

INSTITUTO DE MEDICINA INTEGRAL PROF. FERNANDO FIGUEIRA
FACULDADE PERNAMBUCANA DE SAÚDE
PROGRAMA INSTITUCIONAL DE BOLSAS DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA- PIBIC

**AVALIAÇÃO DA MICROCIRCULAÇÃO EM GESTANTES OBESAS: UM
ESTUDO PILOTO**

PAOLA ALESSANDRA CHERUBINI BELLO

RECIFE,
AGOSTO, 2016

INSTITUTO DE MEDICINA INTEGRAL PROF. FERNANDO FIGUEIRA
FACULDADE PERNAMBUCANA DE SAÚDE
PROGRAMA INSTITUCIONAL DE BOLSAS DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA- PIBIC

AVALIAÇÃO DA MICROCIRCULAÇÃO EM GESTANTES OBESAS: UM
ESTUDO PILOTO

Artigo científico apresentado ao Comitê
Institucional de Iniciação Científica do
IMIP como relatório final do Programa
Institucional de Bolsas de Iniciação
Científica PIBIC CNPq/IMIP 2015.

Bolsista: Paola Alessandra Cherubini Bello

Orientador: Prof. Dr. João Guilherme Bezerra Alves

RECIFE,
AGOSTO, 2016

AVALIAÇÃO DA MICROCIRCULAÇÃO EM GESTANTES OBESAS: UM ESTUDO PILOTO

Autores:

Paola Alessandra Cherubini Bello ¹, Raíla Soares de Assis², Ariadne Celí de Albuquerque Lobo Costa³, Karine Ferreira Agra⁴, João Guilherme Bezerra Alves⁵.

¹ Bolsista de iniciação científica, acadêmica do curso de Medicina da Faculdade Pernambucana de Saúde. e-mail: paabello@gmail.com

² Colaboradora da iniciação científica, acadêmica do curso de Medicina da Faculdade Pernambucana de Saúde. e-mail: raila.soares@gmail.com

³ Colaboradora da iniciação científica, acadêmica do curso de Medicina da Faculdade Pernambucana de Saúde. e-mail: ariadneceli80@gmail.com

⁴ Co-orientadora. Doutoranda em Saúde Materno Infantil, IMIP. e-mail: karine.agra@imip.org.br

⁵ Orientador. Doutor em Medicina, UFPE. e-mail: joaoguilherme@imip.org.br

Instituição: Instituto de Medicina Integral Prof. Fernando Figueira – IMIP.

Fonte de auxílio: Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq).

RESUMO

Objetivo: avaliar a microcirculação de gestantes obesas utilizando de fluxometria por laser-doppler. **Métodos:** foi realizado um estudo piloto, de corte transversal com componente analítico, no Instituto de Medicina Integral Professor Fernando Figueira (IMIP), no período de agosto de 2015 e agosto de 2016. Foram selecionadas mulheres de 18 a 45 anos de idade, grávidas de feto único, com idade gestacional a partir de 14 semanas. Foram excluídas aquelas que apresentavam hipertensão, diabetes ou outras doenças maternas associadas. As gestantes foram submetidas à avaliação através de formulário específico e fluxometria por laser-doppler para avaliação da microcirculação. Os resultados foram analisados utilizando o software *Stata 12.1*. Foi adotado nível de significância $p < 0.05$. Estudo aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa do IMIP. **Resultados:** os grupos foram homogêneos quanto à idade gestacional. As gestantes obesas apresentaram valores de pressão arterial sistólica e diastólica mais elevados que as de peso normal. Os parâmetros de avaliação da microcirculação adotados não apontaram para diferenças significativas entre a microcirculação de gestantes obesas quando comparadas a gestantes de peso normal. **Conclusões:** o presente estudo piloto não identificou alterações na microcirculação de gestantes obesas em comparação à de gestantes de peso normal, através da avaliação utilizando fluxometria por laser-doppler.

Palavras-chave: Gravidez, Obesidade, Microcirculação.

