

▪ **Índice:**

Resumo.....	Pág. 3
Abstract.....	Pág. 5
1. Introdução.....	Pág. 7
2. Métodos.....	Pág. 8
3. A Placenta e a Diabetes.....	Pág. 9
<i>3.1 Aspectos Fundamentais da Formação da Placenta e da sua Vascularização.</i>	Pág. 9
<i>3.2 Alterações Metabólicas na Gestação Normal e Diabética.....</i>	Pág. 15
<i>3.3 O Factor de Crescimento do Endotélio Vascular.....</i>	Pág. 19
<i>3.4 Alterações Vasculares da Placenta na Diabetes.....</i>	Pág. 20
4. Conclusão.....	Pág. 29
5. Referências Bibliográficas.....	Pág. 32

▪ **Abreviaturas:**

DM: Diabetes Mellitus

DG: Diabetes Gestacional

VEGF: *Vascular Endothelial Growth Factor*

VEGFR-1: Receptor 1 do VEGF

VEGFR-2: Receptor 2 do VEGF

VEGFR-3: Receptor 3 do VEGF

PIGF: *Placental Growth Factor*

NO: Óxido Nítrico

▪ **Resumo:**

Introdução: A placenta é um órgão complexo e que existe na mulher exclusivamente durante a gestação. A sua principal função é estabelecer a comunicação física entre a mãe e o feto e permitir que ocorram trocas entre ambos. É um órgão que apresenta um desenvolvimento contínuo das vilosidades coriônicas e também da sua vasculatura. Como tal, qualquer patologia de carácter crónico e sistémico terá repercussões no seu crescimento e desenvolvimento. A diabetes é um exemplo disso. *Objectivos:* Com esta revisão pretendeu-se compreender de que forma a presença de diabetes (quer fosse prévia à gravidez ou gestacional) influencia os processos de vasculogénese e angiogénese da placenta e como se traduz em termos de alterações morfológicas dos seus vasos. Tentou-se também objectivar quais as alterações metabólicas mais relevantes e quais os seus efeitos, e saber ainda se existem padrões morfológicos característicos de cada um dos tipos de diabetes. *Discussão:* Independentemente do grau de controlo metabólico da gestante, a presença de hiperglicémia causa, invariavelmente, alterações na formação da vasculatura placentária. A vasculogénese e a angiogénese placentárias encontram-se alteradas na diabetes prévia, enquanto que apenas a segunda sofre alterações decorrentes de diabetes gestacional. A existência de diabetes implica variadas alterações metabólicas, com libertação aumentada de mediadores inflamatórios e factores pró-angiogénicos, como é o caso do Factor de Crescimento do Endotélio Vascular (VEGF). Como consequência, observou-se que nas grávidas diabéticas existe angiogénese aumentada, com predomínio da fase de crescimento não-ramificador dos vasos e também disfunção endotelial, decorrente do estado pró-inflamatório gerado. Contudo, embora estes aspectos sejam transversais aos diferentes tipos de diabetes, não se observaram alterações morfológicas características de nenhum deles, sendo que, nalgumas situações, os resultados chegaram a ser controversos. *Conclusão:* A coexistência de uma gestação e de diabetes, independentemente do seu tipo, conduz a alterações morfológicas dos vasos da placenta.

Existe aumento da angiogénese fetoplacentária, com crescimento predominantemente longitudinal dos vasos e, conseqüentemente, uma rede vascular placentária menos densa, com prejuízo para as trocas efectuadas entre a mãe e o feto.

Palavras-Chave: Placenta, Diabetes, Alterações Vasculares, Vasculogénese, Angiogénese, VEGF.

▪ **Abstract:**

Introduction: The placenta is a complex organ that exists in women exclusively during pregnancy. Its main function is to establish physical communication between mother and fetus and allow exchanges occurring between them. It is an organ that has a continuous development of the chorionic villi and also of the vasculature. So, any chronic and systemic condition will affect its growth and development. Diabetes is an example. *Aims:* This review was intended to understand how the presence of diabetes (whether it was previous to pregnancy or gestational) influences the processes of vasculogenesis and angiogenesis of the placenta and how it translates in terms of morphological changes of their vessels. We tried to objectify what metabolic changes are most relevant and what are their effects, and also wonder if there are morphological patterns characteristic of each type of diabetes. *Discussion:* Regardless of the degree of metabolic control of pregnant women, the presence of hyperglycemia invariably changes the formation of placenta's vasculature. Both vasculogenesis and angiogenesis are altered in previous diabetes, while only angiogenesis undergoes changes due to gestational diabetes. The existence of diabetes implies various metabolic changes, with increased release of inflammatory mediators and pro-angiogenic factors, such as Vascular Endothelial Growth Factor (VEGF). As a result, it was observed that in diabetic pregnancies there is increased angiogenesis, with predominance of the non-branching phase and also endothelial dysfunction, due to the pro-inflammatory state generated. However, although these aspects were observed across the different types of diabetes, there were no morphological patterns of any of them, and, in some cases, the results were even controversial. *Conclusion:* The coexistence of pregnancy and diabetes, regardless of its type, leads to morphological changes of the vessels of the placenta. There is increased fetoplacental angiogenesis, with predominantly longitudinal growth of blood vessels and,

consequently, a less dense placental vascular network that will prejudice the exchanges between mother and fetus.

Key Words: Placenta, Diabetes, Vascular Changes, Vasculogenesis, Angiogenesis, VEGF.

1. Introdução:

A placenta é um órgão complexo, exclusivo do período de gravidez, cujo objectivo é funcionar como uma interface entre o feto e a mãe. É altamente vascularizada e os seus vasos desenvolvem-se continuamente durante toda a gestação, acompanhando o desenvolvimento e crescimento do feto.

Compreende-se que a existência, previamente à gravidez, de uma doença crónica sistémica, provoque alterações no organismo materno, que poderão ter repercussões no desenvolvimento placentário. A diabetes não é uma excepção.

Esta doença crónica é cada vez mais prevalente, principalmente nas sociedades ocidentais, e o estado de hiperglicémia que a caracteriza vai, inevitavelmente, ter consequências para a formação da placenta e da sua vasculatura e, naturalmente, para o feto. Actualmente sabe-se que a diabetes está associada a disfunção endotelial e contribui para um estado pró-inflamatório e vasoconstritor.

Sendo a rede vascular placentária o meio de comunicação mais directo entre a mãe e o feto, dado que é através dela que ocorrem todas as trocas necessárias, verifica-se que qualquer alteração a nível vascular se repercutirá na qualidade das referidas trocas. Como tal, é necessário compreender quais as alterações provocadas pela existência de diabetes na vasculatura placentária, quais os efeitos que isso provoca nas suas funções e quais as consequências que daí advêm, tanto para a mãe como para o feto.

Tendo em conta as particularidades do período de gravidez e a importância que a diabetes está a adquirir, considera-se que é útil fazer uma revisão da literatura sobre esta temática. A gestação é um período importante na vida de uma mulher, não só por ser a causa de várias modificações no seu organismo e poder ser uma potencial fonte de risco, mas particularmente porque é geradora de uma nova vida. Por outro lado, a diabetes é uma

patologia que está a aumentar a uma velocidade preocupante e que pode ter consequências devastadoras para a doente, como é o caso da nefropatia, da neuropatia e da microangiopatia.

Compreende-se, então, que sendo a placenta um órgão altamente vascularizado, ela será afectada pelo aparecimento de diabetes, independentemente de ser prévia à gravidez ou surgir quando a gestação já está em curso.

Assim, pensa-se ser importante tentar compreender qual o nível de conhecimento que, até ao momento, se atingiu sobre o assunto e como é que ele poderá ser aplicado no futuro para evitar as consequências maternas e fetais.

