descritivas para as variáveis discriminantes.

| Variável | Grupo | N | Mínimo | Máximo | Média | Erro padrão | Mann-Whitney valor-p |
|-----------------------------|-------|----|--------|--------|--------|-------------|----------------------|
| Pressão arterial sistólica | CT | 18 | 90,00 | 118,00 | 103,56 | 1,80 | < 0,001 |
| | PE | 18 | 140,00 | 180,00 | 156,94 | 2,45 | |
| Pressão arterial diastólica | CT | 18 | 52,00 | 80,00 | 66,56 | 1,88 | < 0,001 |
| | PE | 18 | 87,00 | 120,00 | 100,94 | 2,32 | |
| Proteinúria | CT | 16 | 0,04 | 0,23 | 0,13 | 0,01 | < 0,001 |
| | PE | 18 | 0,23 | 3,68 | 1,27 | 0,27 | |

Tabela A.2 – Estatísticas descritivas das variáveis relacionadas ao Magnésio.

| Variável | Grupo | N | Mínimo | Máximo | Média | Erro padrão | Mann-Whitney valor-p |
|------------------------|-------|----|--------|--------|--------|-------------|----------------------|
| Ingestão de Magnésio | CT | 16 | 219,80 | 377,50 | 294,26 | 13,18 | 0,299 |
| | PE | 15 | 209,20 | 418,00 | 311,87 | 12,74 | |
| Magnésio plasmático | CT | 18 | 0,61 | 0,79 | 0,70 | 0,01 | 0,001 |
| | PE | 18 | 0,65 | 1,02 | 0,82 | 0,03 | |
| Magnésio eritrocitário | CT | 18 | 1,44 | 2,41 | 2,03 | 0,06 | 0,005 |
| | PE | 18 | 1,31 | 2,91 | 2,29 | 0,09 | |
| Magnésio urinário | CT | 16 | 1,26 | 5,90 | 3,03 | 0,31 | 0,338 |
| | PE | 15 | 0,37 | 5,18 | 2,64 | 0,29 | |

Tabela A.3 – Estatísticas descritivas das variáveis relacionadas aos marcadores oxidantes.

| Variável | Grupo | N | Mínimo | Máximo | Média | Erro padrão | Mann-Whitney valor-p |
|-------------------------------|-----------|----|--------|---------|---------|-------------|----------------------|
| 8-isoprostano | CT | 16 | 629,32 | 2580,11 | 1387,52 | 145,39 | 0,03 |
| | PE | 15 | 538,15 | 1338,98 | 915,72 | 63,36 | |
| Malondialdeído | CT | 18 | 0,20 | 0,93 | 0,51 | 0,04 | 0,152 |
| | PE | 18 | 0,33 | 0,80 | 0,58 | 0,03 | |
| Catalase | CT | 18 | 10,50 | 22,44 | 15,05 | 0,70 | 0,003 |
| | PE | 18 | 13,25 | 31,64 | 19,57 | 1,24 | |
| Glutathiona peroxidase | CT | 18 | 33,55 | 98,51 | 54,85 | 4,07 | 0,171 |
| | PE | 18 | 32,17 | 146,93 | 71,81 | 7,71 | |

Tabela A.4 – Estatísticas descritivas das variáveis relacionadas aos marcadores inflamatórios.

| Variável | Grupo | N | Mínimo | Máximo | Média | Erro padrão | Mann-Whitney valor-p |
|--|-----------|----|--------|--------|-------|-------------|----------------------|
| Fator necrose tumoral-α | CT | 16 | 0,02 | 2,97 | 0,62 | 0,19 | < 0,001 |
| | PE | 18 | 0,55 | 6,83 | 2,93 | 0,40 | |
| Interleucina-6 | CT | 18 | 0,46 | 5,75 | 1,51 | 0,28 | 0,001 |
| | PE | 18 | 0,77 | 8,12 | 3,12 | 0,45 | |
| Proteína C-Reativa | CT | 18 | 0,99 | 59,63 | 9,12 | 3,08 | 0,424 |
| | PE | 18 | 0,44 | 38,75 | 10,08 | 2,23 | |

Tabela A.5 – Estatísticas descritivas para as variáveis relacionadas à ingestão alimentar.

| Variável | Grupo | N | Mínimo | Máximo | Média | Erro padrão | Mann-Whitney valor-p |
|---------------------|-----------|----|---------|---------|---------|-------------|----------------------|
| Calorias | CT | 16 | 1367,90 | 4351,20 | 2417,39 | 179,51 | 0,188 |
| | PE | 15 | 1426,60 | 3854,50 | 2681,31 | 191,90 | |
| Carboidratos | CT | 16 | 265,64 | 359,80 | 302,74 | 7,10 | 0,003 |
| | PE | 15 | 300,48 | 383,46 | 340,95 | 7,55 | |
| Proteínas | CT | 16 | 71,18 | 137,45 | 102,46 | 5,11 | 0,188 |
| | PE | 15 | 85,02 | 147,67 | 110,77 | 3,78 | |
| Lipídios | CT | 16 | 68,50 | 108,49 | 90,16 | 2,43 | 0,078 |
| | PE | 15 | 79,85 | 115,80 | 98,04 | 2,69 | |
| Fibras | CT | 16 | 19,44 | 52,90 | 32,68 | 2,58 | 0,953 |
| | PE | 15 | 16,20 | 46,90 | 31,53 | 1,99 | |

Tabela A.6 – Estatísticas descritivas para as demais variáveis contínuas do estudo.

| Variável | Grupo | N | Mínimo | Máximo | Média | Erro padrão | Mann-Whitney valor-p |
|-----------------------------|-----------|----|--------|---------|--------|-------------|----------------------|
| Óxido nítrico | CT | 18 | 2,12 | 11,48 | 6,29 | 0,66 | 0,006 |
| | PE | 18 | 3,59 | 48,88 | 13,97 | 3,13 | |
| Clearance creatinina | CT | 16 | 0,68 | 2,39 | 1,76 | 0,13 | 0,129 |
| | PE | 15 | 0,59 | 2,61 | 1,44 | 0,14 | |
| Creatinina sérica | CT | 18 | 0,51 | 0,87 | 0,61 | 0,02 | < 0,001 |
| | PE | 18 | 0,56 | 1,47 | 0,87 | 0,06 | |
| IMC pré-gestacional | CT | 18 | 18,99 | 33,74 | 24,41 | 1,14 | 0,682 |
| | PE | 15 | 17,25 | 32,37 | 24,88 | 1,12 | |
| IMC gestacional | CT | 18 | 21,94 | 34,64 | 27,69 | 0,98 | 0,226 |
| | PE | 18 | 18,67 | 39,14 | 29,66 | 1,31 | |
| Renda per capita | CT | 18 | 156,00 | 2799,00 | 883,00 | 150,09 | 0,463 |
| | PE | 16 | 207,00 | 2333,00 | 734,56 | 130,59 | |

Tabela A.7 – Gestantes do grupo PE em estado grave.

| Gestante | PAS | PAD | Proteinúria |
|----------|-----|-----|-------------|
| FRS | 170 | 120 | 3,68 |
| IPR | 160 | 100 | 3,58 |
| ABC | 150 | 100 | 3,11 |


Tabela A.8 – Tabela de frequências e percentuais para as variáveis categóricas.


| Variável | Categorias | CT | | PE | | Total | | Qui-quadrado* valor-p |
|--|--------------------------------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|--------------------------|
| | | freq. | % | freq. | % | freq. | % | |
| Ocupação da gestante | trabalha | 16 | 88,89 | 14 | 77,78 | 30 | 83,33 | 0,659 |
| | não trabalha | 2 | 11,11 | 4 | 22,22 | 6 | 16,67 | |
| Antecedentes familiares de Pré-eclâmpsia | não sabe | 3 | 16,67 | 4 | 22,22 | 7 | 19,44 | 0,227 |
| | não | 13 | 72,22 | 8 | 44,44 | 21 | 58,33 | |
| | sim | 2 | 11,11 | 6 | 33,33 | 8 | 22,22 | |
| Estado nutricional pré-gestacional | baixo peso | 4 | 22,22 | 2 | 13,33 | 6 | 18,18 | 0,770 |
| | eutrofia | 8 | 44,44 | 8 | 53,33 | 16 | 48,48 | |
| | sobrepeso | 1 | 5,56 | 2 | 13,33 | 3 | 9,09 | |
| | obesidade | 5 | 27,78 | 3 | 20,00 | 8 | 24,24 | |
| Estado nutricional gestacional | baixo peso | 4 | 22,22 | 3 | 16,67 | 7 | 19,44 | 0,681 |
| | eutrofia | 6 | 33,33 | 3 | 16,67 | 9 | 25,00 | |
| | sobrepeso | 4 | 22,22 | 7 | 38,89 | 11 | 30,56 | |
| | obesidade | 4 | 22,22 | 5 | 27,78 | 9 | 25,00 | |
| Suplemento vitamínico-mineral | não ingere | 1 | 5,56 | 0 | 0,00 | 1 | 2,78 | 0,253 |
| | ácido fólico | 4 | 22,22 | 1 | 5,56 | 5 | 13,89 | |
| | sulfato ferroso | 0 | 0,00 | 1 | 5,56 | 1 | 2,78 | |
| | ácido fólico e sulfato ferroso | 13 | 72,22 | 16 | 88,89 | 29 | 80,56 | |
| Quantidade de abortos/natimortos | nenhum | 13 | 72,22 | 15 | 83,33 | 28 | 77,78 | 0,320 |
| | um ou mais | 5 | 27,78 | 3 | 16,67 | 8 | 22,22 | |
| Quantidade de filhos | nenhum | 9 | 50,00 | 13 | 72,22 | 22 | 61,11 | 0,503 |
| | um | 6 | 33,33 | 3 | 16,67 | 9 | 25,00 | |
| | dois ou mais | 3 | 16,67 | 2 | 11,11 | 5 | 13,89 | |
| Paridade | nenhum filho | 7 | 38,89 | 12 | 66,67 | 19 | 52,78 | 0,1804 |
| | um ou mais | 11 | 61,11 | 6 | 33,33 | 17 | 47,22 | |
| Escolaridade | ensino fundamental | 3 | 16,67 | 5 | 27,78 | 8 | 22,22 | 0,809 |
| | ensino médio | 11 | 61,11 | 10 | 55,56 | 21 | 58,33 | |
| | ensino superior | 4 | 22,22 | 3 | 16,67 | 7 | 19,44 | |

*Teste Qui-quadrado com correção de Yates.

Tabela A.9 – Tabela de correlações de Kendall (com o correspondente nível descritivo para o teste de hipóteses de correlação nula).

| | PAS | PAD | Proteinúria | Ingestão Mg | Mg Urina | Mg Plasma | Mg Eritrócito | isoprostano8 | MDA | CAT | GPx | TNF | IL6 | PCR | NO | Clearance |
|---------------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|------------------|-----------------|
| PAD | ,743** 0,000 | | | | | | | | | | | | | | | |
| Proteinúria | ,602** 0,000 | ,607** 0,000 | | | | | | | | | | | | | | |
| Ingestão Mg | 0,086 0,505 | 0,117 0,372 | 0,134 0,311 | | | | | | | | | | | | | |
| Mg Urina | -0,071 0,584 | -0,085 0,515 | 0,052 0,683 | 0,052 0,708 | | | | | | | | | | | | |
| Mg Plasma | ,404** 0,001 | ,332** 0,007 | ,371** 0,003 | -0,011 0,932 | 0,007 0,959 | | | | | | | | | | | |
| Mg Eritrócito | ,364** 0,002 | ,369** 0,002 | ,318** 0,009 | -0,032 0,799 | -0,045 0,721 | ,336** 0,005 | | | | | | | | | | |
| isoprostano8 | -0,247 0,057 | -0,204 0,119 | -0,210 0,099 | -0,102 0,467 | 0,013 0,919 | 0,053 0,682 | -0,017 0,892 | | | | | | | | | |
| MDA | 0,081 0,502 | 0,142 0,243 | 0,103 0,397 | 0,164 0,196 | -0,033 0,798 | 0,081 0,494 | 0,076 0,521 | -0,074 0,563 | | | | | | | | |
| CAT | 0,195 0,103 | 0,226 0,062 | 0,171 0,159 | -0,067 0,598 | -0,239 0,059 | ,288** 0,015 | 0,152 0,195 | -0,060 0,634 | 0,032 0,785 | | | | | | | |
| GPx | 0,069 0,565 | -0,025 0,837 | 0,004 0,976 | 0,011 0,932 | -0,220 0,083 | ,263** 0,026 | 0,217 0,064 | -0,062 0,622 | 0,040 0,733 | ,354** 0,002 | | | | | | |
| TNF | ,428** 0,001 | ,414** 0,001 | ,387** 0,002 | 0,037 0,778 | -0,096 0,464 | ,385** 0,002 | ,338** 0,005 | -,281* 0,032 | 0,232 0,056 | ,316** 0,009 | 0,182 0,130 | | | | | |
| IL6 | ,262** 0,028 | ,314** 0,009 | ,285** 0,018 | 0,069 0,586 | -0,041 0,747 | ,396** 0,001 | ,419** 0,000 | 0,017 0,892 | 0,117 0,320 | ,380** 0,001 | ,359** 0,002 | ,329** 0,006 | | | | |
| PCR | -0,025 0,837 | 0,030 0,805 | -0,038 0,755 | -0,002 0,986 | 0,050 0,696 | 0,071 0,548 | 0,053 0,653 | 0,060 0,634 | -0,029 0,806 | 0,184 0,114 | 0,113 0,333 | 0,066 0,583 | ,307** 0,009 | | | |
| NO | ,247** 0,039 | 0,229 0,058 | 0,189 0,119 | -0,101 0,424 | -0,097 0,444 | ,333** 0,005 | 0,139 0,236 | -0,034 0,786 | ,320** 0,006 | 0,219 0,060 | ,249** 0,032 | ,414** 0,001 | ,310** 0,008 | -0,003 0,978 | | |
| Clearance | -0,136 0,296 | -0,196 0,136 | -0,057 0,658 | ,307** 0,029 | ,363** 0,004 | -0,154 0,232 | -0,113 0,376 | -0,076 0,552 | -0,140 0,276 | -,277* 0,029 | -0,222 0,080 | -0,220 0,095 | -0,169 0,185 | -0,013 0,919 | -,376** 0,003 | |
| IMC_pré | 0,078 0,533 | 0,067 0,595 | 0,019 0,878 | 0,005 0,970 | -0,228 0,089 | 0,035 0,780 | 0,134 0,277 | 0,069 0,607 | -0,063 0,609 | -0,002 0,988 | 0,235 0,055 | 0,000 1,000 | 0,165 0,178 | ,320** 0,009 | 0,176 0,150 | -,292* 0,030 |

 Variáveis significativamente correlacionadas positivamente

 Variáveis significativamente correlacionadas negativamente

Apêndice B:
Gráficos da análise descritiva

Gráfico B.1 – Box-plot da variável *Idade da gestante (em anos)*.

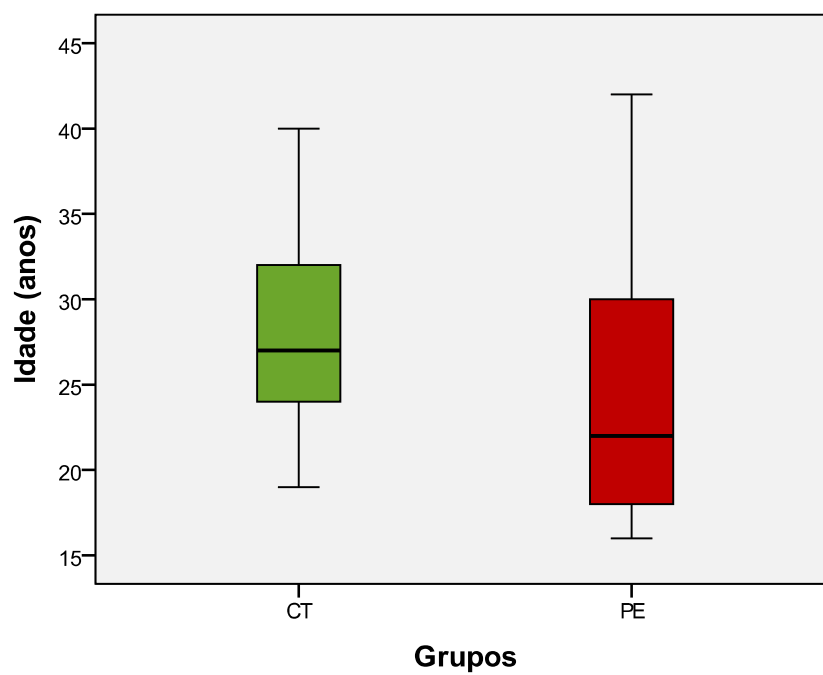


Gráfico B.2 – Box-plot da variável *Idade gestacional (em semanas gestacionais)*.

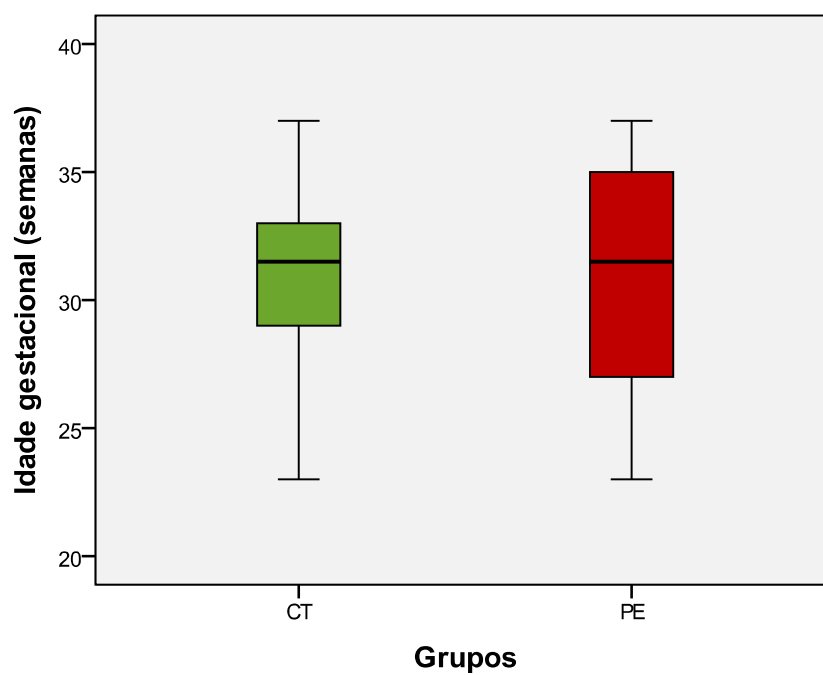


Gráfico B.3 - Painel para análise de correlação entre as variáveis discriminantes:
Pressão arterial sistólica, Pressão diastólica e Proteinúria.