ABSTRACT

Objective: evaluate the microcirculation of obese pregnant women using laser-doppler flowmetry. **Methods:** a pilot cross-sectional study was conducted at Instituto de Medicina Integral Professor Fernando Figueira (IMIP), from August 2015 to August 2016. 18-45 year-old women were selected, pregnant of a single fetus, with 14 or more gestational weeks. Women who had hypertension, diabetes or other maternal diseases were excluded. Participants were submitted to evaluation by specific form and their microcirculation was assessed by laser-doppler flowmetry. The results were analyzed using Stata 12.1 and was accepted $p < 0.05$ as significance level. **Results:** The groups were homogeneous about gestational age. Obese patients had a systolic and diastolic blood pressure values higher than those of normal weight. The evaluation parameters of microcirculation adopted did not point to significant differences between the microcirculation of obese pregnant women compared to normal-weight pregnant women. **Conclusions:** This pilot study did not identify alterations in the microcirculation of obese pregnant women compared to normal weight pregnant women, by laser-doppler flowmetry assessment.

Keywords: Pregnancy, obesity, microcirculation.

INTRODUÇÃO

A Organização Mundial de Saúde (OMS) considera a obesidade como uma epidemia do século XXI, a qual atinge crianças, adolescentes e adultos¹. Segundo dados da OMS, a prevalência de obesidade praticamente dobrou desde o ano de 1980, e o sobrepeso e a obesidade representam o quinto principal fator de risco para morte no mundo².

A obesidade está associada com disfunção metabólica, que aumenta o risco de muitas doenças crônicas não transmissíveis (DCNT), como doença cardiovascular, diabetes mellitus, síndrome metabólica e doença vascular cerebral^{3,4}.

Durante a gestação, o acúmulo de gordura corporal está relacionado a vários desfechos adversos em gestantes obesas, ou seja, aquelas cujo índice de massa corporal (IMC) é maior ou igual a 30 kg/m² ⁵, tem maiores chances de serem acometidas por hipertensão, diabetes gestacional, tromboembolismo, pré-eclâmpsia, problemas articulares devido ao peso excessivo, complicações no parto, prematuridade, entre outros agravos^{6,7,8,9}. Além disso, os filhos de mães obesas apresentam maiores riscos de desenvolverem obesidade e suas comorbidades na vida adulta^{10,11}.

A gestação ocasiona alterações significativas no sistema vascular e hemodinâmico da mulher que são necessárias à sua manutenção. Eventos simultâneos e subsequentes ocorrem levando à diminuição da resistência vascular periférica, aumento de fluxo microvascular no tecido periférico materno e aumento do débito cardíaco, com diminuição na pressão sanguínea ^{12,13}.

No entanto, sabe-se que a obesidade desencadeia um quadro de estresse oxidativo e inflamação vascular, uma vez que provoca o aumento nos níveis de radicais livres reativos e diminui as defesas antioxidantes, provocando danos na vasculatura, podendo levar a disfunção da microcirculação^{14,15}. Neste contexto, o comprometimento

microvascular ocasionado pela obesidade poderia prejudicar as respostas fisiológicas adaptativas à gestação nestas mulheres, fazendo com que não ocorressem com a mesma eficácia que em gestantes de peso normal, justificando a relevância da avaliação da microcirculação neste público alvo.

Para avaliação da microcirculação, dentre as diversas técnicas e equipamentos disponíveis, destaca-se a fluxometria por laser-doppler (FLD), que é um método não invasivo e apresenta resultados acurados. O sinal da FLD é proporcional ao número e velocidade das hemácias circulantes em uma determinada área da pele, sobre a qual está posicionada a sonda do aparelho, e é expresso em unidades de perfusão (PU)¹⁶.

A FLD pode ser utilizada para quantificar o fluxo sanguíneo microcirculatório basal da pele, suas alterações e capacidade de resposta da microcirculação tecidual a estímulos, como, por exemplo, a oclusão arterial e apneias inspiratórias que permitem a análise das respostas microvasculares mediadas pelo óxido nítrico e pelo tônus vascular simpático, respectivamente. Este método foi utilizado em estudos que documentaram alterações na microcirculação de indivíduos obesos, porém a população estudada não era constituída por gestantes^{17,18,19}.

Neste contexto, o presente estudo teve por objetivo estudar a microcirculação em gestantes obesas, com intuito de verificar se há alterações em sua microcirculação periférica que possam ser identificadas através da fluxometria por laser doppler.