Esta é uma área em franca expansão, de investigação intensa, sendo que, muitas vezes, a informação publicada é controversa e insuficiente para se poderem tirar conclusões.

2. Métodos:

Este trabalho de revisão teve por base a pesquisa na literatura médica de artigos sobre o tema, utilizando a base de dados informática PUBMED. Esta pesquisa limitou-se aos últimos 11 anos, incluindo, portanto, os artigos publicados entre 2001 e o final de 2011.

Na pesquisa, utilizaram-se as seguintes palavras e expressões, com diversas combinações diferentes: placenta (*placenta*), diabetes mellitus (*diabetes mellitus*), diabetes gestacional (*gestational diabetes*), gravidez diabética (*diabetic pregnancy*), alterações vasculares (*vascular disorders*), morfologia vascular (*vascular morphology*), vasculogénese+angiogénese (*vasculogenesis+angiogenesis*), VEGF+ factores de crescimento (*VEGF+growth factors*).

Perante os resultados obtidos, procedeu-se à sua selecção em duas fases. Primeiramente fez-se uma pré-selecção dos artigos que, pelo seu título, estariam relacionados com a temática pretendida e excluíram-se os restantes. Após essa primeira redução, passou-se

à leitura dos resumos (*abstract*) dos artigos restantes para compreender se, de facto, versavam o tema e foram excluídos os que não o contemplavam.

Foram também consultadas as referências bibliográficas dos artigos já incluídos na revisão, tendo sido adicionados aqueles que preenchiam os critérios de inclusão em termos de conteúdo e de data.

3. A Placenta e a Diabetes:

3.1. Aspectos Fundamentais da Formação da Placenta e da sua Vascularização:

A placenta é um órgão transitório que se desenvolve de forma contínua exclusivamente durante o período da gravidez. É um órgão complexo, que separa a circulação sanguínea materna da circulação fetal e que assegura a passagem de todos os nutrientes e oxigénio da mãe para o feto, bem como a excreção dos produtos do metabolismo deste último. Ao funcionar como uma interface entre o sangue materno e fetal, a placenta não permite que estes entrem em contacto directo, mas intervém como um elemento facilitador das trocas necessárias entre ambos.

Uma das etapas fundamentais da gravidez é a implantação do blastocisto no endométrio. Pelo 7º dia após a concepção, o trofoblasto é composto por duas camadas celulares distintas: o citotrofoblasto, que é a camada mais interna, e o sinciciotrofoblasto, mais externo, multinucleado e que é responsável pela invasão do endométrio. Entre o 10º e o 13º dia surge um terceiro elemento, o citotrofoblasto extravilositário (ou intermediário), que é responsável pela invasão da decídua e das artérias espiraladas uterinas, contribuindo para a formação das lacunas onde fluirá sangue materno. O citotrofoblasto extravilositário promove uma destruição do endotélio, das células musculares da túnica média e também da inervação das artérias espiraladas, originando vasos de maior calibre e sem componente elástico, o que permite que se estabeleça uma circulação de baixa resistência, com aumento do fluxo no espaço interviloso e facilitação das trocas entre mãe e feto.

A unidade funcional da placenta é a vilosidade coriônica, cujo crescimento, desenvolvimento e maturação ocorrem a grande velocidade (comparativamente com outros órgãos do organismo), e de forma contínua ao longo de toda a gestação. Como tal, a vascularização da árvore vilositária também ocorre de forma rápida, por forma a acompanhar o crescimento das vilosidades e a assegurar que as trocas se realizam.

A placenta pode então ser vista como um grande leito microvascular, inserido numa fina camada de sinciciotrofoblasto, o qual está banhado por sangue materno que flui das artérias espiraladas. Os vasos são naturalmente capazes de responder a agentes vasoactivos, oxigénio, factores de crescimento, hormonas, glicose, nutrientes, entre outros, com mecanismos compensadores. Porém, esta capacidade pode ser insuficiente para proteger o feto em gravidezes complicadas por doença.

Portanto, como a placenta funciona como uma interface, compreende-se que esteja exposta simultaneamente a moléculas tanto maternas como fetais, sendo afectada por elas. Por outro lado, ela própria é um órgão endócrino e produtor de substâncias que exercerão a sua acção na mãe e no feto de forma independente.

Ao longo da gestação, a placenta experiencia várias fases de desenvolvimento. Inicialmente, predominam os processos de proliferação e diferenciação celulares para a formação das vilosidades coriônicas (que se vão desenvolvendo e sofrendo processos de maturação) e também das estruturas extravilositárias. Neste período observam-se essencialmente modificações a nível do trofoblasto. Numa fase mais avançada da gestação ocorre, predominantemente, um aumento da massa placentária, devido ao crescimento das vilosidades, o qual é acompanhado de angiogénese mais evidente e na qual o endotélio vascular tem um papel fundamental. À medida que a vascularização ocorre, constata-se também remodelação e estabilização dos leitos vasculares existentes.

Considerando que a diabetes associada à gravidez pode ocorrer em momentos diferentes, será fácil de compreender que os efeitos a nível da placenta e as consequências para o feto serão também díspares.

Em gravidezes complicadas por Diabetes Mellitus (DM) prévia (tipos I ou II), a síntese *de novo* de vasos da placenta (a partir de células pluripotentes) no primeiro trimestre, a maturação dos vasos no primeiro e segundo trimestres e a angiogénese do terceiro trimestre ocorrem em ambiente de hiperglicémia. Na Diabetes Gestacional (DG), característica do terceiro trimestre, pode haver alterações na angiogénese e na permeabilidade dos vasos, neste período. Há aumento dos níveis maternos de glicose, insulina, factores angiogénicos, citocinas e mediadores inflamatórios, o que vai ter impacto directo em algumas ou mesmo todas as etapas de formação dos vasos. Portanto, numa situação de DM prévia à gravidez estamos perante um insulto metabólico que terá efeitos a longo prazo no desenvolvimento placentário, enquanto que na DG esse insulto terá um efeito a curto prazo, dado que a maior parte do período gestacional decorreu num ambiente de normoglicémia (Figura 1).

Ainda assim, segundo alguns autores, a placenta tem a capacidade de ajustar, dentro de certos limites, as glicémias maternas, dado que consegue funcionar como um sistema-tampão para o excesso de glicose. Contudo, se a sua capacidade máxima for excedida, ela não consegue evitar a passagem de glicose para o feto, com as consequências que daí advêm, nomeadamente a macrosomia fetal.

O crescimento e a maturação das vilosidades coriônicas constituem a base do desenvolvimento placentário, sendo que estes processos dependem de vasculogénese e angiogénese para que possam ocorrer.