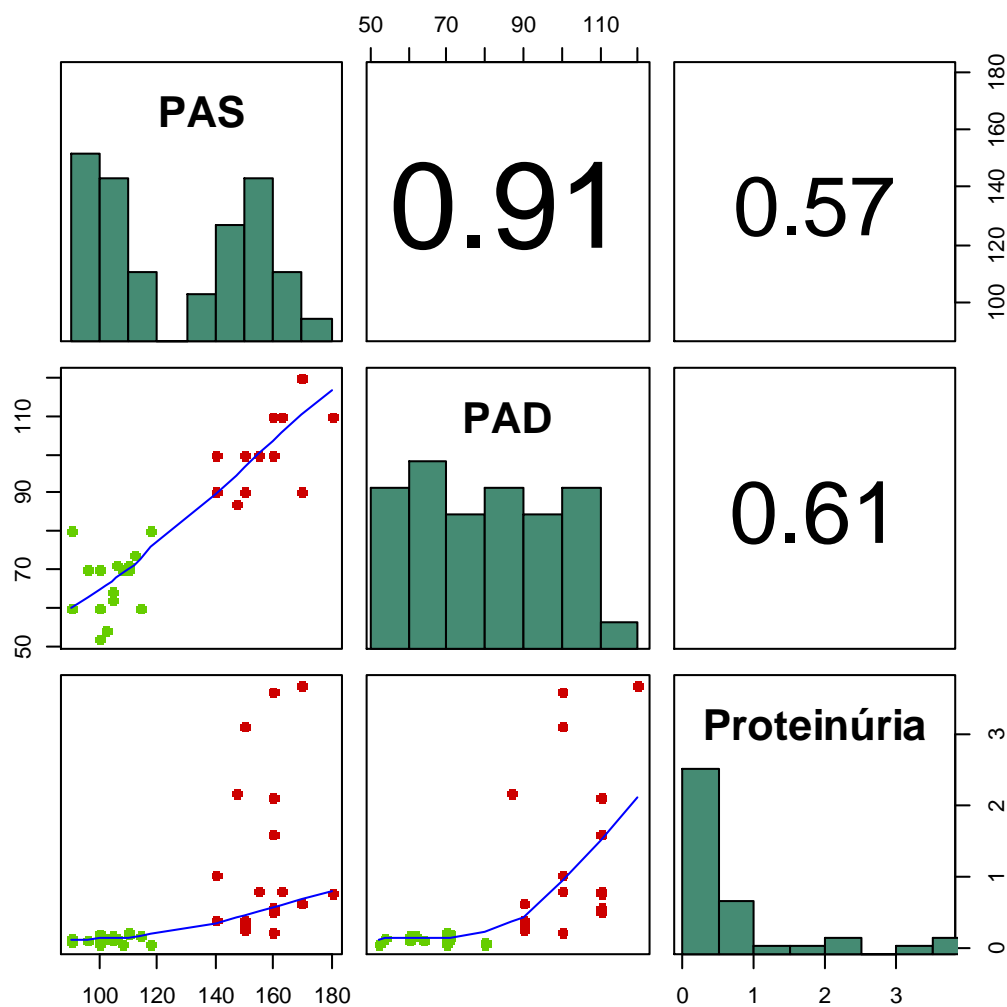


Gráfico B.4 – Gráfico de bolha para as variáveis *PAS x PAD x Proteinúria*.

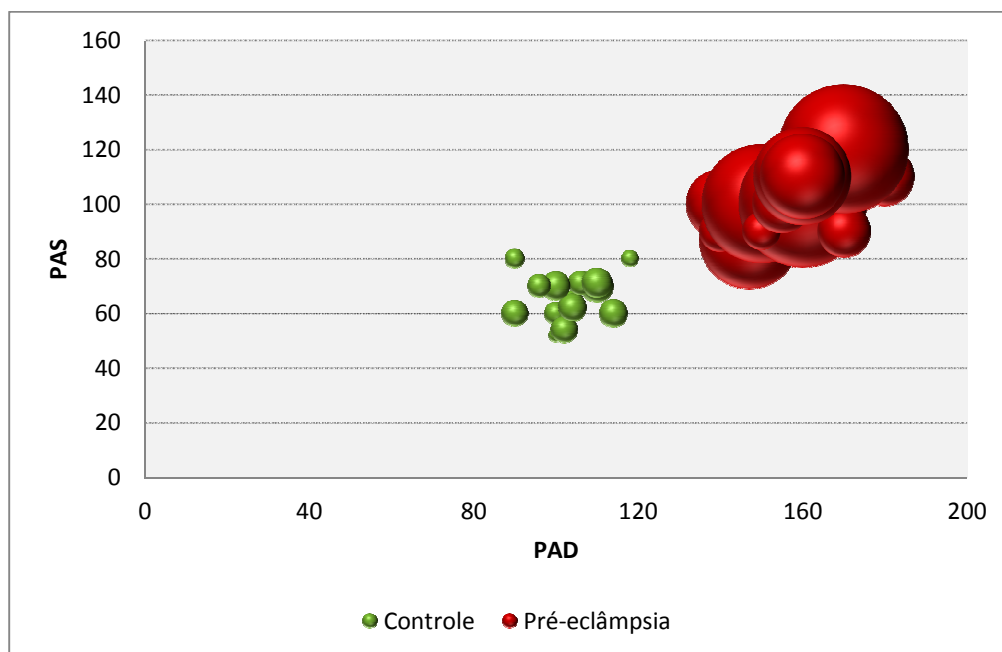


Gráfico B.5 – Gráfico de percentis para a variável *Ingestão de Magnésio*.

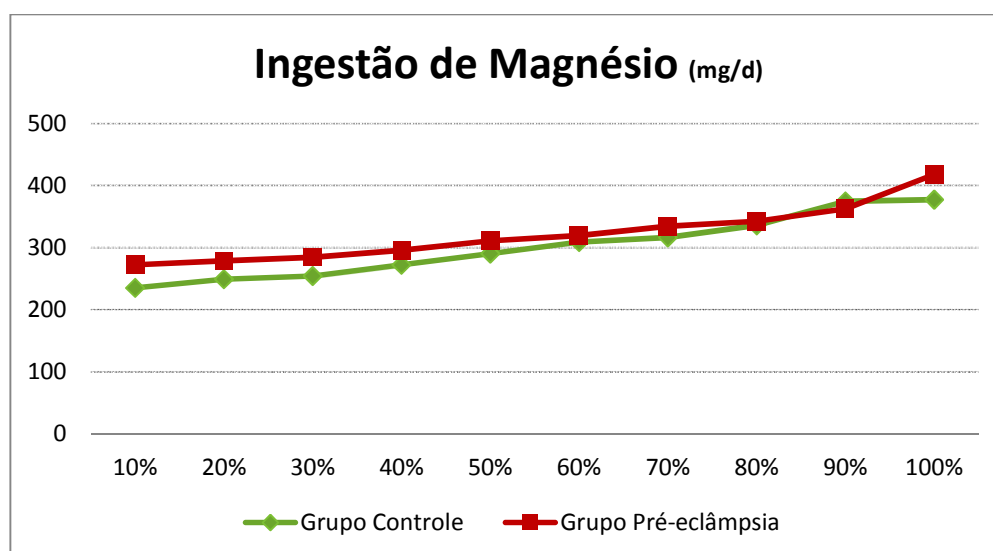


Gráfico B.6 – Gráfico de percentis para a variável *Magnésio urinário*.

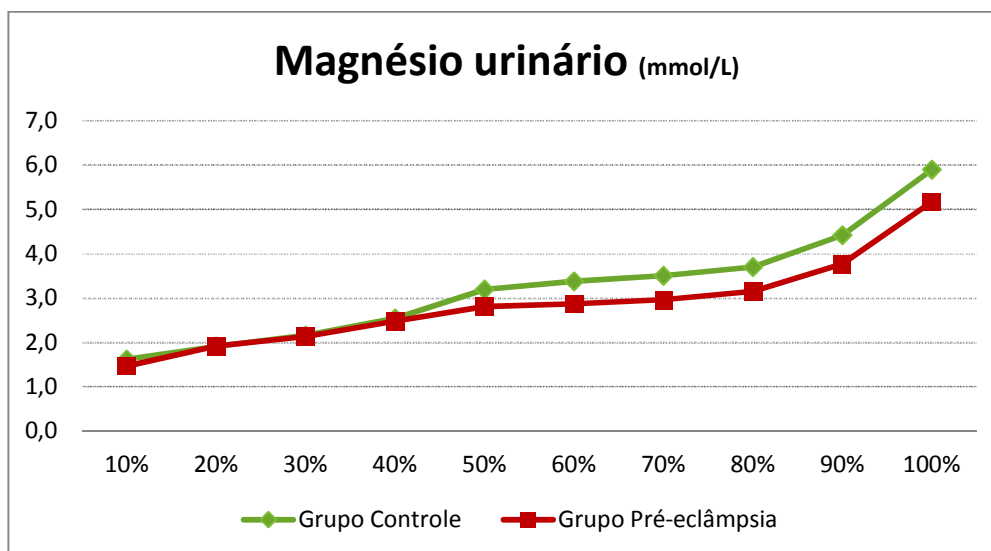


Gráfico B.7 – Gráfico de percentis para a variável *Magnésio plasmático*.

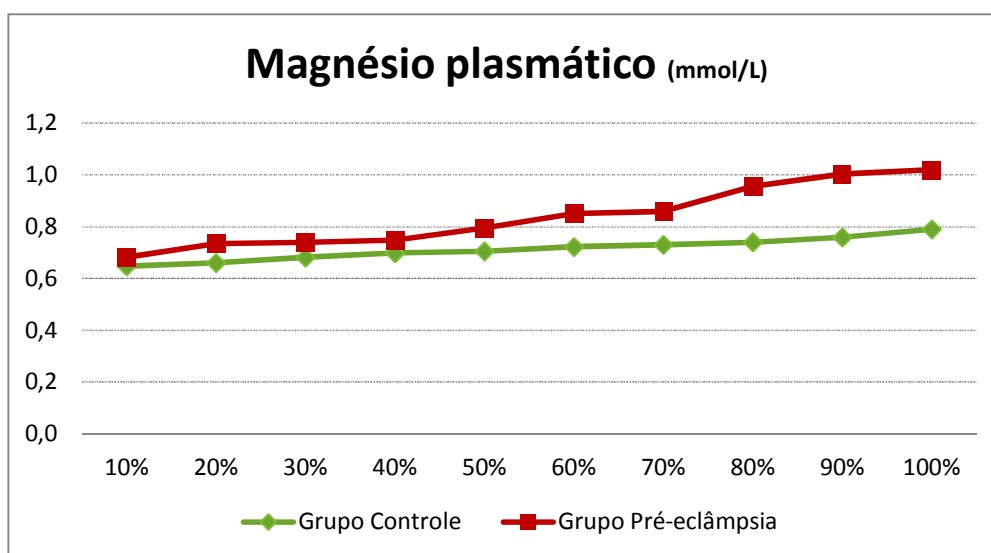


Gráfico B.8 – Gráfico de percentis para a variável *Magnésio eritrocitário*.

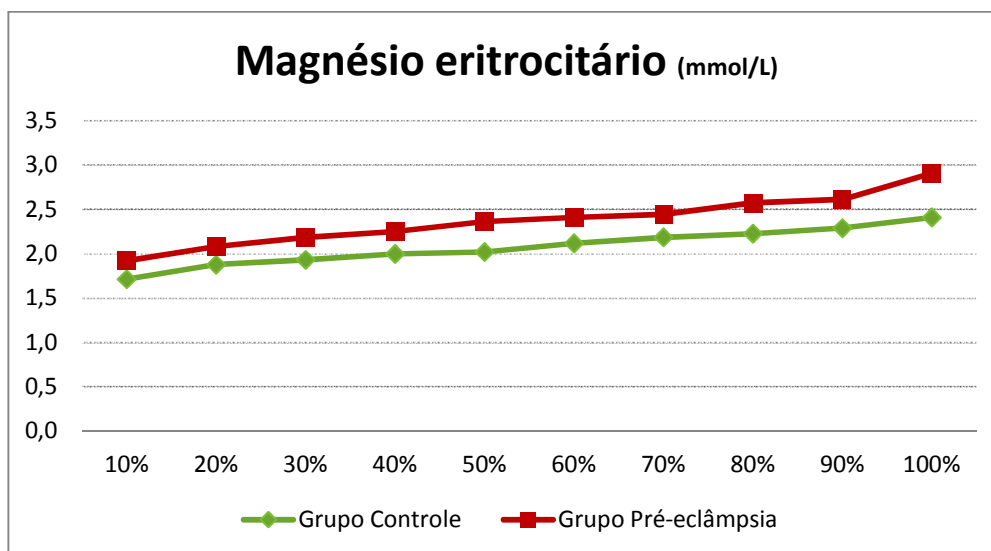


Gráfico B.9 – Gráfico de percentis para a variável pró-oxidante *8-isoprostano urinário*.

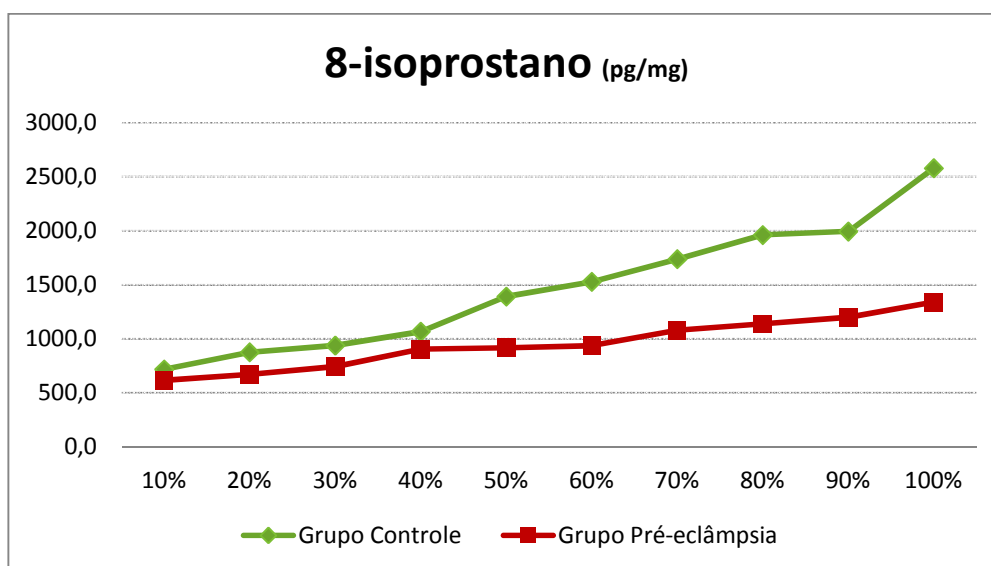


Gráfico B.10 – Gráfico de percentis para a variável pró-oxidante *Malondialdeído*.

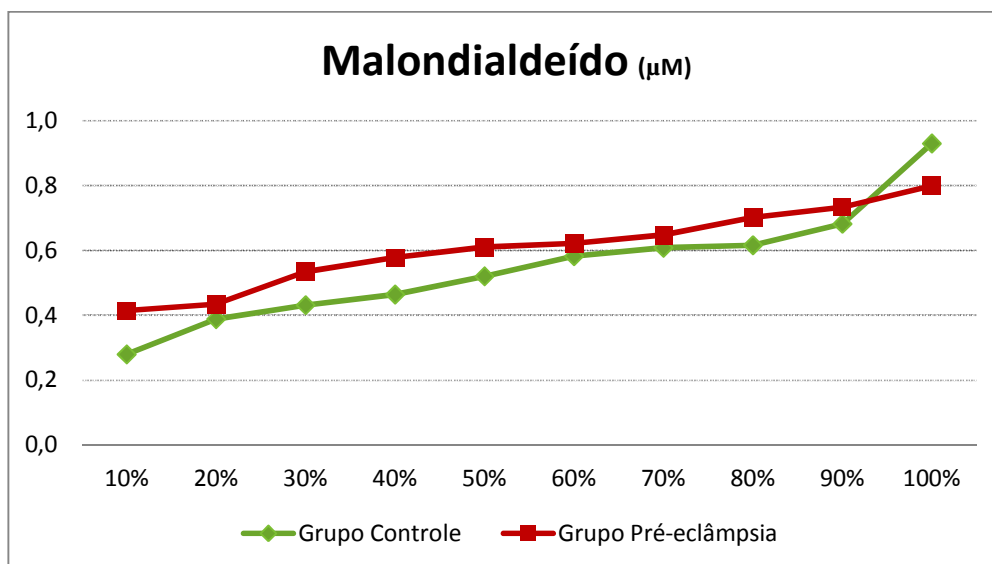


Gráfico B.11 – Gráfico de percentis para a variável anti-oxidante Catalase.

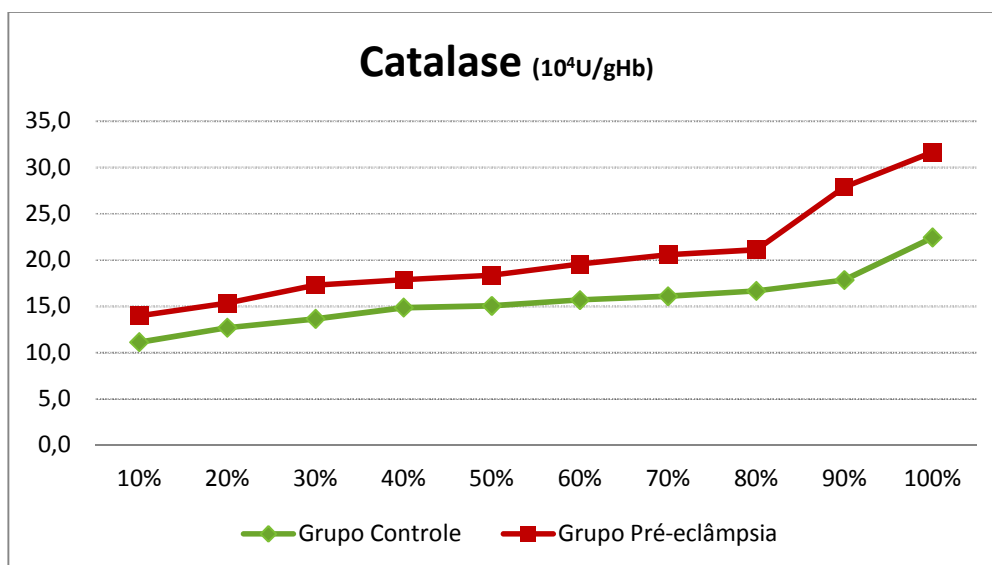


Gráfico B.12 – Gráfico de percentis para a variável anti-oxidante *Glutathione Peroxidase*.