MÉTODOS

Realizou-se um estudo observacional de corte transversal com componente analítico, para avaliar a microcirculação de gestantes obesas e compará-la com a microcirculação de gestantes de peso normal, visando averiguar a existência de alterações relacionadas à obesidade.

O estudo foi realizado no Instituto de Medicina Integral Prof. Fernando Figueira (IMIP), no período de agosto de 2015 a agosto de 2016, e teve como população as gestantes obesas e com peso normal atendidas no serviço de pré-natal do Ambulatório da Mulher - IMIP, no qual a amostra foi obtida aleatoriamente.

Foram incluídas mulheres com idade entre 18 e 45 anos, com idade gestacional maior ou igual a 14 semanas, gestação de feto único, obesas (IMC maior ou igual a 30kg/m²) ou, no caso do grupo controle, com peso normal (IMC entre 18,5 e 25,9 kg/m²)²⁰. Aquelas que apresentaram qualquer doença materna como diabetes, síndromes hipertensivas ou sangramento vaginal, foram excluídas do estudo.

As participantes que preencheram os critérios de elegibilidade e aceitaram participar do estudo responderam a um formulário contendo dados de caracterização sociodemográfica, biológica e obstétrica. Em seguida, foram submetidas ao exame para avaliação da microcirculação.

A microcirculação foi avaliada através da técnica de fluxometria por laser-doppler (FLD), com o aparelho *VMS-LDF*[®] (*Moor Instruments, UK*) com duplo canal de fluxo. As sondas cutâneas foram colocadas preferencialmente no membro superior esquerdo, sendo uma na face anterior do antebraço e outra na extremidade do dedo médio.

As pacientes foram orientadas a permanecer sentadas em poltrona reclinável, com os braços apoiados no nível do coração, evitando movimentar-se ou falar durante o

exame. Após a aclimatação ao ambiente da sala, o fluxo sanguíneo foi registrado continuamente por 18 minutos, antes, durante e após a realização dos estímulos provocativos.

A partir do segundo minuto de exame, as gestantes foram instruídas a realizar apneias inspiratórias, na contagem do pesquisador, respirando rapidamente através do nariz e prendendo a respiração por seis segundos, e expirando suavemente em seguida. Isto foi repetido três vezes, com um período de repouso entre cada apneia inspiratória. Tal estímulo permitiu a avaliação da resposta microvascular mediada pelo sistema nervoso simpático (tônus vascular simpático). Foram mensurados o fluxo de repouso, o fluxo durante as apneias (fluxo mínimo) e calculado o percentual de alteração do fluxo em resposta ao referido estímulo.

A partir do quinto minuto de exame foi iniciado o protocolo para avaliação da resposta vascular mediada por óxido nítrico, a hiperemia reativa pós-oclusão (PORH), constituído de um período de repouso de cinco minutos – onde mensurou-se o fluxo de repouso – seguido de oclusão arterial por uma braçadeira específica do módulo *moorVMS-PRES*[®], a uma pressão de 200mmHg, por um período de três minutos. Após a liberação da oclusão seguiram-se mais 5 minutos de exame, nos quais foram mensurados o nível máximo de fluxo e a área de hiperemia, durante a hiperemia reativa pós-oclusão.

Os exames foram gravados e os dados das mensurações foram obtidos utilizando-se o software do fabricante (*Moor Instruments, UK*) e expresso em unidades de perfusão (PU). Todas as avaliações foram realizadas em ambiente tranquilo, com temperatura controlada ($23^{\circ}\pm 1^{\circ}\text{C}$).

As variáveis analisadas para avaliar a microcirculação das gestantes em resposta à oclusão foram: fluxo de repouso (FR1); fluxo sanguíneo máximo (FM), que

corresponde ao máximo valor de fluxo após a oclusão; a razão entre o fluxo máximo e o fluxo de repouso (FM/FR); e a área de hiperemia (AH), que corresponde à área gráfica formada após a PORH. Os dados foram obtidos através da sonda posicionada no antebraço das gestantes.