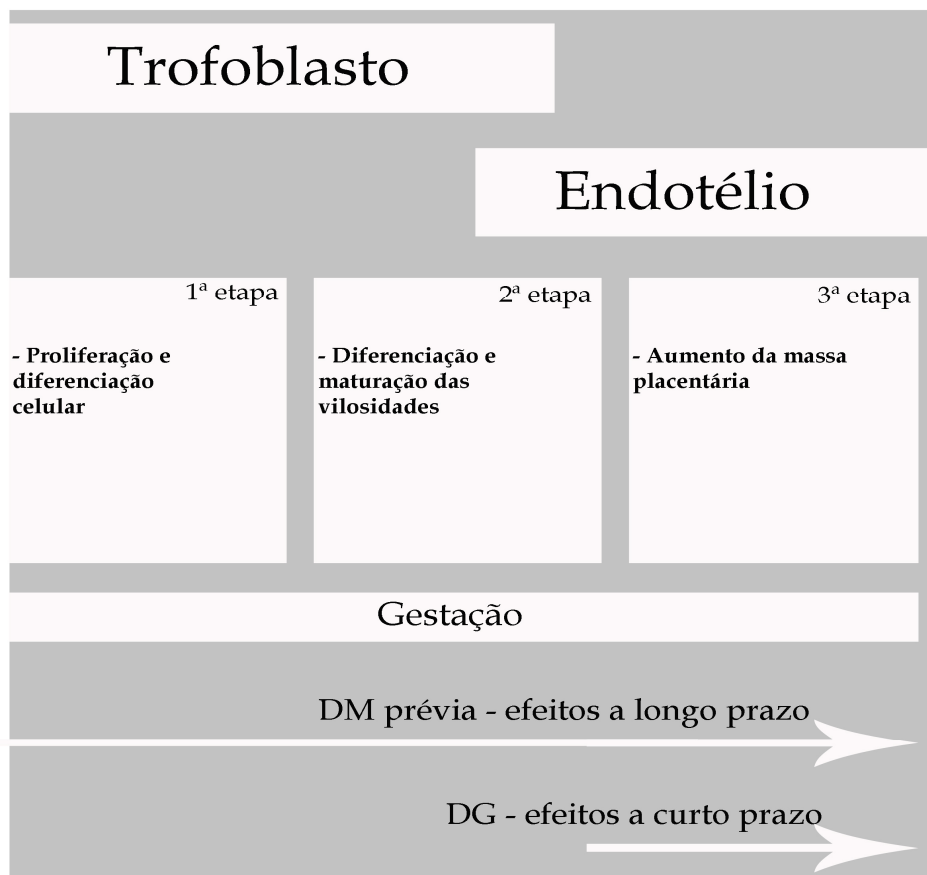


Figura 1 : O crescimento e desenvolvimento da placenta depende, essencialmente, de três etapas principais, com uma intervenção predominante do trofoblasto na primeira metade da gestação e do endotélio na segunda metade. A presença de diabetes prévia à gravidez implica efeitos a longo prazo no desenvolvimento placentário. A diabetes gestacional, por outro lado, condiciona efeitos a curto prazo.

DM = diabetes mellitus ; DG = diabetes gestacional

Em traços muito gerais, a vasculogénese inicia-se por volta do 21º dia de gestação e conduz à formação dos primeiros vasos primitivos, enquanto que a angiogénese se inicia um pouco mais tarde, pelo 32º dia, originando extensas redes vasculares, dada a elevada taxa de ramificação dos vasos recém-formados. A partir da 25ª semana, este processo passa a ser predominantemente não-ramificador, traduzindo um crescimento essencialmente longitudinal dos vasos, com longas ansas capilares sem ramificações, por forma a acompanharem a etapa de maior crescimento do feto e da placenta. Assim, pode afirmar-se que o crescimento dos

capilares é bifásico, com a formação inicial de uma rede vascular com inúmeras ramificações, seguindo-se um crescimento dos capilares em comprimento (Mayhew, 2002).

A vasculogénese conduz à formação dos capilares primitivos a partir da diferenciação *in situ* de células estaminais hemangiogénicas que, por sua vez, têm origem numa linhagem de células pluripotentes mesenquimatosas (Figura 2). As células hemangiogénicas dão origem a células angioblásticas (que, por sua vez, são as precursoras das células endoteliais) e às células hematopoiéticas, das quais resultarão as células sanguíneas (Kaufmann et al, 2004).

Por outro lado, a angiogénese é o processo através do qual se formam novos vasos sanguíneos a partir de vasos pré-existentes (Figura 2). As células angioblásticas migram ao longo dos vasos, diferenciam-se em novas células endoteliais e promovem a divisão celular a partir de outras células endoteliais já existentes, culminando no crescimento do vaso em comprimento (Kaufmann et al, 2004).

Sendo assim, põs-se a questão de qual seria o primeiro estímulo que levaria à diferenciação das células pluripotentes em células hemangiogénicas e, destas, nas suas linhagens subsequentes. O início da vascularização ocorre através de uma interacção entre as células precursoras pluripotentes e factores angiogénicos como o Factor de Crescimento do Endotélio Vascular (VEGF, de *vascular endothelial growth factor*).

Vários estudos demonstraram que existe uma produção acentuada deste factor de crescimento desde estádios muito iniciais da gravidez. Esta molécula e os seus receptores têm alta expressão na placenta, e crê-se que seja o principal promotor da vasculogénese e angiogénese (Demir et al, 2006).

Sendo assim, foi colocada a hipótese de que o VEGF funciona como o primeiro estímulo ao início de desenvolvimento da vasculatura placentária e que existe uma indução parácrina da vasculogénese dependente do trofoblasto (Demir et al, 2006).

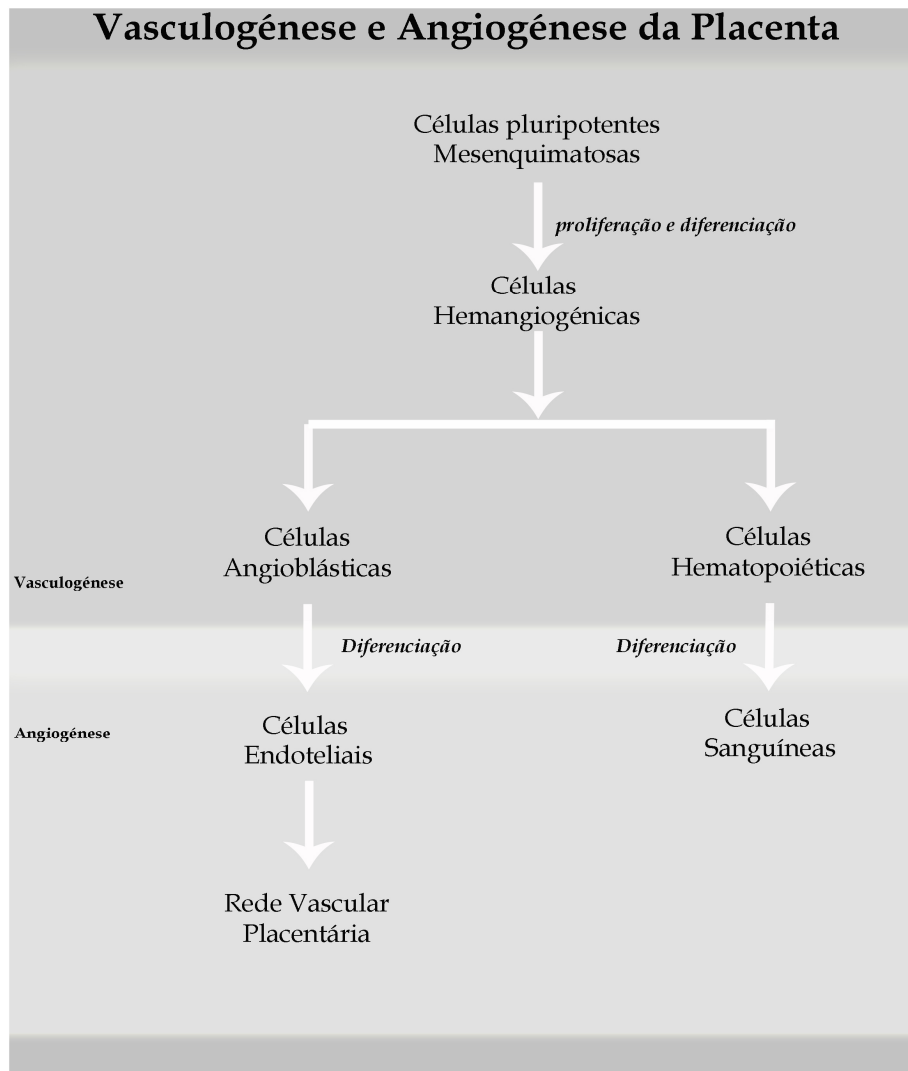


Figura 2 : Representação esquemática das principais etapas da Vasculogénese e da Angiogénese da placenta

À medida que a gravidez avança e ocorre maturação das vilosidades, o processo de vasculogénese continua e inicia-se a angiogénese. Nesta etapa, as vilosidades intermediárias imaturas recrutam células de Hofbauer (os macrófagos locais), aumentando a sua quantidade nos tecidos placentários. Paralelamente, observa-se uma mudança no padrão de expressão do VEGF e dos seus receptores. O VEGF passa a ser produzido em quantidades inferiores pelo citotrofoblasto, enquanto que a sua síntese pelas células de Hofbauer e outras células derivadas do estroma, aumenta. Sendo assim, considera-se que o citotrofoblasto é o primeiro estímulo para a angiogénese porque é ele que começa a produzir VEGF (Demir et al, 2004).