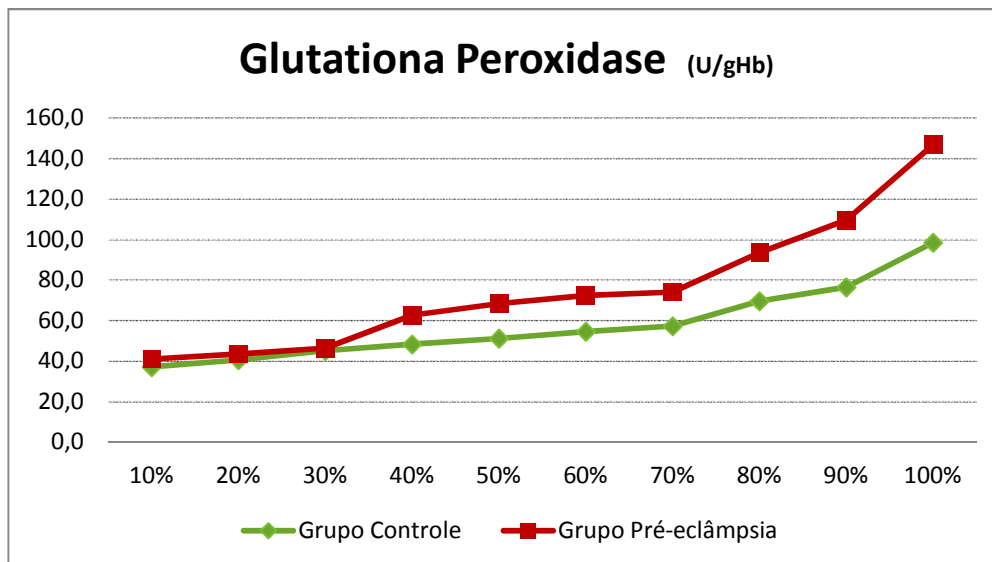


Gráfico B.13 – Gráfico de percentis para a variável inflamatória *Fator de necrose tumoral- α* .

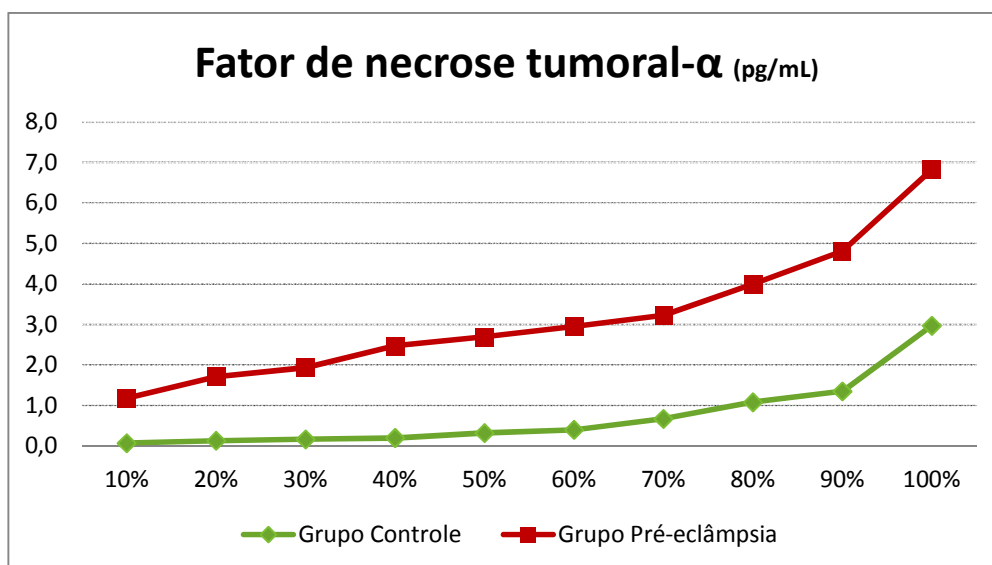


Gráfico B.14 – Gráfico de percentis para a variável inflamatória *Interleucina 6*.

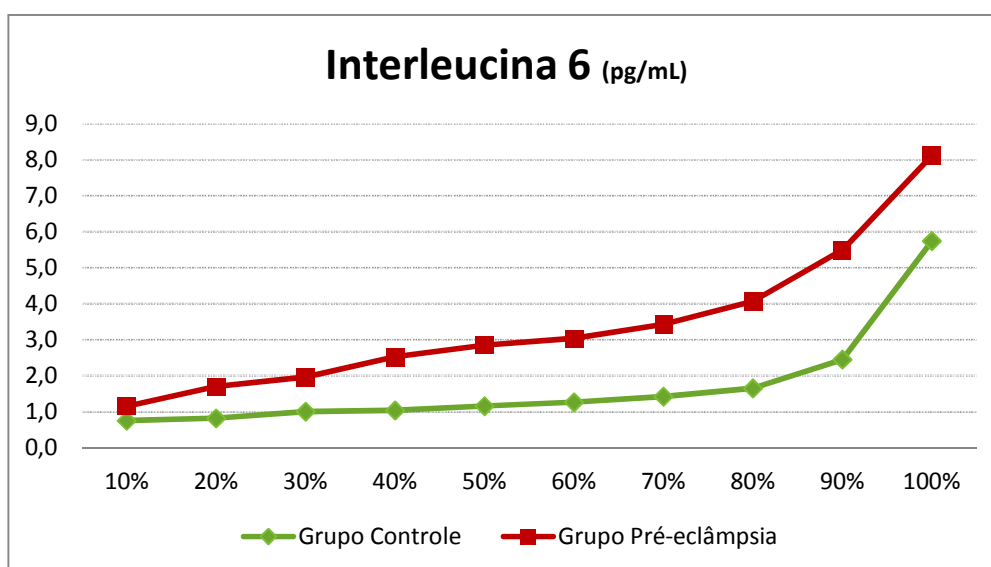


Gráfico B.15 – Gráfico de percentis para a variável *Proteína C-Reativa*.

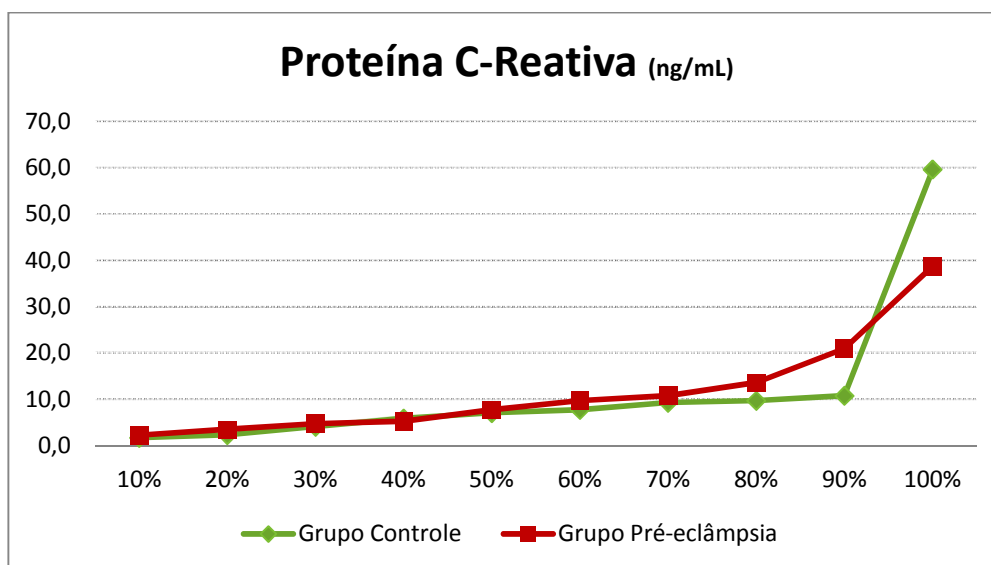


Gráfico B.16 – Gráfico de percentis para a variável *Calorias*.

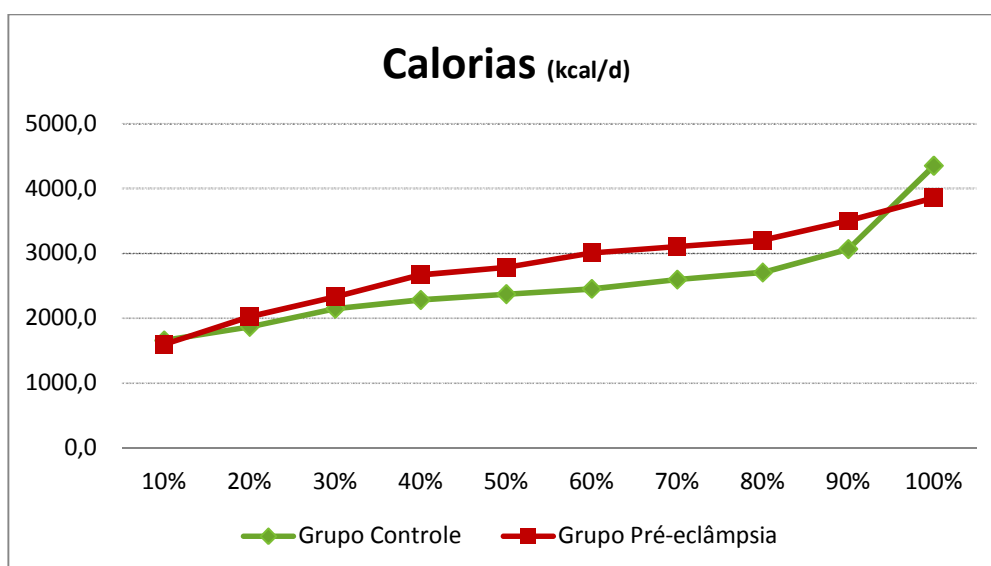


Gráfico B.17 – Gráfico de percentis para a variável *Carboidratos*.

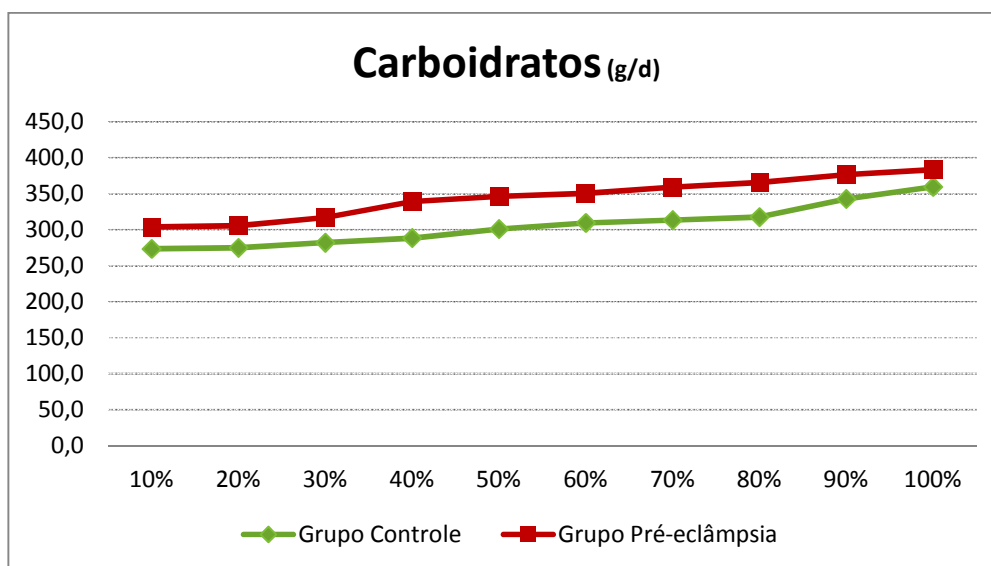


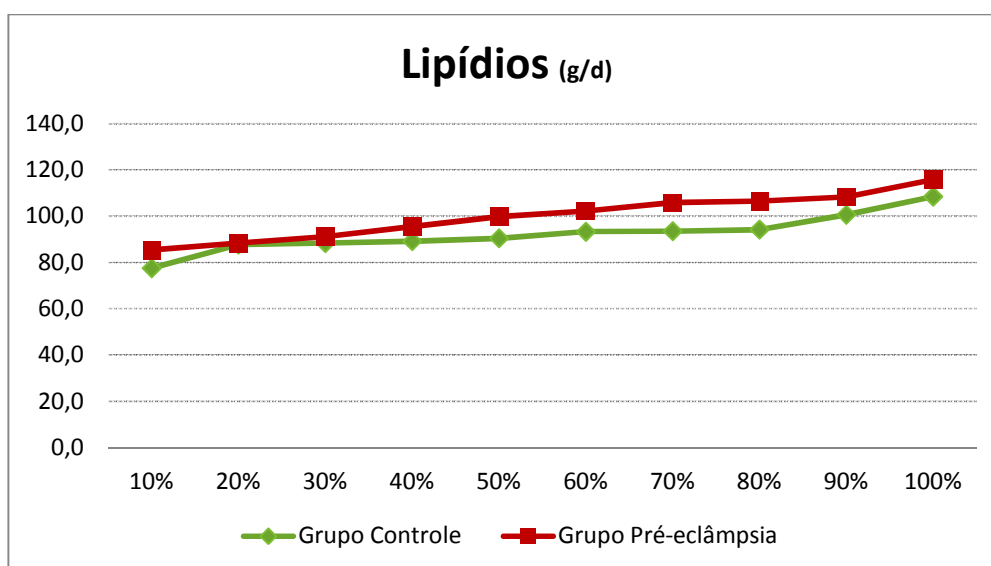
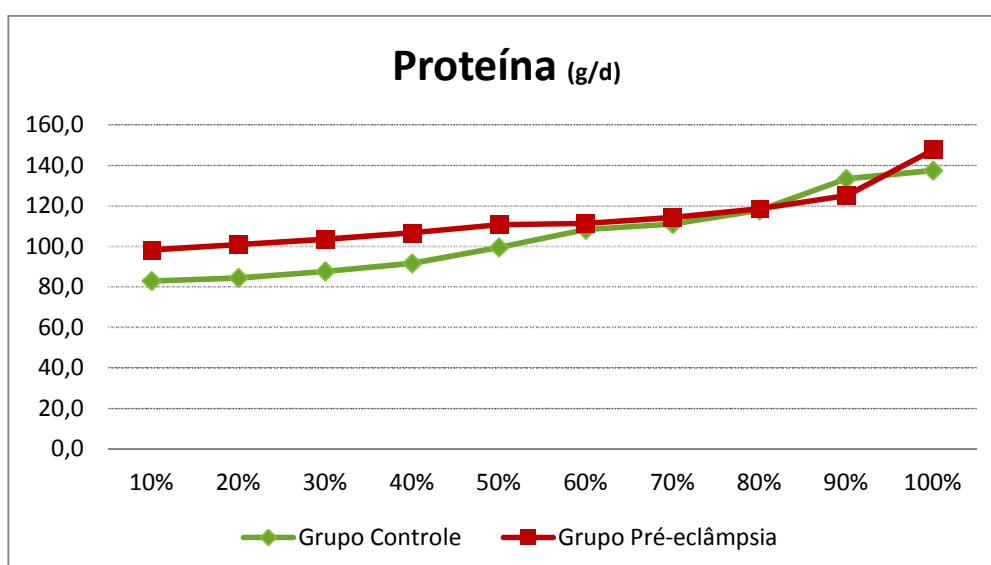
Gráfico B.18 – Gráfico de percentis para a variável *Lipídios*.**Gráfico B.19 – Gráfico de percentis para a variável *Proteína*.**

Gráfico B.20 – Gráfico de percentis para a variável *Fibras*.

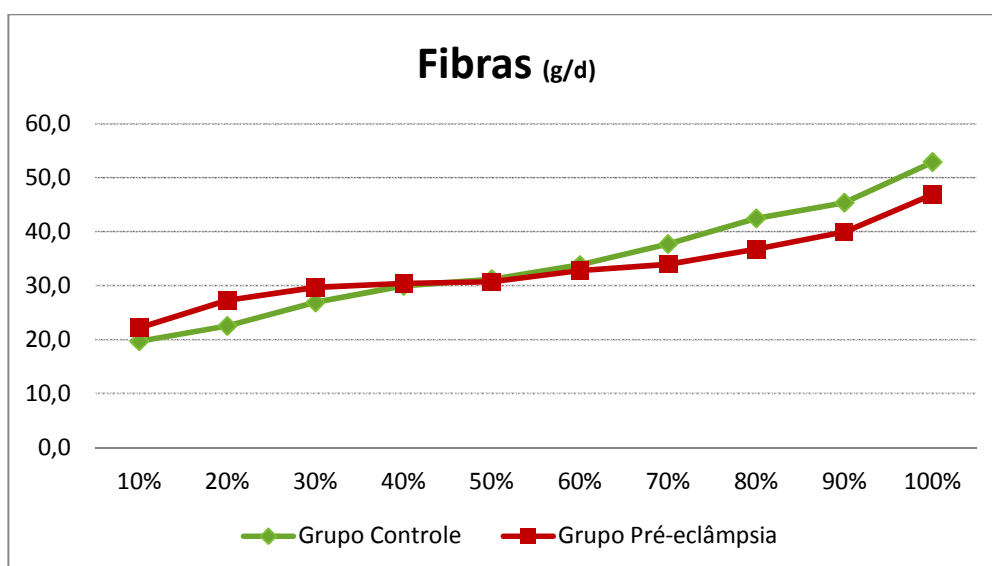


Gráfico B.21 – Gráfico de percentis para a variável *Óxido nítrico*.