Com a progressão da gravidez, também a morfologia dos vasos se vai alterando. As células hemangiogénicas proliferam, dando origem a “cordões” angiogénicos, constituídos pelas células angioblásticas, que se vão diferenciando até chegar à célula endotelial. No seu citoplasma surgem vacúolos que depois se vão fundir (dado que as células emitem projecções citoplasmáticas que permitem uma maior aproximação física entre si), originando um lúmen vascular primitivo. Estão assim reunidas as condições para que se inicie a formação da rede vascular placentária (Demir et al, 2004; Demir et al, 2006; Demir et al, 2007).

Resumindo, existem essencialmente três grandes fases de desenvolvimento da vasculatura placentária: a vasculogénese, a angiogénese I e a angiogénese II. Na primeira, o VEGF é produzido pelo citotrofoblasto, induzindo a proliferação, diferenciação e migração das células hemangiogénicas. Na segunda, há indução da formação de redes vasculares a partir de vasos existentes, por factores de crescimento produzidos pelo citotrofoblasto mas, principalmente, pelas células de Hofbauer e, na terceira, ocorre o desenvolvimento de redes perivasculares, nomeadamente o desenvolvimento de vasos para a camada muscular que se está a formar e que é fundamental para a existência de vasos contrácteis. Nesta última fase intervêm factores de crescimento produzidos pelas próprias vilosidades e também citocinas da circulação fetal que, entretanto, já está estabelecida (Demir et al, 2007).

3.2. Alterações Metabólicas na Gestação Normal e Com Diabetes:

O equilíbrio metabólico do nosso organismo depende de vários processos distintos e encadeados entre si e também da interacção entre várias substâncias, tais como hormonas, factores de crescimento e citocinas e, portanto, se um dos elementos envolvidos está modificado, todos os mecanismos relacionados e as reacções subsequentes também sofrerão repercussões.

A gestação, quer decorra dentro dos parâmetros da normalidade, quer coexista com doença, é um estado em que, naturalmente, se registam variadas modificações do metabolismo geral da mulher. Verifica-se alteração na distribuição de vários receptores, na sensibilidade a várias moléculas, na produção de hormonas, citocinas e/ou factores de crescimento.

Desoye et al (2007) colocaram a hipótese de que alterações no controlo metabólico da gestante podem contribuir para que se gere um estado pró-inflamatório a nível placentário, uma vez que interferem com a produção e libertação de várias citocinas. Estas, para além de serem produzidas pelo sistema imunitário, existem e são sintetizadas no tecido adiposo, sendo que, numa gravidez normal, circulam em concentrações mínimas. Contudo, um mau controlo metabólico durante a gravidez estimula uma maior síntese de citocinas pró-inflamatórias pelo tecido adiposo e também pela placenta.

No caso da diabetes em particular, uma das principais hormonas envolvidas é a insulina. Esta apresenta elevado número de receptores na placenta, sendo que o seu padrão de expressão se altera ao longo da gravidez. Inicialmente, observa-se maior quantidade de receptores de insulina a nível do trofoblasto e, numa gestação de termo, esses receptores predominam a nível do endotélio vascular. Este facto indicia que existe um controlo metabólico placentário crescente por parte do feto e então percebe-se que um aumento da insulina fetal vai despoletar uma série de alterações endoteliais, designadamente, aumento da libertação de citocinas pró-inflamatórias (Colomiere et al, 2009; Hiden et al, 2009).

A hiperglicémia na grávida contribui não só para o aumento da insulina materna, mas também para a hiperinsulinémia fetal, dado que, não existindo alterações no transporte ao nível da placenta, a glicose atravessa-a devido ao gradiente transplacentário que se instala, passando para a circulação fetal e estimulando a produção de insulina pelo pâncreas do feto (com forte probabilidade de desencadear hiperplasia das células beta pancreáticas). O

aumento simultâneo da glicémia e insulinémia fetais contribui claramente para uma das alterações mais frequentemente observadas na gravidez associada à diabetes: a macrosomia fetal.

A insulina tem também efeitos a nível das células endoteliais: para além de promover a captação de glicose por elas, é ainda responsável pelo aumento da síntese de glicogénio (Hiden et al, 2009). Esta acção ocorre a nível da microvasculatura placentária, o que justifica o crescimento exagerado da placenta na maioria das grávidas diabéticas, e ocorre também a nível do endotélio da circulação fetal, promovendo um maior armazenamento de glicogénio pelo fígado fetal e contribuindo também para o desenvolvimento de um feto macrosómico.

Esta hormona tem ainda efeitos indirectos na permeabilidade vascular, através da via do óxido nítrico (NO). O NO regula o tónus vasomotor e o fluxo sanguíneo, ao inibir a contracção do músculo liso e a agregação plaquetária, e afecta a expressão de factores angiogénicos (Hiden et al, 2009). Portanto, esta molécula constitui um potente vasodilatador e aumenta a permeabilidade vascular. Como tal, o aumento da insulina observado na diabetes é promotor de vasodilatação e aumento da permeabilidade vascular de uma forma indirecta, já que ela faz aumentar os níveis de NO. De forma similar, a insulina funciona como um factor pró-angiogénico, dado que aumenta a produção de VEGF (Figura 3). Por outro lado, o próprio desequilíbrio metabólico inerente à diabetes potencia as alterações referidas, culminando num aumento ainda mais acentuado da permeabilidade vascular e da angiogénese.

O NO e o VEGF estão intimamente relacionados, regulando a síntese um do outro por diversos mecanismos, sendo que a diminuição do NO estimula a produção do VEGF e um VEGF aumentado, estimula a produção de NO no endotélio. Na diabetes, porém, este equilíbrio não existe, devido ao aumento da produção das duas moléculas, com potenciação dos efeitos referidos (Hiden et al, 2009). Note-se também que o estado gravídico é, *per se*, um

estado de maior resistência à insulina e de tolerância diminuída à glicose, portanto todos estes mecanismos estão ainda mais exacerbados na grávida com diabetes.

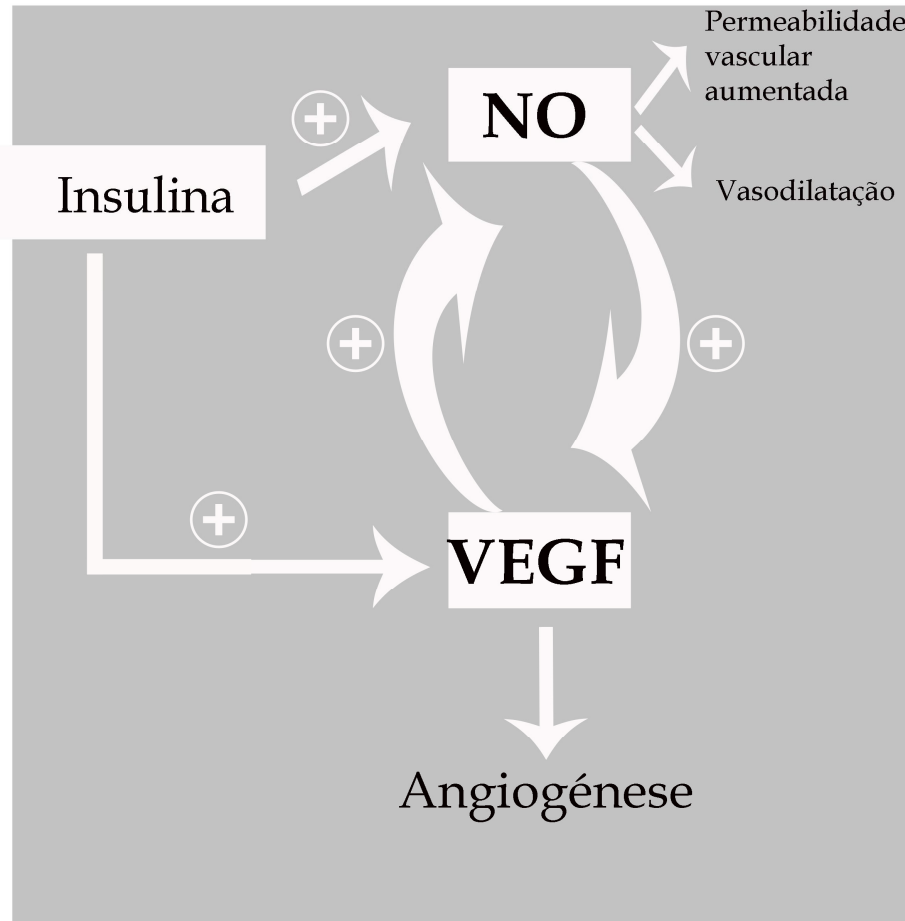


Figura 3 : A insulina funciona, indirectamente, como vasodilatadora e pró-angiogénica. O aumento da insulina observado na diabetes estimula a produção de NO e VEGF, com aumento da permeabilidade vascular, vasodilatação e aumento da angiogénese.

NO = Óxido Nítrico ; VEGF = *Vascular Endothelial Growth Factor*

A existência de diabetes pressupõe invariavelmente algum grau de disfunção endotelial, que se define como um desequilíbrio ou perda das funções endoteliais essenciais, incluindo a angiogénese, a modulação do tónus vascular e a capacidade de funcionar como uma barreira física e metabólica, sugerindo que a função celular é anormal (Sobrevia et al, 2011).

O endotélio da macrovasculatura sintetiza moléculas vasodilatadoras como o NO e responde à presença do VEGF, alterando as suas características, nomeadamente no que concerne à permeabilidade vascular. Também o endotélio microvascular sintetiza NO, por mecanismos diferentes, e parece ser mais reactivo a variações da concentração de substâncias no meio envolvente do que o endotélio macrovascular.

Estas alterações estão igualmente presentes na grávida diabética, sendo que a disfunção endotelial conduz a uma reactividade vascular diferente. Há uma diminuição de síntese de NO pelo endotélio e menos NO disponível devido à formação de espécies reactivas de oxigénio (ROS), o que se traduz por uma reduzida vasodilatação dependente do endotélio. As células endoteliais da macro e microvasculatura da placenta diferem na sua habilidade em captar e/ou metabolizar substratos que estão directa ou indirectamente envolvidos na modulação do tónus vascular nos leitos vasculares placentários (Sobrevia et al, 2011).

3.3. O Factor de Crescimento do Endotélio Vascular:

O factor de crescimento do endotélio vascular (VEGF) é uma molécula proteica fundamental nos processos de vasculogénese e angiogénese. Como o próprio nome indica, tem um papel crucial na proliferação do endotélio vascular, através da ligação a vários receptores. São conhecidas actualmente quatro moléculas diferentes, denominadas pelas letras de A a D, sendo o VEGF-A a primeira molécula a ser descoberta e a mais conhecida.

O factor de crescimento placentário (PlGF) está também incluído nesta família, sendo que a sua expressão é praticamente exclusiva dos tecidos placentários. De uma forma geral, as suas acções são similares às do VEGF, estimulando a vasculogénese e angiogénese, particularmente no período de desenvolvimento embrionário. É produzido, à semelhança do VEGF, pelo trofoblasto.

De um modo genérico, as funções do VEGF são: estimular a angiogénese, aumentar a permeabilidade vascular, estimular a migração e proliferação das células endoteliais e contribuir para a manutenção da integridade dos capilares recém-formados (Helske et al, 2001). O VEGF-A é responsável por promover a mitose e também a migração das células endoteliais, contribui para a formação dos lúmens vasculares primitivos e das fenestrações nos capilares e tem efeito quimiotáctico para os macrófagos locais, também designados por células de Hofbauer, e granulócitos. Além disso, aumenta indirectamente a permeabilidade vascular, através da via do NO. O VEGF-B está relacionado com a angiogénese embrionária, particularmente a nível dos tecidos miocárdicos. O VEGF-C é promotor da linfangiogénese e o VEGF-D está envolvido na formação dos vasos linfáticos a nível do pulmão (Demir et al, 2004; Demir et al, 2007).

Já foram reconhecidos três receptores para estas moléculas: o VEGFR-1, o VEGFR-2 e o VEGFR-3, que são receptores tirosina-cinase. O receptor VEGFR-1 tem um papel importante na distribuição espacial das células endoteliais aquando da formação dos novos vasos, permitindo a formação de um endotélio organizado e funcional. Este receptor liga os VEGF-A, o VEGF-B e também o PlGF. O receptor VEGFR-2 é fundamental no recrutamento e diferenciação precoce das células hemangiogénicas nos capilares feto-placentários e liga o VEGF-A, C e D. O receptor VEGFR-3 está relacionado com a formação dos vasos linfáticos e por isso liga os VEGF-C e D (Demir et al, 2004).

O VEGF é expresso em inúmeros tecidos do organismo, não sendo a placenta uma excepção. O aumento da expressão desta molécula e dos seus receptores pelo citotrofoblasto e células de Hofbauer contribui para as alterações observadas na diferenciação e maturação das vilosidades e também na vascularização placentária.

3.4. Alterações Vasculares da Placenta na Diabetes:

A diabetes é uma doença altamente prevalente nos países desenvolvidos e que se caracteriza por valores de glicémia acima do normal. A diabetes mellitus (DM) tipo II está comprovadamente relacionada com determinados aspectos do estilo de vida como a dieta hipercalórica e com excesso de gorduras, o tabagismo e o sedentarismo que existem nas sociedades mais desenvolvidas.

As grávidas podem também ser afectadas por esta doença, definindo-se, então, duas situações diferentes: ou a diabetes existia previamente à gravidez ou é diagnosticada pela primeira vez durante o período gravídico, passando a designar-se por diabetes gestacional (DG).

Nenhuma das situações está isenta de riscos, pelo que as grávidas devem ser cuidadosamente acompanhadas. O risco não é apenas materno, podendo existir, posteriormente, complicações para o feto. Leach (2011) correlaciona a existência de diabetes materna, particularmente DM tipo II, mas também a DG, com um risco aumentado de obesidade infantil, DM tipo II e síndrome metabólica para aquele feto que ainda se está a desenvolver.

Regra geral, após a gravidez, a maioria das mulheres que tiveram DG retorna espontaneamente a um estado de normoglicémia. Contudo, apresentam um risco mais acentuado de virem a sofrer de DM tipo II no futuro ou de DG em gravidezes subsequentes.

Um estado de hiperglicémia persistente vai causar variadas alterações no organismo, entre as quais a modificação no padrão de síntese e/ou libertação de várias substâncias, como por exemplo, hormonas, citocinas ou factores de crescimento.