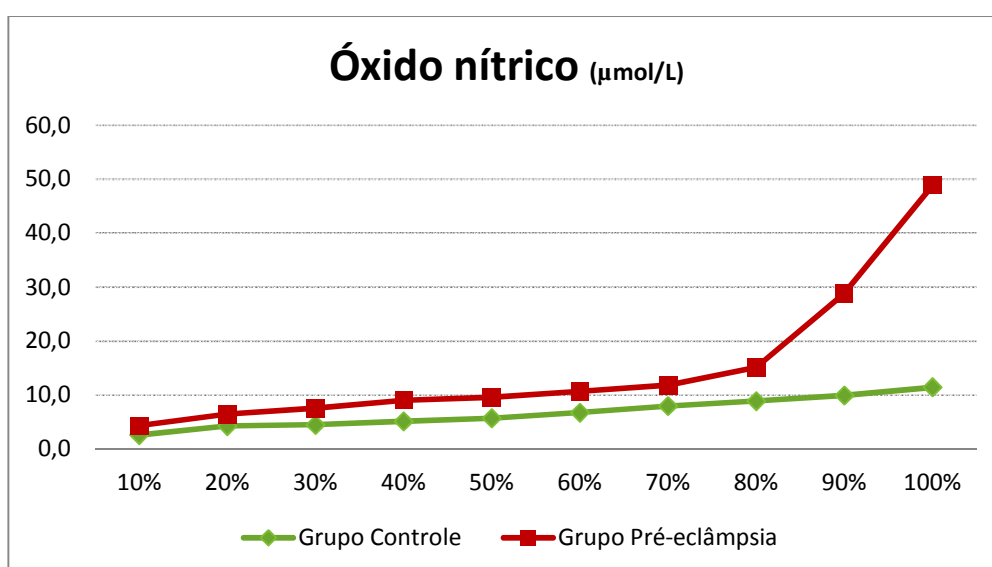


Gráfico B.22 – Gráfico de percentis para a variável *Clearance creatinina*.

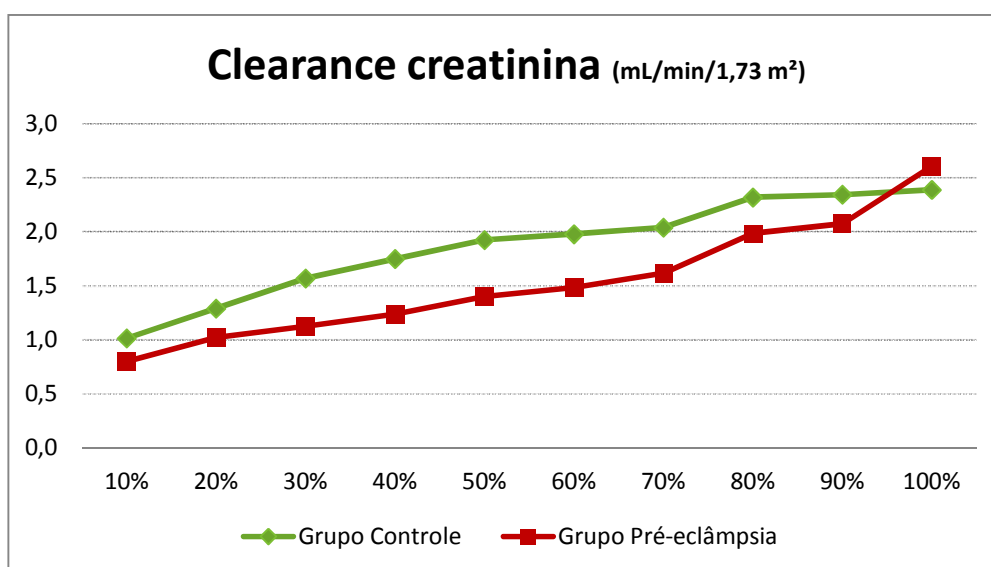


Gráfico B.23 – Gráfico de percentis para a variável *Creatinina sérica*.

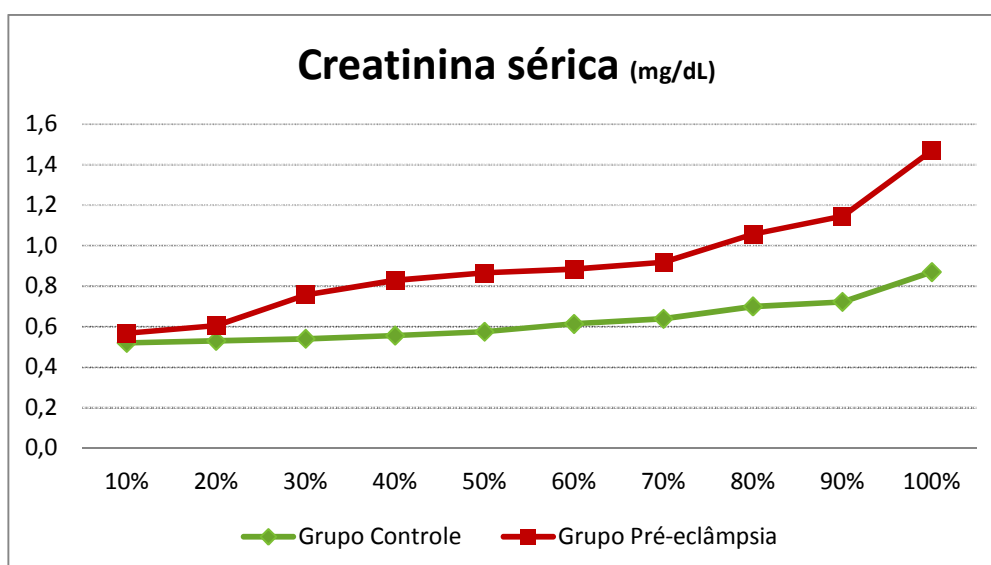


Gráfico B.24 – Gráfico de percentis para a variável *IMC pré-gestacional*.

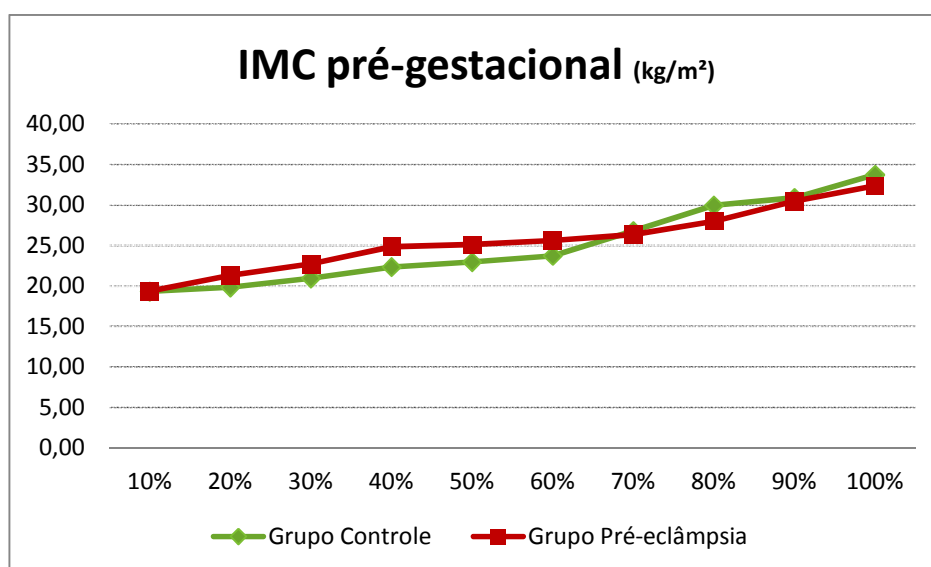


Gráfico B.25 – Gráfico de percentis para a variável *IMC gestacional*.

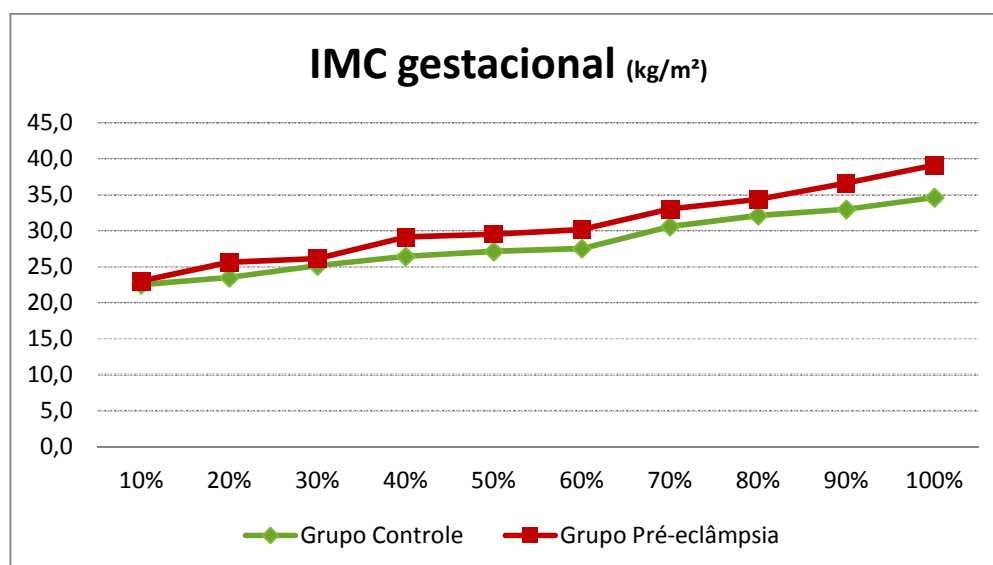


Gráfico B.26 – Gráfico de percentis para a variável *Renda per capita*.

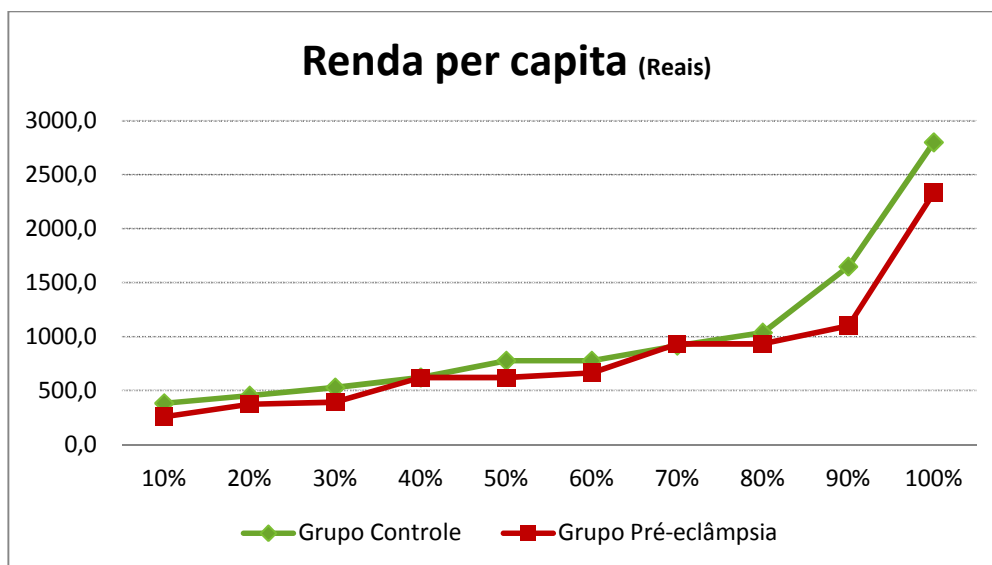


Gráfico B.28 – Painel de gráficos entre as variáveis correlacionadas com a variável *Clearance creatinina*.

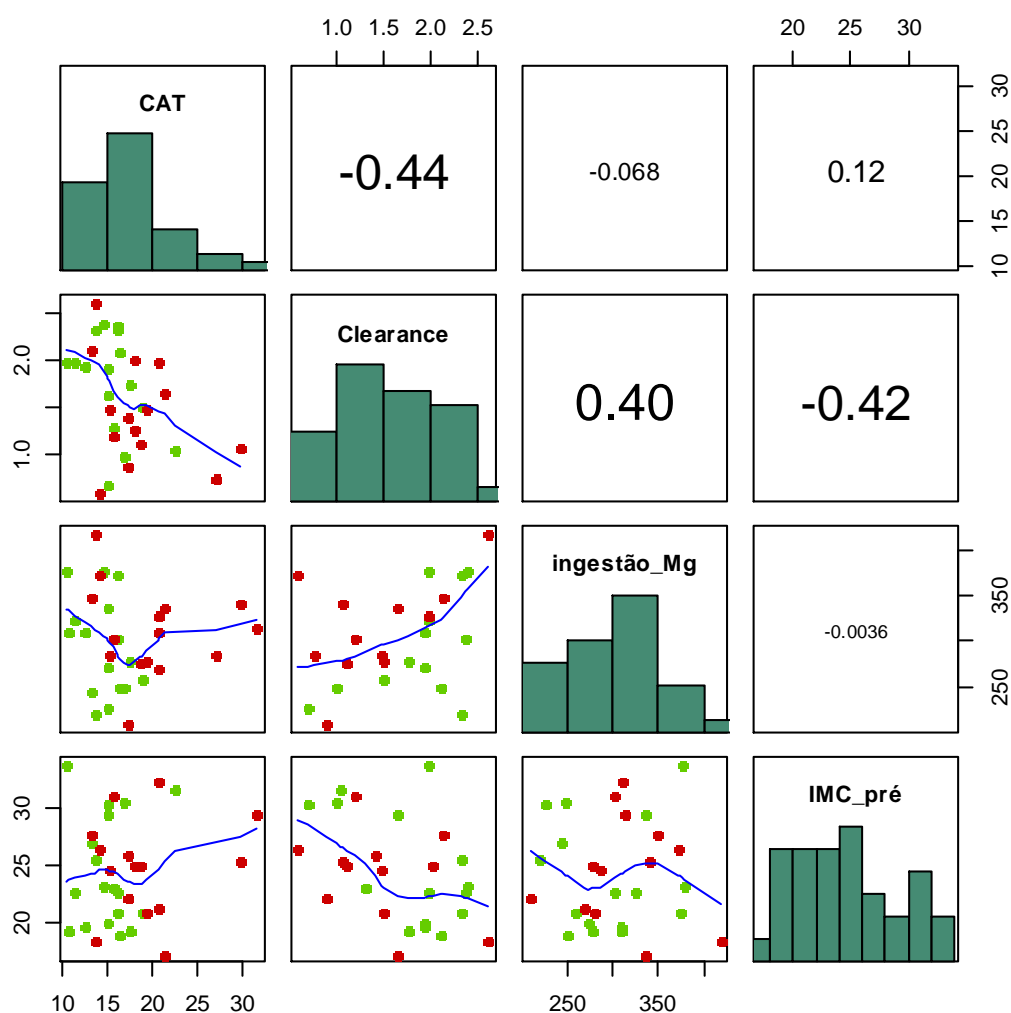


Gráfico B.29 – Gráfico de barras, por grupo, para a variável *Ocupação da gestante*.

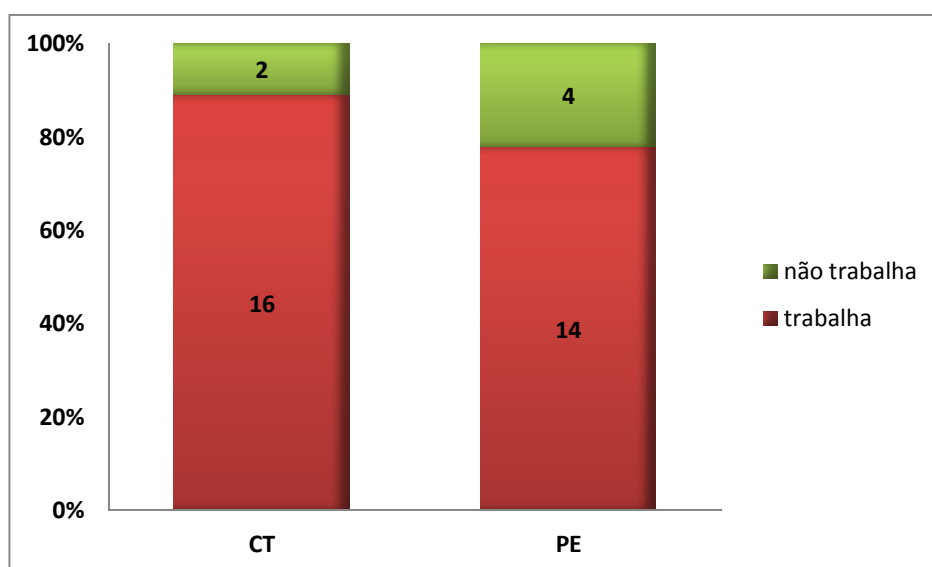


Gráfico B.30 – Gráfico de barras, por grupo, para a variável *Antecedentes familiares de Pré-eclâmpsia*.

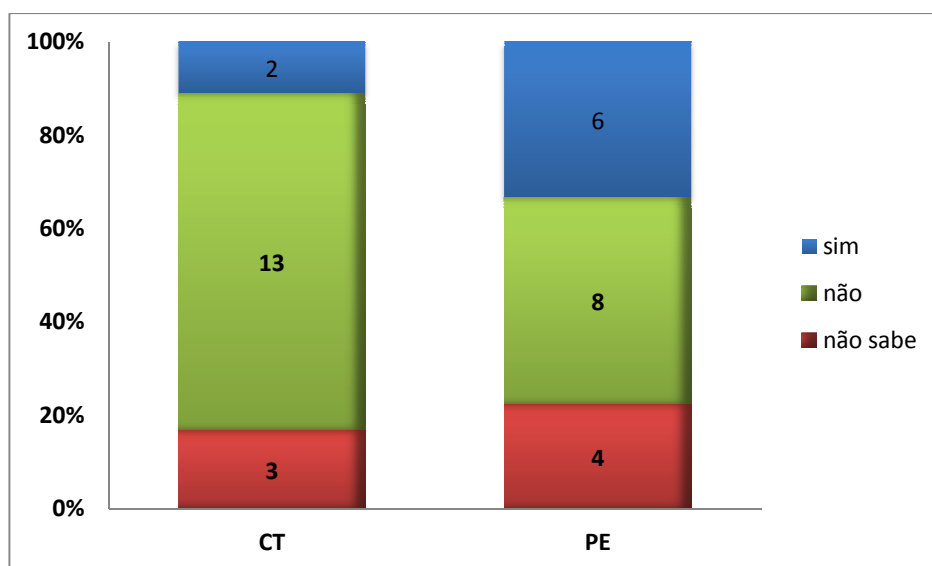


Gráfico B.31 – Gráfico de barras, por grupo, para a variável *Estado nutricional pré-gestacional*.