Foram colocadas várias hipóteses acerca de quais os mecanismos causadores das alterações vasculares que se observaram na placenta de grávidas diabéticas. A diabetes, independentemente de apresentar um bom ou mau controlo metabólico, modifica os processos

de vasculogénese e angiogénese, alterando-se a morfologia vascular, o que implica a existência de consequências para o feto.

Esta é uma área de intensa pesquisa e investigação. Já foram feitos vários estudos morfométricos, com análise de aspectos concretos, nomeadamente quantificação da área de superfície vascular, índice de capilarização, espessura da parede do vaso, local da árvore vilosa onde mais frequentemente ocorrem alterações, entre outros.

A maioria desses estudos aponta para que, na diabetes, haja um aumento da angiogénese fetoplacentária, associada a várias modificações na relação entre as células endoteliais e os pericitos, com maior proliferação endotelial e espessamento da membrana basal. Concomitantemente, observou-se que o processo de angiogénese, que normalmente é bifásico, passa a ser não-ramificador, ou seja, há um crescimento predominantemente longitudinal dos vasos, não havendo uma rede vascular tão densa como seria de esperar numa gestação normal.

Todas estas modificações implicam uma maior dificuldade em efectuar as trocas gasosas, dado que os gases têm uma maior superfície de difusão para atravessar, instalando-se uma situação de hipóxia fetal crónica. Constata-se, portanto, que a hiperglicémia afecta a qualidade das trocas gasosas a nível da placenta bem como a quantidade de superfície disponível para que elas ocorram (Calderon et al, 2007).

Pode assim depreender-se que a angiogénese também depende das concentrações de oxigénio nos tecidos placentários, dado que há evidências de que a hipóxia regula a expressão de receptores e a produção de factores de crescimento. Na gestação inicial, a hipóxia fetal relativa que se instala faz aumentar os factores pró-angiogénicos, como é o caso do VEGF, e diminui os anti-angiogénicos, levando a que ocorra proliferação endotelial e angiogénese ramificadora, por forma a estabelecer a rede vascular essencial ao desenvolvimento inicial da placenta e, conseqüentemente, do feto. À medida que a gestação avança, as tensões de

oxigénio vão aumentando, o que faz diminuir o VEGF, através de mecanismos de *feedback* negativo. Assim, a angiogénese entra na sua segunda fase, de crescimento longitudinal dos vasos (Mayhew, 2002).

Concomitantemente, observam-se alterações na interacção entre as células endoteliais e as células perivasculares, principalmente os pericitos, mas também as células musculares lisas, que afectam a proliferação endotelial e a maturação e estabilização dos vasos.

A hipóxia existente numa situação de diabetes pode classificar-se como uma hipóxia pós-placentária, dado que a mãe apresenta concentrações normais de oxigénio nos tecidos, mas o feto apresenta-se com hipóxia e a placenta experiencia uma situação de “hiperóxia relativa”. Sendo assim, está favorecida a ocorrência de angiogénese não-ramificadora. Esta situação também é observada em gestações de fetos que apresentem restrição do crescimento intra-uterino (RCIU) por alterações do fluxo nas artérias umbilicais. Porém, a título de exemplo, a angiogénese ramificadora está favorecida em situações de anemia materna (hipóxia pré-placentária) ou então de pré-eclampsia (hipóxia útero-placentária), em que é necessário aumentar a superfície para trocas gasosas (Mayhew, 2002).

Como já foi referido, a hipóxia fetal faz aumentar os níveis de VEGF, com o objectivo de estimular a angiogénese, para aumentar a superfície disponível para trocas gasosas e, com isso, o aporte de oxigénio para o feto. Está descrito que a membrana basal placentária está espessada e o fluxo sanguíneo está diminuído, o que dificulta a distribuição de oxigénio nestas situações. Assim, aumenta o VEGF-A, que é um potente mitogénio para as células endoteliais e também para os pericitos (Mayhew, 2002). Quando a fase dependente do VEGF termina, ou seja, quando começa a segunda fase da angiogénese, são as células endoteliais que produzem os factores de crescimento que vão estabilizar os vasos recém-formados, inibindo a proliferação endotelial excessiva, promovendo a diferenciação das células perivasculares e a produção de moléculas de adesão.

No que concerne à quantidade de receptores e à intensidade de marcação do VEGF, em estudos de imunohistoquímica, não se verificaram diferenças em relação à normalidade, nem para a expressão da molécula, nem dos seus receptores VEGFR-2 e VEGFR-3. A informação obtida em relação ao receptor VEGFR-1 foi inconsistente, pelo que não se conseguiu tirar nenhuma conclusão. Do mesmo modo, não se observaram alterações na expressão do PlGF, na maioria dos estudos de comparação entre controlos normais e grávidas diabéticas (Mayhew, 2002).

Constatou-se, porém, que o aumento do VEGF decorrente da diabetes altera a integridade das junções celulares e das moléculas de adesão. Leach (2011) verificou que há perda de moléculas de adesão tanto na DM tipo I como na DG. Relativamente à DM tipo I, observou-se uma perda de moléculas de adesão ao nível da microvasculatura que rondava os 50%, e na DG essa percentagem de perda era de cerca de 20%, dado que a fase de vasculogénese não está afectada. Ao provocar esta perda de adesividade entre as células, o VEGF contribui para o aumento da permeabilidade vascular, particularmente um aumento de permeabilidade paracelular, devido a perda de ligações entre as células.

Objectivamente, Calderon et al (2007) demonstraram que existe uma diminuição da área total de superfície vascular e um índice de capilarização menor, o que se apresenta em consonância com a evidência de que o crescimento dos vasos é essencialmente longitudinal. A mesma análise morfométrica revela, através da observação de cortes transversais, que a forma e o calibre dos capilares se encontram preservados.

É sabido também que a vascularização ocorre na dependência do crescimento e da maturação das vilosidades. Durante a gravidez, o desenvolvimento da árvore vilosa ocorre essencialmente à custa do crescimento das vilosidades intermediárias e das terminais. Contudo, na diabetes há um aumento do número de vilosidades intermediárias imaturas e uma menor quantidade de vilosidades terminais.

A DG também causa alterações vasculares, mas, como já foi referido, o seu aparecimento é típico do terceiro trimestre de gravidez, pelo que as modificações serão essencialmente no processo de angiogénese, não sendo a vasculogénese afectada. Na DG parece haver uma maior incidência de mortes *in utero*, fetos com peso excessivo para a idade gestacional e prematuridade, quando comparado com gestações normais e, nalguns estudos, também com gestações com DM prévia. Também na DG está demonstrada uma debilidade na função placentária, com maior dificuldade na realização das trocas entre mãe e feto, dado que as alterações ocorrem na fase de maior expansão da massa placentária.

Daskalakis et al (2008) concluem que, ao comparar a existência de lesões degenerativas placentárias como, por exemplo, necrose fibrinóide ou corangiose, em gestações normais e com DG, elas são visualizadas com maior frequência nestas últimas. Paralelamente, observam-se também nas grávidas com esta doença alguns indicadores de hipóxia fetal crónica, como o aumento do número de glóbulos vermelhos nucleados e mais vilosidades imaturas. Estas, juntamente com a necrose fibrinóide, dificultam as trocas gasosas, uma vez que aumentam a distância entre o espaço intervilo, onde circula sangue materno, e os capilares fetais. Sendo assim, na tentativa de compensar a deficiente difusão de oxigénio, vai haver um aumento do crescimento das vilosidades para aumentar a superfície de trocas e, também, um aumento da angiogénese, verificando-se em vários casos um peso placentário aumentado.

Este aumento do peso da placenta poderá parecer paradoxal, uma vez que há excesso de glicose materna e, portanto, não seria de esperar que a placenta crescesse tanto, dado ter nutrientes suficientes disponíveis. Contudo, a hiperglicémia debilita a função placentária, pelo que é necessário aumentar a superfície de trocas e daí o tamanho da placenta ser superior ao de uma gravidez normal (Desoye et al, 2007).

Na maioria dos casos, verificam-se na DG as mesmas alterações morfológicas já objectivadas para a DM, ou seja, o crescimento dos vasos também é predominantemente longitudinal, sendo que se quantificou uma menor área total de superfície vascular e um índice de capilarização inferior (Daskalakis et al, 2008).

Existem ainda outras alterações descritas, mas cuja associação directa com a diabetes durante a gravidez, independentemente do seu tipo, ainda não está comprovada, como é o caso de edema das vilosidades, hipovascularização das vilosidades terminais, isquémia e enfarte da placenta, fibrose das vilosidades e alterações da membrana basal, entre outros. Estas condições foram observadas em vários casos de gravidez associada à diabetes, mas os dados obtidos não permitiram tirar conclusões estatisticamente significativas (Daskalakis et al, 2008).

Contudo, houve duas alterações que foram sistematicamente observadas nas gravidezes complicadas por diabetes: a endarterite e a disfunção endotelial. Estas decorrerão, com grande probabilidade, do estado pró-inflamatório que se gera a nível placentário e das consequentes modificações nas funções do endotélio, nomeadamente no que concerne à sua permeabilidade e existência de receptores específicos (Desoye et al, 2007).

No caso da DG verifica-se, tal como na DM, que existem alterações morfológicas dos vasos independentemente do grau de controlo metabólico. Porém, na DG parece existir uma relação directamente proporcional entre o grau de hiperglicémia e a gravidade das alterações vasculares, embora ainda sejam necessários mais estudos para comprovar esta associação (Calderon et al, 2007).

No entanto, nem toda a literatura é concordante no que respeita a estas matérias. Calderon et al (2007) apresentam, no seu estudo, a comparação das alterações vasculares na diabetes e em situações de hiperglicémia moderada, considerada pelos autores como uma condição em que a prova de tolerância à glicose oral é normal, mas existe um perfil de

glicémias alterado, ainda que não atinja valores para ser considerado uma diabetes. Nesse estudo observa-se um aumento do número e tamanho das vilosidades apenas nas grávidas com hiperglicémia moderada, por forma a aumentar a superfície de contacto e, com isso, otimizar a superfície de trocas entre mãe e feto. Estas alterações não se observaram nem nos controlos nem nas grávidas previamente diabéticas, pelo que se equacionou que a situação de hipóxia fetal se deve a alterações metabólicas e não a alterações da vascularização.

Pietro et al (2010) corroboram estas informações, afirmando que nas situações de hiperglicémia moderada há um maior número de vilosidades e de vasos sanguíneos, de forma a tentar compensar a hipóxia que se instala em consequência do excesso de glicose. Essa adaptação da placenta facilita a passagem de glicose, o que também ajudará a explicar a ocorrência quase universal de macrossomia fetal.

Mayhew (2002) demonstra, no seu estudo, que em situações de diabetes prévia à gravidez há aumento da angiogénese, com aumento da capilarização, mas que não revela alterações da mesma em situações de DG.

Nesse estudo reforça-se a ideia de que diabetes prévia à gestação vai afectar a angiogénese placentária independentemente do bom ou mau controlo metabólico e dos valores de hemoglobina glicada (Hb A1c). Novamente se demonstra que a angiogénese está aumentada e é predominantemente não-ramificadora, não se evidenciando alterações no calibre nem na forma dos capilares e, portanto, demonstrando que uma gestação diabética não se acompanha de remodelação vascular. Assim, verifica-se que o crescimento longitudinal dos capilares na diabetes ocorre através de proliferação endotelial aumentada e não de remodelação celular. Isto é consistente com a manutenção da forma e calibre dos capilares observada nos cortes transversais.

Pelo contrário, o referido estudo indica que na DG não existem alterações no comprimento, calibre ou volume total de capilares. Esta diferença é justificada pelo autor com

o facto de que numa diabetes prévia há alterações desde o início da gravidez, com vários mecanismos alterados, porque toda ela decorre em ambiente de hiperglicémia, enquanto que na DG as alterações da glicémia só se verificam numa fase mais avançada e há um número muito menor de mecanismos afectados.

Assim, o autor questionou-se porque está a angiogénese aumentada na DM prévia e não na DG. Segundo ele, o aumento da angiogénese da DM prévia pode dever-se a episódios de hiperglicémia que ocorram no início da gestação, quando as tensões de oxigénio estão baixas e a angiogénese se encontra na sua primeira fase. As altas concentrações de glicose tornam a diminuição das tensões de oxigénio ainda mais evidentes, aumentando a expressão do VEGF acima do normal. Para além disso, o excesso de glicose pode ter efeito tóxico directo sobre os pericitos e as suas relações com as células endoteliais. Os mecanismos acima explicados não estão em causa na DG dado que, quando esta se instala, o período de angiogénese ramificadora já passou, pelo que não se observam as alterações vasculares referidas para a DM prévia.

Um outro aspecto considerado relevante é o de que a hiperglicémia promove a ocorrência de aterosclerose (Pietro et al, 2010). Esta situação é particularmente importante no caso das grávidas com DM tipo II, que já têm risco aumentado para esta condição.

O estado de resistência à insulina e o excesso de citocinas pró-inflamatórias existentes em circulação na gravidez associada à diabetes conduzem a uma diminuição dos mecanismos anti-aterogénicos do endotélio vascular. Este facto, associado à disfunção endotelial existente, leva a perda de elasticidade das artérias, que ficam mais susceptíveis à aterosclerose, eventualmente com a formação de placas de ateroma. Também se observa a ocorrência de microangiopatia, devido ao enfraquecimento e dilatação da parede dos capilares, que ficam mais predispostos à ruptura (Pietro et al, 2010).

Assim, toda a circulação útero-placentária está dificultada, havendo necessidade de a placenta se adaptar, para suprir adequadamente as necessidades do feto.

4. Conclusão:

Em conclusão, verifica-se que este é um tema relevante (nomeadamente pela importância crescente que a diabetes está a adquirir nas sociedades), mas também é gerador de alguma controvérsia, mesmo entre os peritos da área. Ainda assim, há determinados aspectos em que existe entendimento entre todos.

Constatou-se que, perante a coexistência de uma gravidez e de diabetes, há sempre alterações a nível da vasculatura placentária, independentemente do bom ou mau controlo metabólico. No entanto, apesar de não haver unanimidade na comunidade científica, a maioria dos autores considera que um bom controlo metabólico implica um menor grau de alterações vasculares. Uma gestante com um controlo glicémico anormal tem maior probabilidade de ter mais alterações no processo de angiogénese e de ter uma função placentária mais debilitada, com as consequências que isso determina.

A principal conclusão que se obtém desta revisão é a de que, no decurso de uma gravidez associada à diabetes, há um aumento da angiogénese fetoplacentária, com um crescimento predominantemente longitudinal dos vasos. Este facto reuniu consenso entre os autores e é comum a todos os tipos de diabetes (diabetes prévia, tipo I ou tipo II, e diabetes gestacional). Consequentemente, a placenta destas gestantes apresenta uma menor área total de superfície vascular e uma rede vascular menos densa, existindo, portanto, uma menor área disponível para a realização das trocas entre a mãe e o feto.

O aumento da angiogénese pode ser justificado pelo facto de este ser um processo que depende das concentrações de oxigénio nos tecidos, ou seja, tecidos pouco oxigenados constituem um estímulo pró-angiogénico. Assim, se a hiperglicémia conduz a uma situação de

hipóxia fetal, por contribuir para a formação de uma barreira placentária espessada, compreende-se que a diabetes conduza a um aumento da angiogénese.