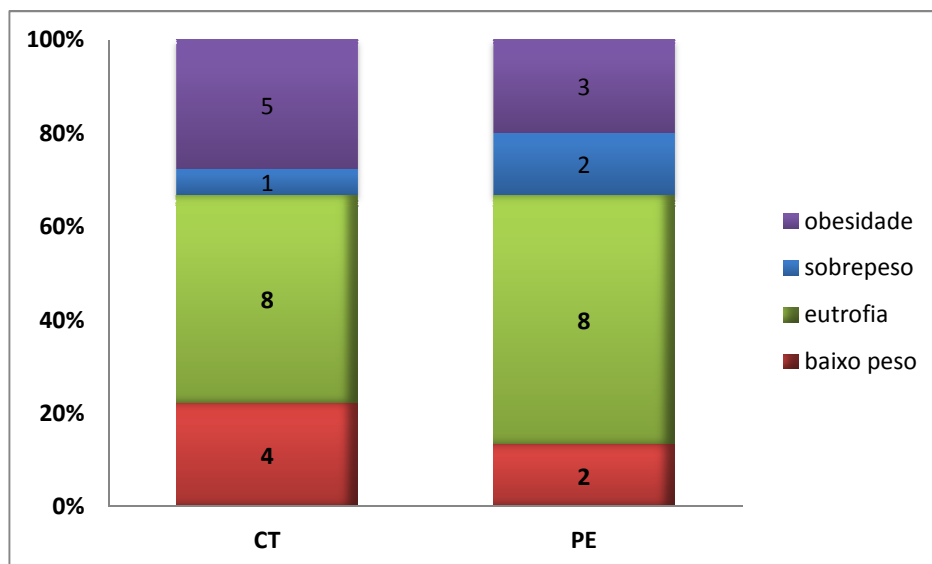


Gráfico B.32 – Gráfico de barras, por grupo, para a variável *Estado nutricional gestacional*.

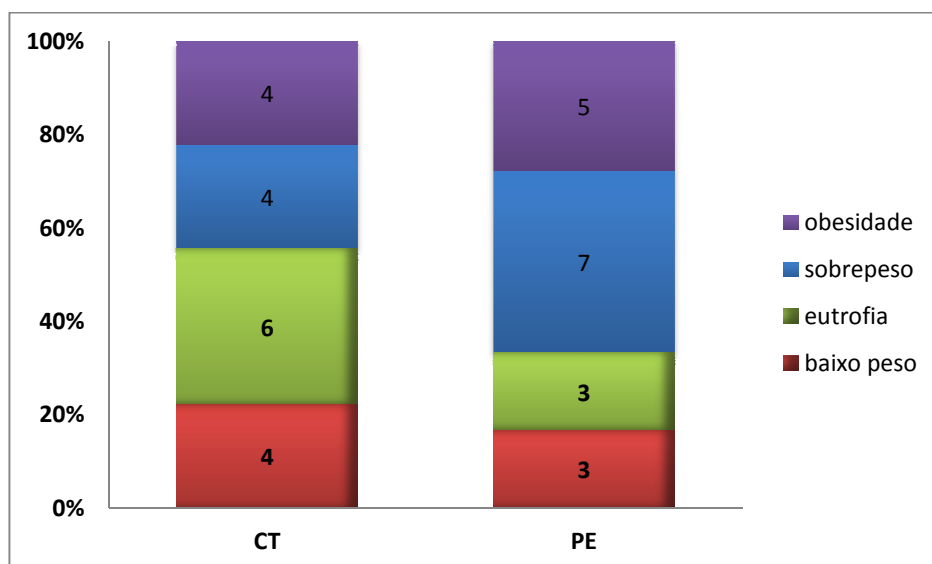


Gráfico B.33 – Gráfico de barras, por grupo, para a variável *Suplemento vitamínico-mineral*.

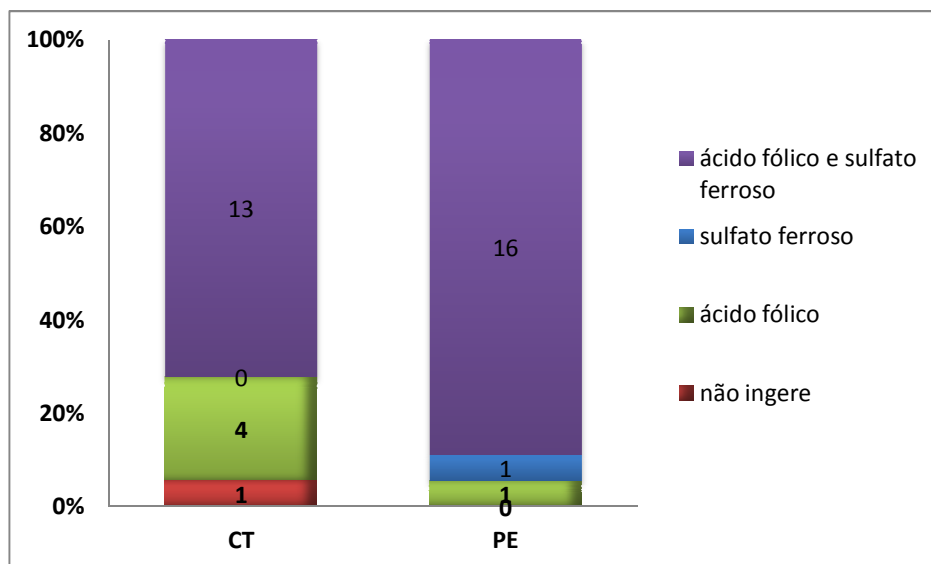


Gráfico B.34 – Gráfico de barras, por grupo, para a variável *Quantidade de abortos / natimortos*.

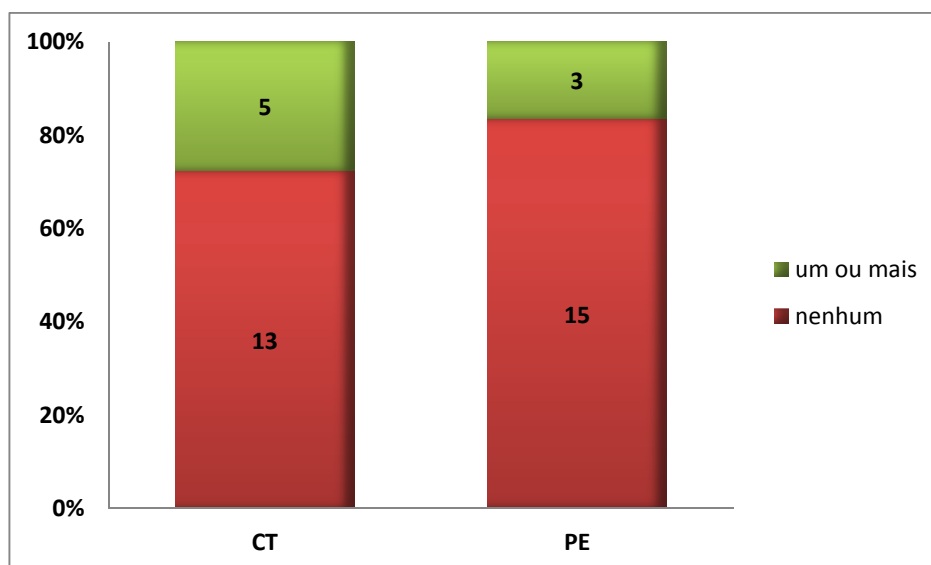


Gráfico B.35 – Gráfico de barras, por grupo, para a variável *Quantidade de filhos*.

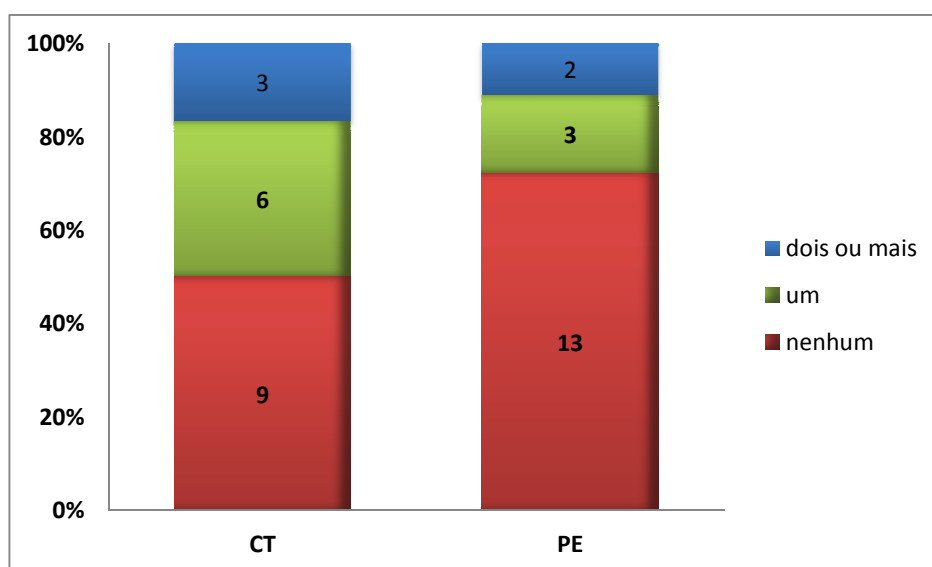


Gráfico B.36 – Gráfico de barras, por grupo, para a variável *Paridade*.

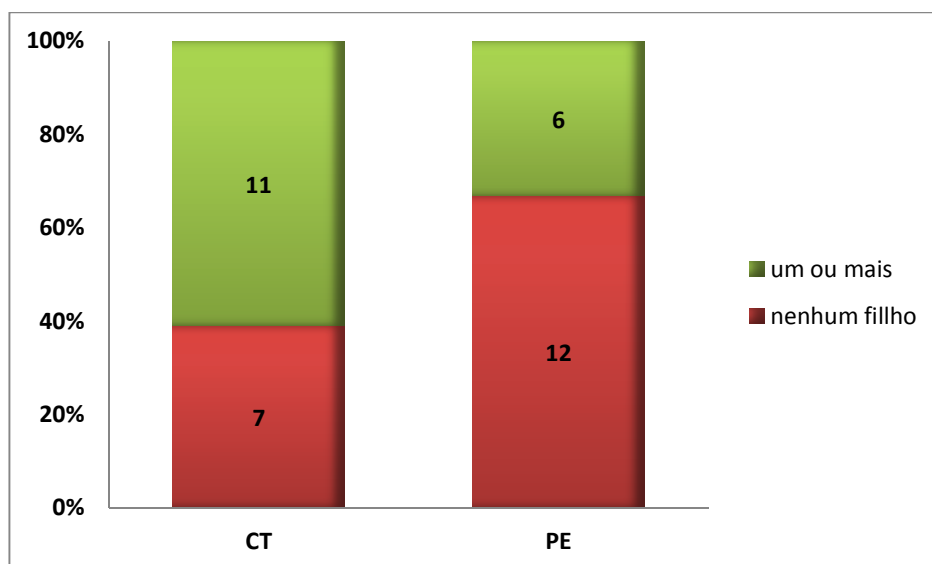
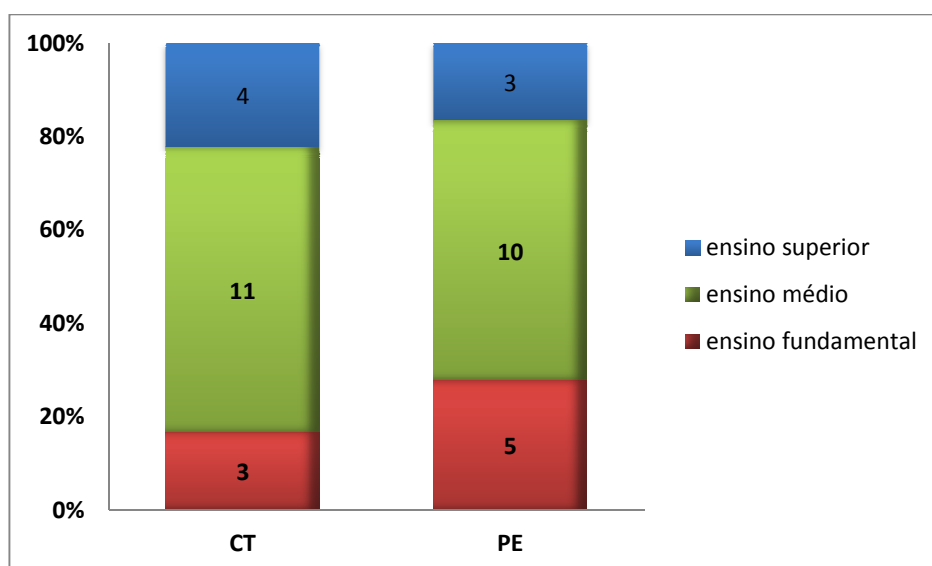


Gráfico B.37 – Gráfico de barras, por grupo, para a variável *Escolaridade*.



Apêndice C:
Tabelas da análise inferencial

Tabela C.1 – Estimativas do Modelo Logístico 1.

| Covariável | β_i | DP(β_i) | e^{β_i} | IC (e^{β_i} ; 90%) | valor-p |
|-------------------|-----------------------------|---------------------------------|---------------------------------|--|----------------|
| Intercepto | 0,822 | 0,631 | 2,274 | [0,808 ; 6,402] | 0,193 |
| TNF- α | 3,219 | 1,047 | 25,004 | [4,494 ; 139,146] | 0,002 |

Tabela C.2 – Estimativas do Modelo Logístico 2.

| Covariável | β_i | DP(β_i) | e^{β_i} | IC (e^{β_i} ; 90%) | valor-p |
|------------------------|-----------------------------|---------------------------------|---------------------------------|--|----------------|
| Intercepto | 0,144 | 0,638 | 1,154 | [0,406 ; 3,286] | 0,822 |
| Magnésio plasmático | 2,285 | 1,055 | 9,821 | [1,740 ; 55,443] | 0,030 |
| 8-isoprostano | -1,886 | 0,801 | 0,152 | [0,041 ; 0,564] | 0,019 |

Tabela C.3 – Estimativas do Modelo Logístico 3.

| Covariável | β_i | DP(β_i) | e^{β_i} | IC (e^{β_i} ; 90%) | valor-p |
|------------------------|-----------------------------|---------------------------------|---------------------------------|--|----------------|
| Intercepto | -0,121 | 0,763 | 0,886 | [0,253 ; 3,096] | 0,874 |
| Magnésio plasmático | 3,084 | 1,328 | 21,838 | [2,475 ; 192,730] | 0,020 |
| Calorias | 1,711 | 0,864 | 5,533 | [1,341 ; 22,832] | 0,048 |
| 8-isoprostano | -2,259 | 1,049 | 0,104 | [0,019 ; 0,584] | 0,031 |

Tabela C.4 – Tabela de Sensibilidade e Especificidade Modelo 1.

| Probabilidade | Sensibilidade | 1 - Especificidade |
|---------------|---------------|--------------------|
| 0,00 | 1,00 | 1,00 |
| 0,08 | 1,00 | 0,94 |
| 0,08 | 1,00 | 0,88 |
| 0,09 | 1,00 | 0,81 |
| 0,09 | 1,00 | 0,75 |
| 0,09 | 1,00 | 0,69 |
| 0,10 | 1,00 | 0,63 |
| 0,10 | 1,00 | 0,56 |
| 0,12 | 1,00 | 0,50 |
| 0,15 | 1,00 | 0,38 |
| 0,17 | 1,00 | 0,31 |
| 0,20 | 0,94 | 0,31 |
| 0,25 | 0,89 | 0,31 |
| 0,32 | 0,89 | 0,25 |
| 0,37 | 0,89 | 0,19 |
| 0,44 | 0,89 | 0,13 |
| 0,53 | 0,83 | 0,13 |
| 0,60 | 0,83 | 0,06 |
| 0,64 | 0,78 | 0,06 |
| 0,68 | 0,72 | 0,06 |
| 0,79 | 0,67 | 0,06 |
| 0,88 | 0,61 | 0,06 |
| 0,88 | 0,56 | 0,06 |
| 0,91 | 0,50 | 0,06 |
| 0,94 | 0,44 | 0,06 |
| 0,94 | 0,39 | 0,06 |
| 0,95 | 0,39 | 0,00 |
| 0,96 | 0,33 | 0,00 |
| 0,98 | 0,28 | 0,00 |
| 0,99 | 0,22 | 0,00 |
| 0,99 | 0,17 | 0,00 |
| 1,00 | 0,11 | 0,00 |
| 1,00 | 0,06 | 0,00 |
| 1,00 | 0,00 | 0,00 |

Tabela C.5 – Tabela de Sensibilidade e Especificidade Modelo 2.

| Probabilidade | Sensibilidade | 1 - Especificidade |
|---------------|---------------|--------------------|
| 0,00 | 1,00 | 1,00 |
| 0,00 | 1,00 | 0,94 |
| 0,01 | 1,00 | 0,88 |
| 0,03 | 1,00 | 0,81 |
| 0,04 | 1,00 | 0,75 |
| 0,06 | 1,00 | 0,69 |
| 0,08 | 1,00 | 0,63 |
| 0,11 | 0,93 | 0,63 |
| 0,15 | 0,93 | 0,56 |
| 0,17 | 0,93 | 0,50 |
| 0,22 | 0,93 | 0,44 |
| 0,26 | 0,93 | 0,38 |
| 0,29 | 0,93 | 0,31 |
| 0,34 | 0,93 | 0,25 |
| 0,41 | 0,87 | 0,25 |
| 0,44 | 0,87 | 0,19 |
| 0,48 | 0,80 | 0,19 |
| 0,53 | 0,73 | 0,19 |
| 0,60 | 0,73 | 0,13 |
| 0,64 | 0,67 | 0,13 |
| 0,70 | 0,67 | 0,06 |
| 0,76 | 0,60 | 0,06 |
| 0,78 | 0,53 | 0,06 |
| 0,82 | 0,53 | 0,00 |
| 0,86 | 0,47 | 0,00 |
| 0,90 | 0,40 | 0,00 |
| 0,93 | 0,33 | 0,00 |
| 0,95 | 0,27 | 0,00 |
| 0,97 | 0,20 | 0,00 |
| 0,98 | 0,13 | 0,00 |
| 0,99 | 0,07 | 0,00 |
| 1,00 | 0,00 | 0,00 |

Tabela C.6– Tabela de Sensibilidade e Especificidade Modelo 3.

| Probabilidade | Sensibilidade | 1 - Especificidade |
|---------------|---------------|--------------------|
| 0,00 | 1,00 | 1,00 |
| 0,00 | 1,00 | 0,93 |
| 0,01 | 1,00 | 0,86 |
| 0,01 | 1,00 | 0,79 |
| 0,02 | 1,00 | 0,71 |
| 0,03 | 1,00 | 0,64 |
| 0,05 | 1,00 | 0,57 |
| 0,06 | 1,00 | 0,50 |
| 0,07 | 1,00 | 0,43 |
| 0,08 | 0,92 | 0,43 |
| 0,10 | 0,92 | 0,36 |
| 0,24 | 0,92 | 0,29 |
| 0,37 | 0,92 | 0,21 |
| 0,38 | 0,92 | 0,14 |
| 0,52 | 0,92 | 0,07 |
| 0,68 | 0,83 | 0,07 |
| 0,75 | 0,75 | 0,07 |
| 0,79 | 0,67 | 0,07 |
| 0,81 | 0,58 | 0,07 |
| 0,84 | 0,58 | 0,00 |
| 0,88 | 0,50 | 0,00 |
| 0,92 | 0,42 | 0,00 |
| 0,93 | 0,33 | 0,00 |
| 0,96 | 0,25 | 0,00 |
| 1,00 | 0,17 | 0,00 |
| 1,00 | 0,08 | 0,00 |
| 1,00 | 0,00 | 0,00 |

Apêndice D:
Gráficos da análise inferencial

Gráfico D.1 – Análise de conglomerados para as variáveis.

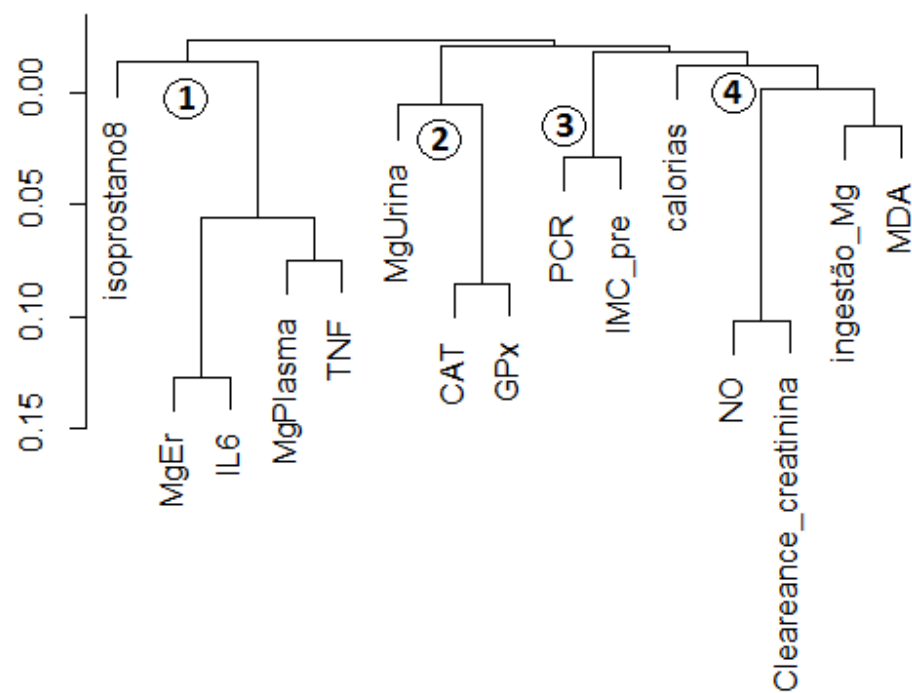


Gráfico D.2 – Análise de conglomerados para as observações.

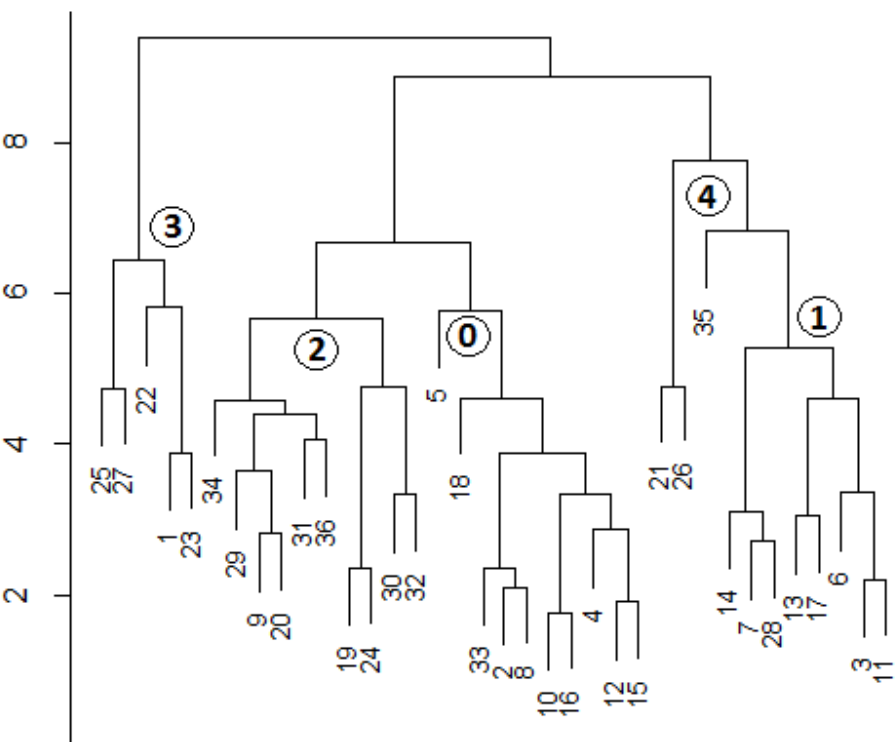


Gráfico D.3 – BoxPlot das variáveis relacionadas ao Magnésio para os grupos das observações.

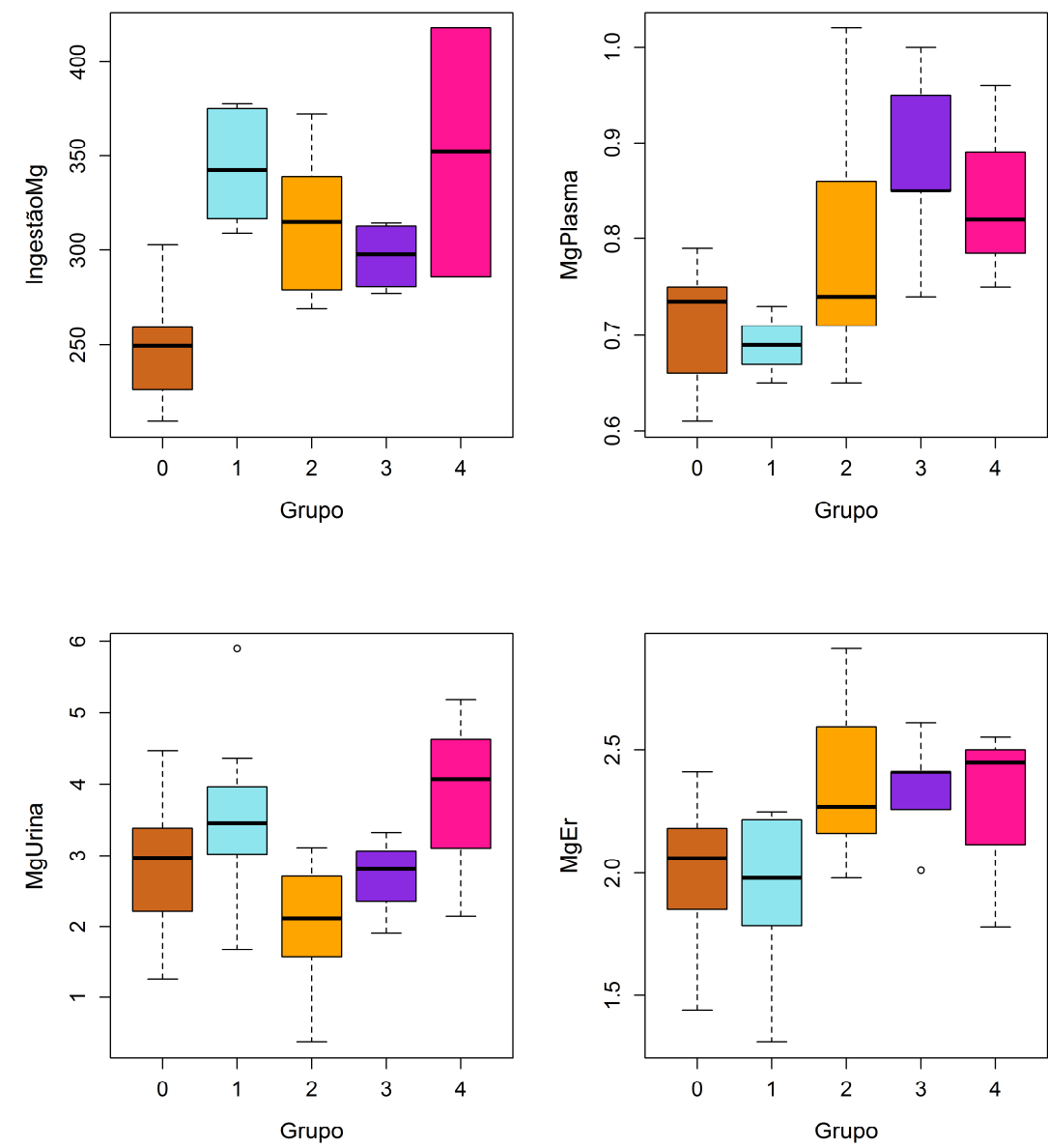


Gráfico D.4 - BoxPlot das variáveis oxidantes para os grupos das observações.

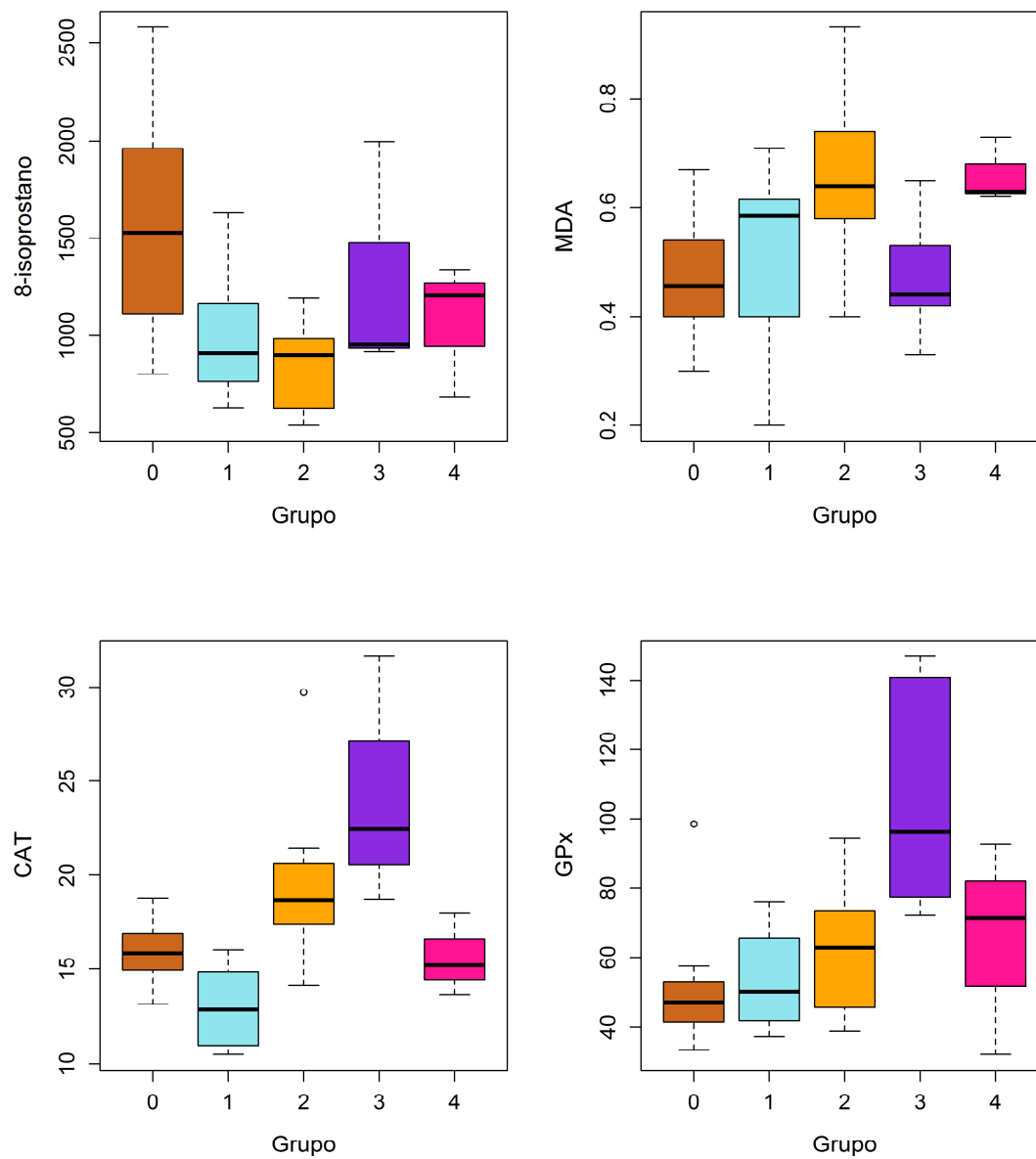


Gráfico D.5 - BoxPlot das variáveis inflamatórias para os grupos das observações.

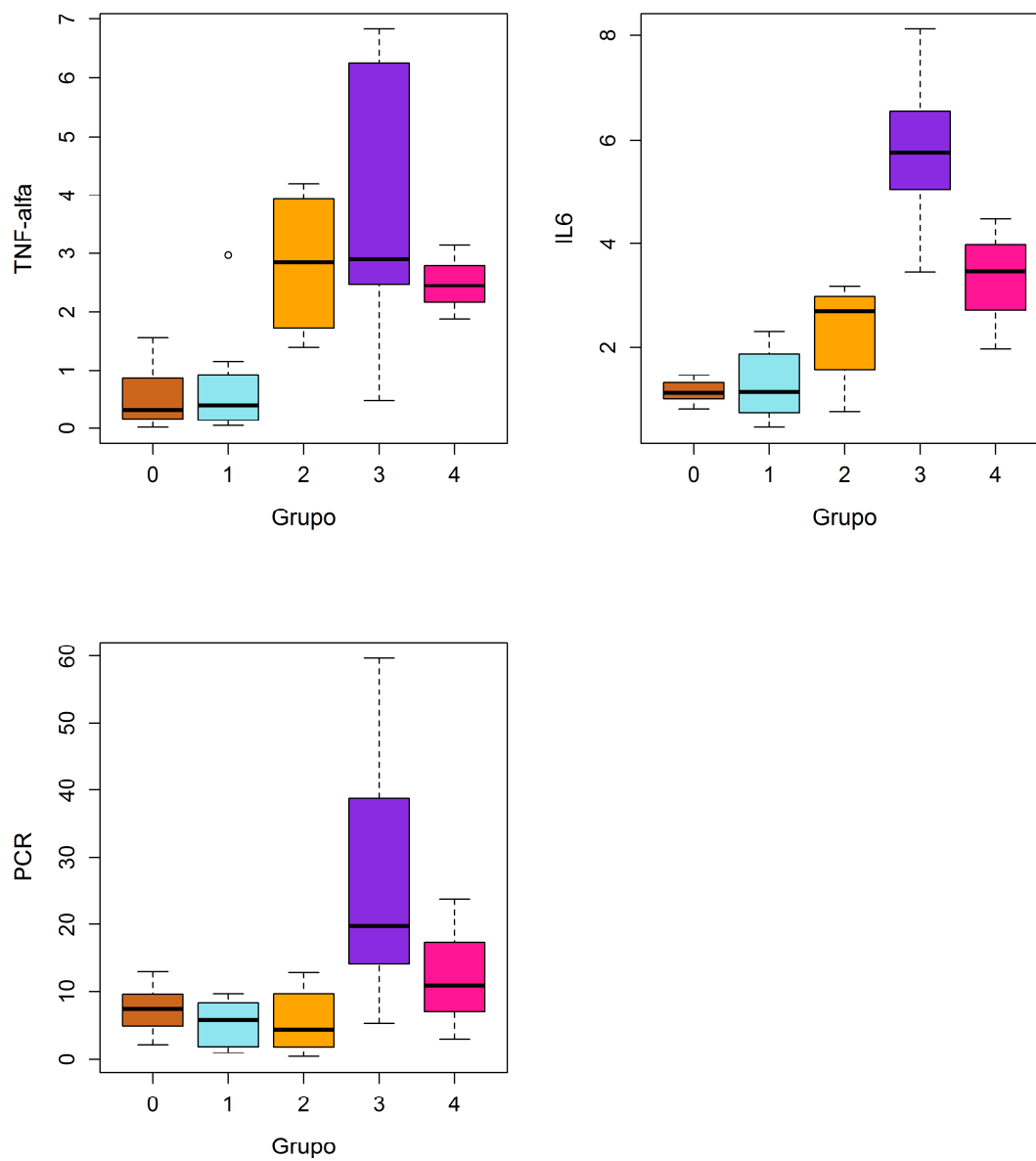


Gráfico D.6 - BoxPlot das demais variáveis de interesse para os grupos das observações.