Um outro aspecto sobre o qual existe consenso é o de que a diabetes faz aumentar os níveis de VEGF nos tecidos placentários e propicia a instalação de um ambiente pró-inflamatório. Assim, compreende-se a observação sistemática de disfunção endotelial e permeabilidade vascular aumentada. O VEGF, para além de ser o principal promotor da vasculogénese e angiogénese, aumenta a permeabilidade dos vasos e interfere em inúmeros mecanismos do metabolismo materno, contribuindo para a modificação do padrão de expressão de citocinas pró-inflamatórias.

A maioria dos estudos realizados aponta para que o aumento da angiogénese objectivado seja à custa de proliferação das células endoteliais e não devido a remodelação vascular, ou seja, não existe alteração da forma nem do calibre dos vasos.

Embora seja opinião unânime que a existência de diabetes altera, em maior ou menor grau, a formação dos vasos da placenta, nem todos os autores concordam que o controlo das glicémias possa ter influência nessas alterações. Ainda assim, considera-se que este controlo poderá efectivamente ser importante para que se assegure uma função placentária adequada. Existe evidência de que as grávidas com diabetes prévia apresentam alterações vasculares com menor repercussão na função da placenta, quando comparadas com as afectadas por diabetes gestacional, o que pode ser justificado pelo facto de as primeiras serem sujeitas a tratamento com insulina, enquanto que estas últimas são, muitas vezes, controladas apenas com medidas dietéticas, o que propicia maiores oscilações da glicémia. Esta justificação poderá também ser aplicada aos casos de grávidas com hiperglicémia moderada, dado que, não sendo diabéticas, apenas são aconselhadas a adoptarem determinadas medidas dietéticas, com possibilidade de maiores oscilações dos valores de glicémia, o que se reflecte em alterações mais evidentes da angiogénese.

Contudo, foram analisadas determinadas variáveis cujos resultados são controversos e, muitas vezes, opostos. Salientam-se o facto de alguns estudos revelarem vilosidades terminais hipovasculares e outros as descreverem como hipervasculares, e também o facto de os resultados para a diabetes gestacional serem muito díspares.

Portanto, conclui-se que ainda são necessários mais estudos nesta área. Será fundamental definir rigorosamente critérios de diagnóstico universais de DM, DG e hiperglicémia moderada, bem como delinear estratégias terapêuticas adequadas a cada uma das situações. Assim, obter-se-á um controlo metabólico óptimo para as grávidas e também a possibilidade de realizar estudos futuros com amostras mais uniformes.

Embora os resultados ainda sejam controversos, julga-se ser importante fomentar um bom controlo de glicémias em todas as grávidas, por forma a evitar as consequências da desregulação do seu metabolismo.

5. Referências Bibliográficas:

- Calderon IM, Damasceno DC, Amorin RL, Costa RA, Brasil MA, Rudge MV (2007) Morphometric study of placental villi and vessels in women with mild hyperglycemia or gestational or overt diabetes. *Diabetes Research and Clinical Practice*. 78(1):65-71
- Colomiere M, Permezel M, Riley C, Desoye G, Lappas M (2009) Defective insulin signaling in placenta from pregnancies complicated by gestational diabetes mellitus. *European Journal of Endocrinology*. 160(4):567-78
- Daskalakis G, Marinopoulos S, Krielesi V, Papapanagiotou A, Papantoniou N, Mesogitis S, Antsaklis A (2008) Placental pathology in women with gestational diabetes. *Acta Obstetrica et Gynecologica Scandinavica*. 87(4):403-7
- Demir R, Kayisli UA, Cayli S, Huppertz B (2006) Sequential steps during vasculogenesis and angiogenesis in the very early human placenta. *Placenta*. 27(6-7):535-9
- Demir R, Kayisli UA, Seval Y, Celik-Ozenci C, Korgun ET, Demir-Weusten AY, Huppertz B (2004) Sequential expression of VEGF and its receptors in human placental villi during very early pregnancy: differences between placental vasculogenesis and angiogenesis. *Placenta*. 25:560-572
- Demir R, Seval Y, Huppertz B (2007) Vasculogenesis and angiogenesis in the early human placenta. *Acta Histochemica*. 109(4):257-65
- Desoye G, Hauguel-de Mouzon S (2007) The human placenta in gestational diabetes mellitus. The insulin and cytokine network. *Diabetes Care*. 30 Suppl 2:S120-6

- Giachini FRC, Carriel V, Capelo LP, Tostes RC, Carvalho MH, Fortes ZB, Zorn TM, San Martin S (2008) Maternal diabetes affects specific extracellular matrix components during placentation. *Journal of Anatomy*. 212(1):31-41
- Helske S, Vuorela P, Carpén O, Hornig C, Weich H, Halmesmäki E (2001) Expression of vascular endothelial growth factor receptors 1, 2 and 3 in placentas from normal and complicated pregnancies. *Molecular Human Reproduction*. 7(2):205-10
- Hidden U, Lang I, Ghaffari-Tabrizi N, Gauster M, Lang U, Desoye G (2009) Insulin action on the human placental endothelium in normal and diabetic pregnancy. *Current Vascular Pharmacology*. 7(4):460-6
- Jirkovská M, Kubínová L, Janáček J, Moravcová M, Krejčí V, Karen P (2002) Topological properties and spatial organization of villous capillaries in normal and diabetic placentas. *Journal of Vascular Research*. 39(3):268-78
- Kaufmann P, Mayhew TM, Charnock-Jones DS (2004) Aspects of human fetoplacental vasculogenesis and angiogenesis. II. Changes during normal pregnancy. *Placenta*. 25(2-3):114-26
- Leach L (2011) Placental vascular dysfunction in diabetic pregnancies: intimations of fetal cardiovascular disease?. *Microcirculation*. 18(4):263-9
- Leach L, Taylor A, Sciota F (2009) Vascular dysfunction in the diabetic placenta: causes and consequences. *Journal of Anatomy*. 215(1):69-76.
- Maly A, Goshen G, Sela J, Pinelis A, Stark M, Maly B (2005) Histomorphometric study of placental villi vascular volume in toxemia and diabetes. *Human Pathology*. 36(10):1074-9

- Mayhew TM (2002) Enhanced fetoplacental angiogenesis in pre-gestational diabetes mellitus: the extra growth is exclusively longitudinal and not accompanied by microvascular remodeling. *Diabetologia*. 45(10):1434-9
- Mayhew TM (2002) Fetoplacental angiogenesis during gestation is biphasic, longitudinal and occurs by proliferation and remodeling of vascular endothelial cells. *Placenta*. 23(10):742-50
- Mayhew TM, Charnock-Jones DS, Kaufmann P (2004) Aspects of human fetoplacental vasculogenesis and angiogenesis. III. Changes in complicated pregnancies. *Placenta*. 25(2-3):127-39
- Osol G, Mandala M (2009) Maternal uterine vascular remodeling during pregnancy. *Physiology*. 24:58-71
- Pietro L, Daher S, Rudge MV, Calderon IM, Damasceno DC, Sinzato YK, Bandeira C, Bevilacqua E (2010) Vascular endothelial growth factor (VEGF) and VEGF-receptor expression in placenta of hyperglycemic pregnant women. *Placenta*. 31(9):770-80
- Sobrevia L, Abarzúa F, Nien JK, Salomón C, Westermeier F, Puebla C, Cifuentes F, Guzmán-Gutiérrez E, Leiva A, Casanello P (2011) Review: Differential placental macrovascular and microvascular endothelial dysfunction in gestational diabetes. *Placenta*. 32 Suppl 2:S159-64