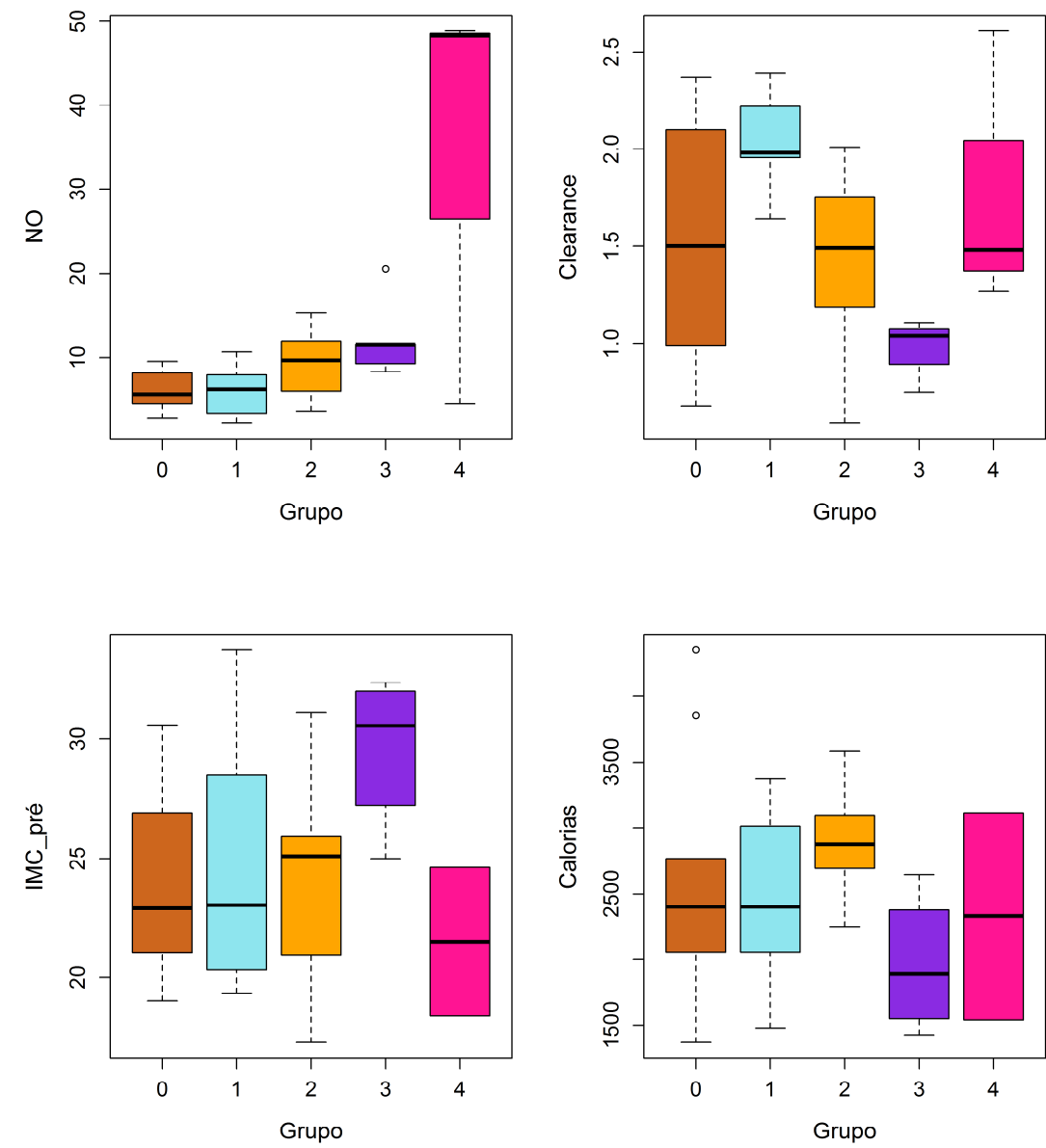


Gráfico D.7 – Gráfico da função de ligação vs $\text{TNF-}\alpha$ para o Modelo 1.

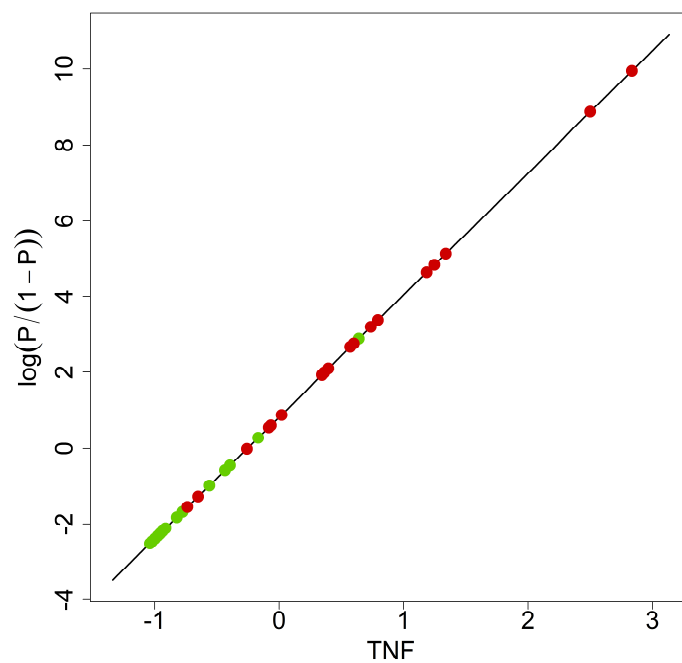


Gráfico D.8 - Gráfico da probabilidade ajustada vs $\text{TNF-}\alpha$ para o Modelo 1.

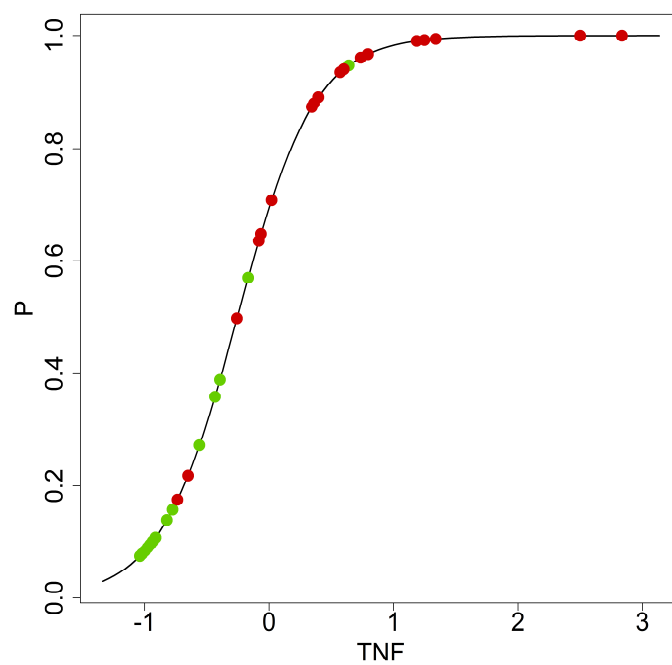


Gráfico D.9 - Gráfico da probabilidade ajustada vs Magnésio plasmático para o Modelo 2.

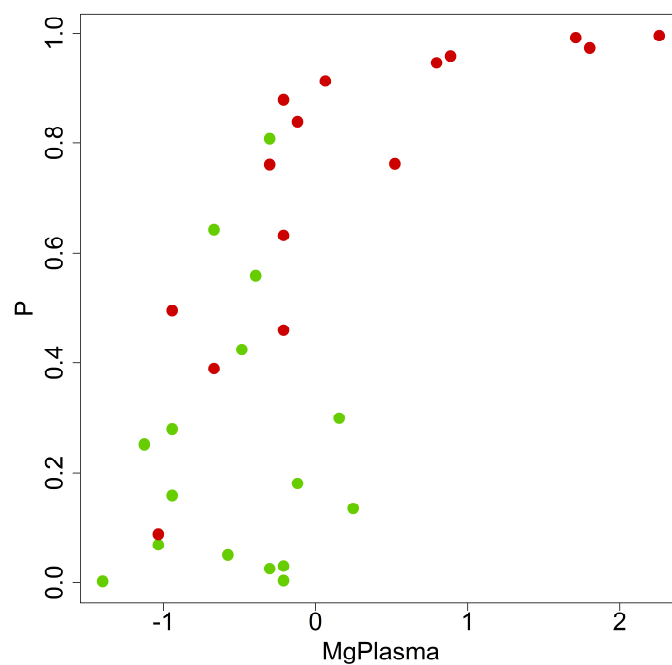


Gráfico D.10 - Gráfico da probabilidade ajustada vs 8-isoprostano para o Modelo2.

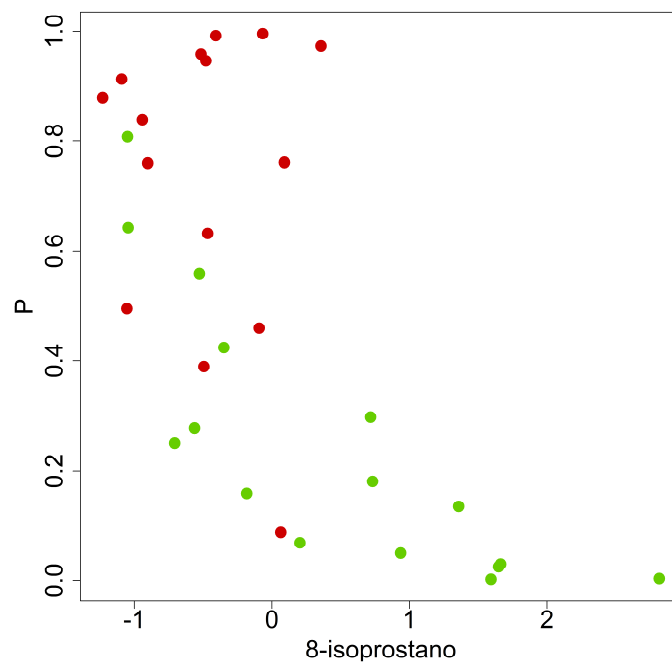


Gráfico D.11 – Gráfico 3D da função de ligação vs Magnésio plasmático vs 8-isoprostano para o Modelo 2.

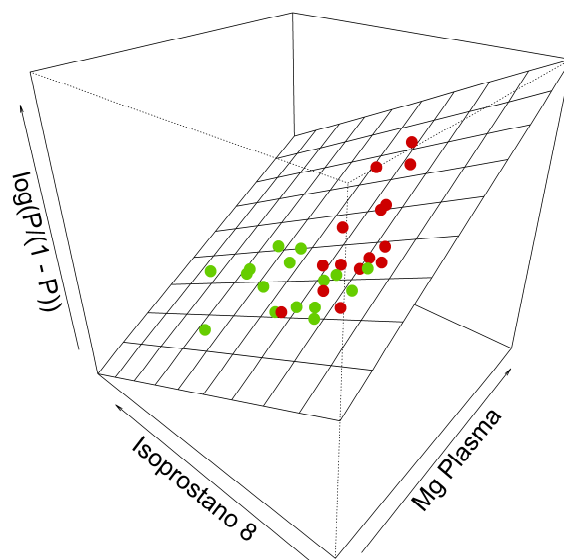


Gráfico D.12 – Gráfico 3D da probabilidade ajustada vs Magnésio plasmático vs 8-isoprostano para o Modelo 2.

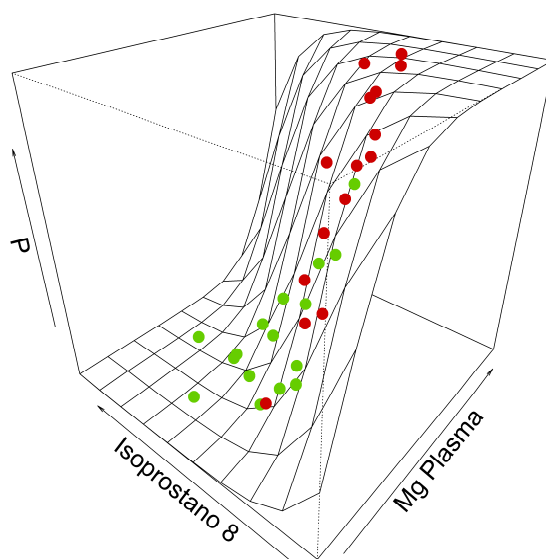


Gráfico D.13 – Gráfico da probabilidade ajustada vs Magnésio plasmático para o Modelo 3.

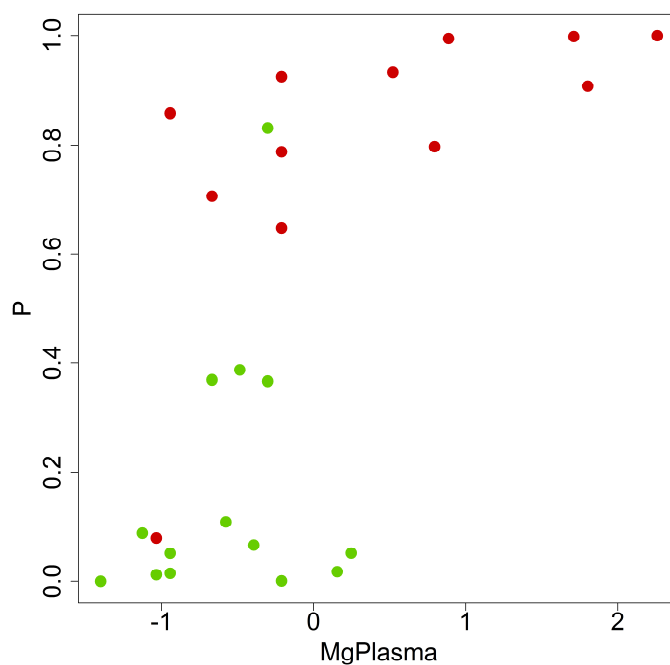


Gráfico D.14 – Gráfico da probabilidade ajustada vs Calorias para o Modelo 3.

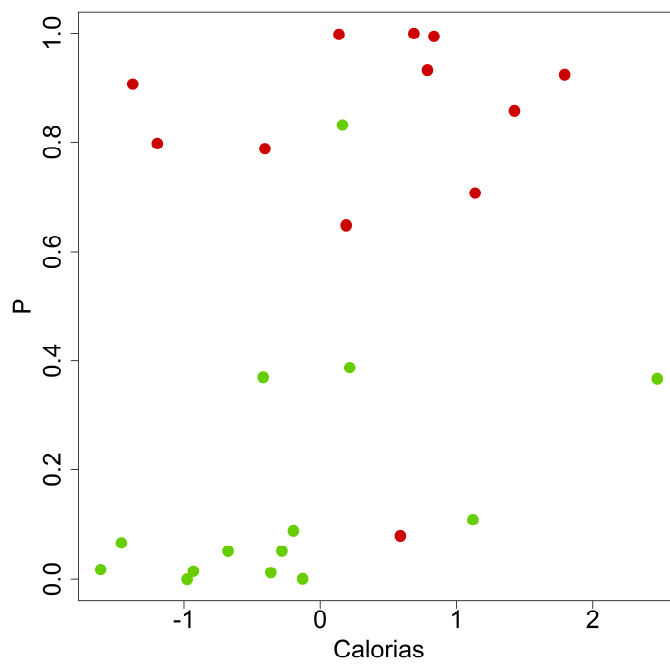


Gráfico D.15 – Gráfico da probabilidade ajustada vs 8-isoprostano para o Modelo 3.

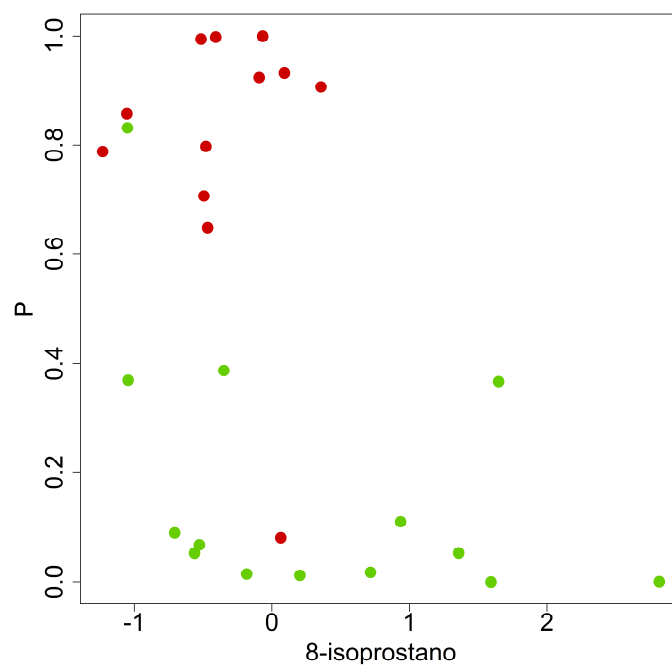


Gráfico D.16 – Gráfico 3D da variável Magnésio plasmático vs Calorias vs 8-isoprostano para o Modelo 3.

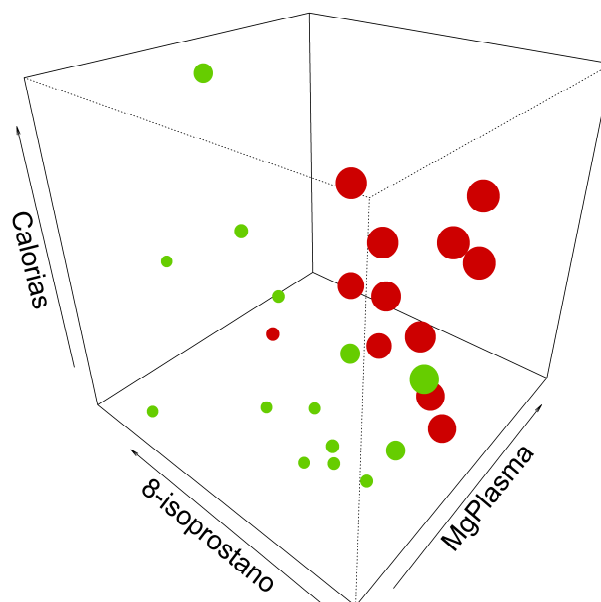


Gráfico D.17 – Curva ROC para o Modelo 1.

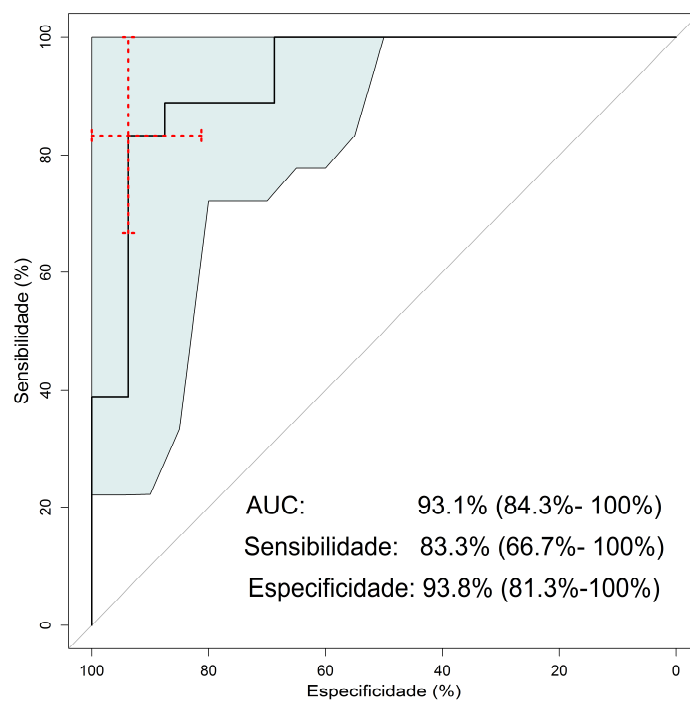


Gráfico D.18 – Gráfico das probabilidades ajustadas vs gestante.

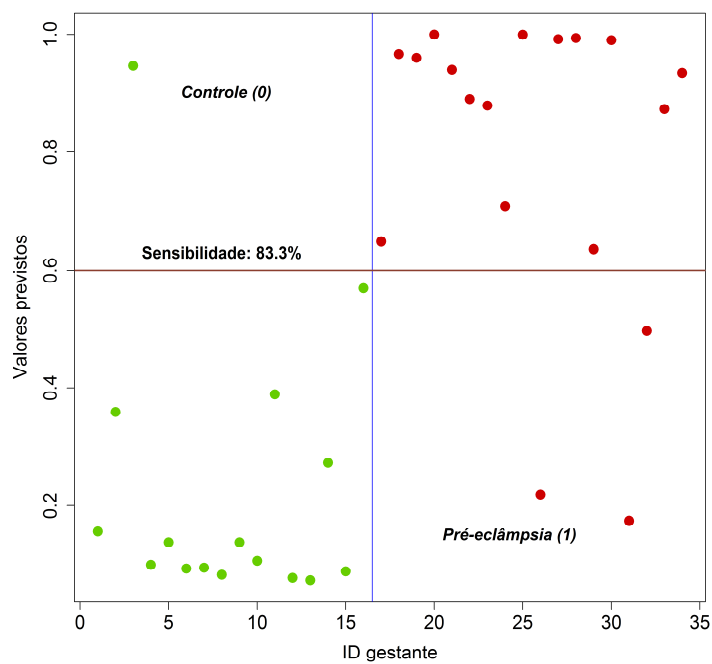


Gráfico D.19 – Curva ROC para o Modelo 2.

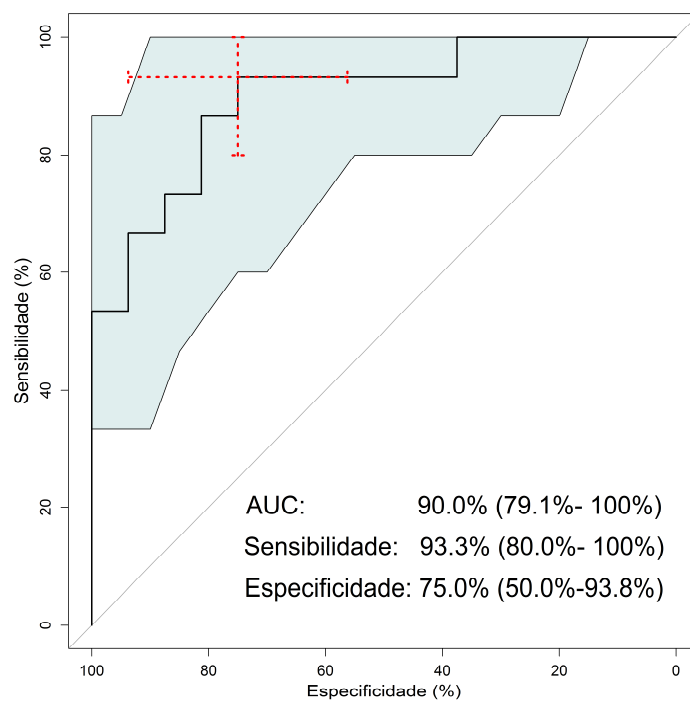


Gráfico D.20 – Gráfico das probabilidades ajustadas vs gestantes.

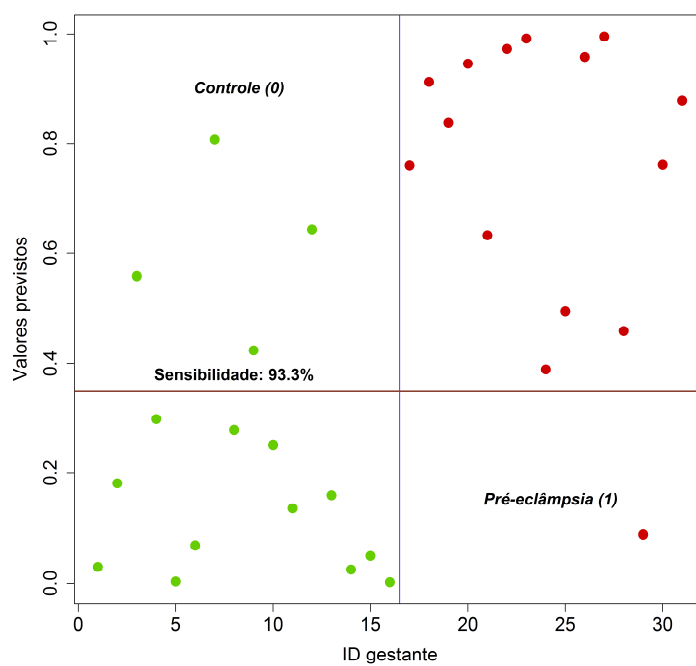


Gráfico D.21 – Curva ROC para o Modelo 3.

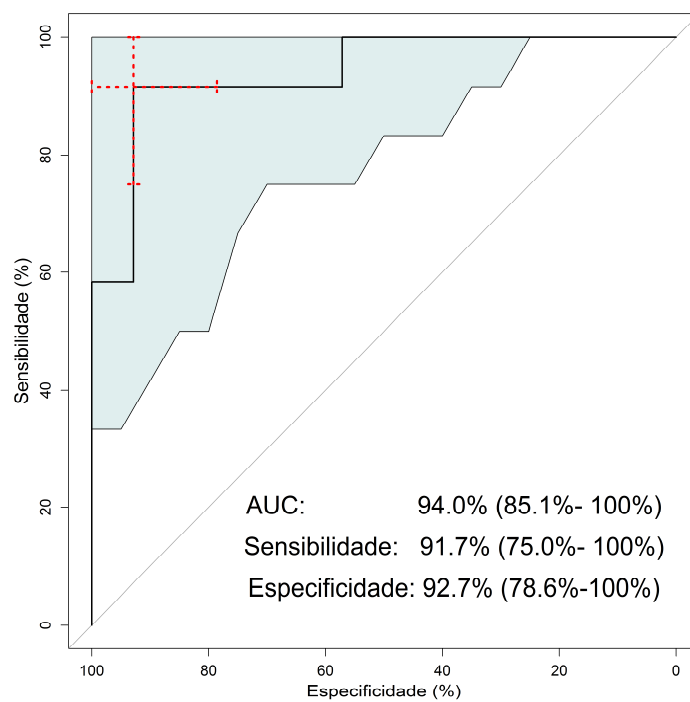


Gráfico D.22 – Gráfico das probabilidades ajustadas vs gestantes.

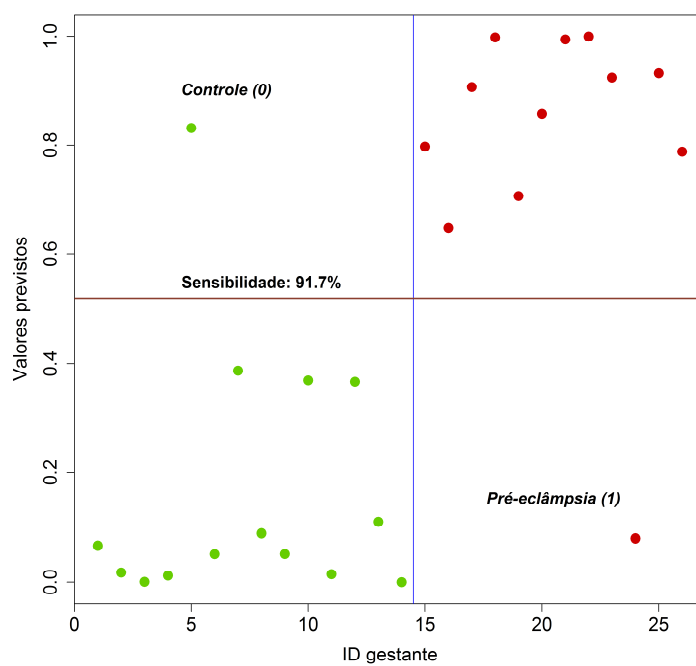


Gráfico D.23 – Gráfico envelope para o ajuste do Modelo 1.

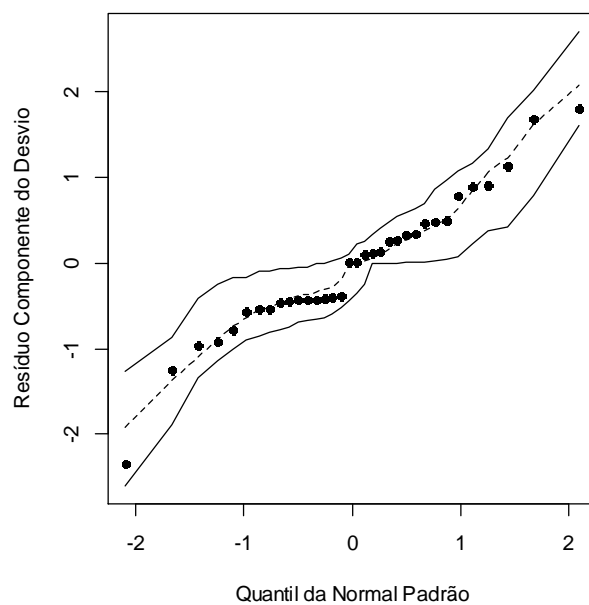


Gráfico D.24 – Gráfico envelope para o ajuste do Modelo 2.

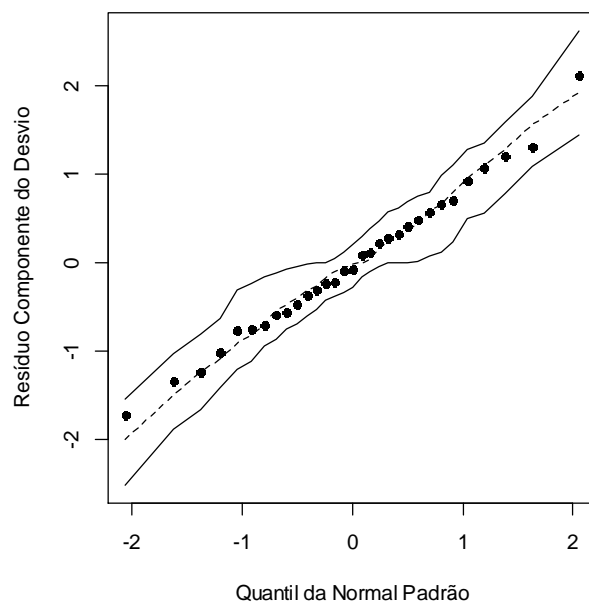


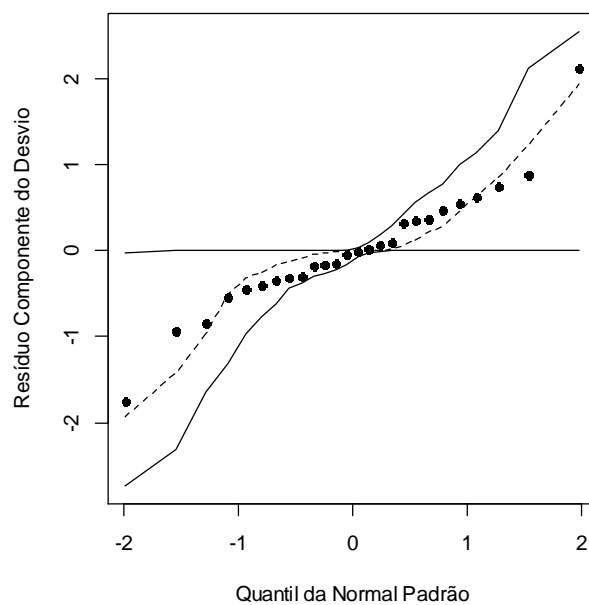
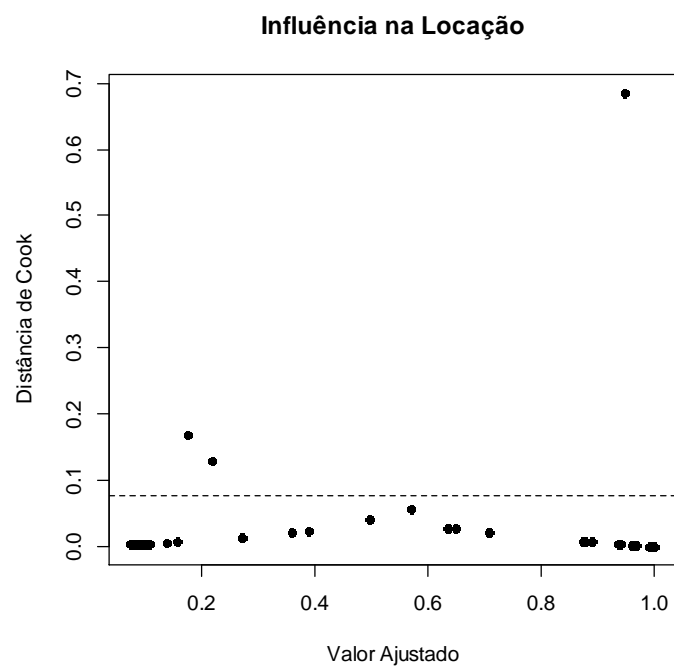
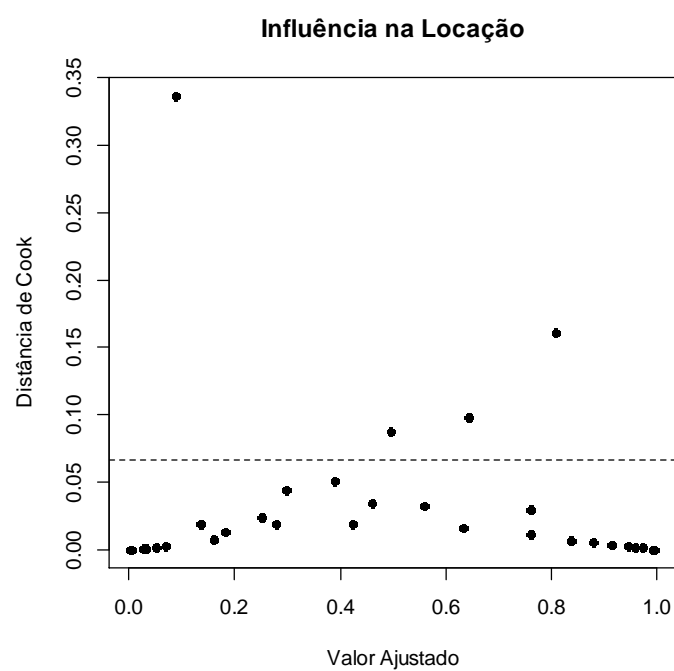
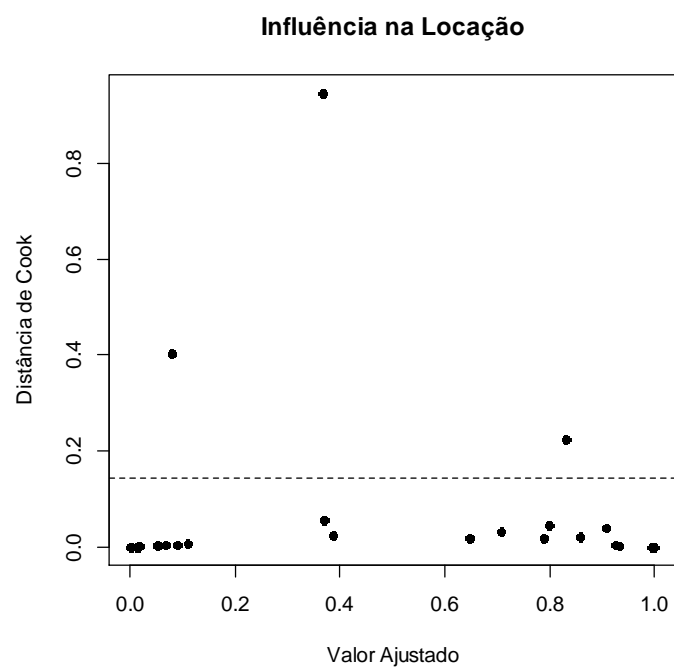
Gráfico D.25 – Gráfico envelope para o ajuste do Modelo 3.**Gráfico D.26 – Gráfico da distância de Cook para o ajuste do Modelo 1.**

Gráfico D.27 – Gráfico da distância de Cook para o ajuste do Modelo 2.**Gráfico D.28 – Gráfico da distância de Cook para o ajuste do Modelo 3.**

Apêndice E:
Regressão logística

A regressão logística é uma técnica estatística utilizada para estudar a relação entre uma variável dicotômica de interesse e um conjunto de outras variáveis quaisquer disponíveis no estudo. O modelo assume que a esperança condicional de Y , $E[Y|X = x]$, é dada por:

$$E[Y|X = x] = P[Y = 1|X] = G(\beta_0 + x^T \beta) = \frac{e^{\beta_0 + x^T \beta}}{1 + e^{\beta_0 + x^T \beta}}$$

em que β_0 é uma constante, $\beta = (\beta_1 + \dots + \beta_p)^T$ são os coeficientes de regressão, e $G(\cdot)$ é a função distribuição acumulada logística (a função inversa de G , G^{-1} , é chamada de função de ligação). A distribuição de Y (distribuição de Bernoulli) pertence à família exponencial de distribuições:

$$f(y_i, \pi) = P[Y = y_i|X = x_i] = \pi^{y_i}(1 - \pi)^{1-y_i}, \quad i = 1, 2, \dots, N$$

em que $\pi = P[Y = 1|X]$ é a probabilidade da gestante desenvolver Pré-eclâmpsia e $1 - \pi = P[Y = 0|X]$ é a probabilidade da gestante não desenvolver Pré-eclâmpsia.

Os parâmetros do Modelo Logístico são, em geral, estimados pelo método da verossimilhança maximizando o termo:

$$\begin{aligned} L(\beta_0 + \beta_1 + \dots + \beta_p) &= \prod_{i=1}^N [\pi^{y_i}(1 - \pi)^{1-y_i}] \\ &= \prod_{i=1}^N [G(\beta_0 + \beta^T x_i)^{y_i}(1 - G(\beta_0 + \beta^T x_i))^{1-y_i}]. \end{aligned}$$

Essas estimativas são realizadas pelo método de *Newton-Raphson*.

Os valores e^{β_i} são interpretados como a razão de chances, ou seja, como a quantidade de vezes que a chance de uma gestante apresentar Pré-eclâmpsia é

multiplicada quando a variável relacionada ao coeficiente β_i aumenta em uma unidade, $1, \dots, p$, ou seja,

$$OR_i = \frac{\frac{P[Y = 1|X_i = x + 1]}{P[Y = 0|X_i = x + 1]}}{\frac{P[Y = 1|X_i = x]}{P[Y = 0|X_i = x]}} = \frac{e^{\beta_0 + \beta_1 X_1 + \dots + \beta_i(x+1) + \dots + \beta_p X_p}}{e^{\beta_0 + \beta_1 X_1 + \dots + \beta_i x + \dots + \beta_p X_p}} = e^{\beta_i}.$$