As variáveis analisadas para avaliar a microcirculação das gestantes em resposta às apneias inspiratórias foram: fluxo de repouso (FR2); média dos valores mínimos de fluxo em resposta às apneias inspiratórias (FMin); e o percentual de alteração da microcirculação em resposta a este estímulo (Fmin%). Os dados foram obtidos através da sonda posicionada no dedo médio das gestantes.

Os exames foram gravados e os dados das mensurações foram obtidos utilizando-se o software do fabricante (*Moor Instruments, UK*) e expressos em unidades de perfusão (PU).

A análise estatística foi realizada utilizando o programa estatístico *Stata 12.1*, adotando nível de significância de 0,05.

Os dados categóricos foram resumidos através de frequências absolutas e relativas. Os dados numéricos foram resumidos através das medidas usuais de localização e dispersão: média e desvio padrão para os que apresentaram distribuição normal, e mediana e intervalo interquartil, para aqueles que não apresentaram.

A análise das variáveis descritivas foi realizada utilizando-se o teste t-student. A comparação das médias dos parâmetros de avaliação da microcirculação foi realizada utilizando-se o Teste de Mann-Whitney.

O estudo está vinculado ao projeto âncora “Efeitos na microcirculação e desfechos perinatais de um programa de exercício físico em gestantes obesas: ensaio clínico randomizado” (*Clinical Trials* U1111-1161-5873), pesquisa do Doutorado em Saúde Materno Infantil (IMIP).

Em virtude de não terem sido encontrados trabalhos com objetivos e metodologia semelhantes ao deste estudo durante a revisão da literatura, permitindo o cálculo amostral, realizou-se o estudo piloto. Portanto, decidiu-se arbitrariamente pela inclusão das 45 gestantes obesas e 20 de peso normal, incluídas no projeto âncora durante o período deste estudo de iniciação científica, para o cálculo amostral. Entre as variáveis de avaliação da microcirculação, foi escolhida a variável FM/FR, para realização do cálculo amostral. Estabeleceu-se a necessidade de uma amostra de 284 gestantes, sendo 142 obesas e 142 de peso normal, para identificação de diferenças entre os grupos avaliados.

O estudo atendeu aos princípios do Conselho Nacional de Saúde para pesquisa em seres humanos. E foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa do IMIP sob CAAE:46937415.2.0000.5201.

RESULTADOS

Os resultados divulgados neste artigo correspondem aos resultados parciais, produto da análise dos dados do estudo piloto, pois o período do programa de iniciação científica foi incompatível com a factibilidade da coleta de dados para inclusão do número de participantes necessárias para uma amostra representativa da população.

A maioria das participantes era procedente de Recife e da região metropolitana e, em ambos os grupos, a escolaridade média foi de aproximadamente doze anos de estudo. A maioria das participantes (91%, n=40, das obesas e 94%, n=18, das de peso normal) não estavam em atividades escolares no período da avaliação.

Todas as participantes negaram alcoolismo, tabagismo ou uso de outras drogas. Quanto as atividades diárias, 64,4% (n=29) das gestantes obesas realizam atividade remunerada, enquanto 58,8% (n=12) das de peso normal afirmaram não trabalhar.

As características biológicas e obstétricas das participantes estão resumidas na tabela 1.

Avaliando-se o peso anterior à gestação, observou-se que 100% (n=20) das gestantes de peso normal eram classificadas da mesma forma, de acordo com seu IMC pré-gestacional. No grupo das gestantes obesas, observou-se que 51,1% (n=23) das participantes já eram acometidas por este problema antes da gestação, entretanto, 35,6% (n=16) do grupo apresentava apenas sobrepeso antes de engravidar. 13,3% (n=6) das gestantes obesas não souberam afirmar seu peso anterior à gestação impossibilitando o cálculo do IMC.

A comparação dos parâmetros de avaliação da microcirculação das gestantes obesas e de peso normal durante o repouso e em resposta aos estímulos de oclusão arterial e apneias inspiratórias encontra-se descritos nas tabelas 2 e 3, respectivamente.

Tabela 1: Características biológicas e obstétricas de gestantes obesas e de peso normal atendidas no pré-natal do IMIP.

	OBESAS	PESO NORMAL	<i>p</i> *
	(n=45)	(n=20)	
	$\bar{X} \pm DP$	$\bar{X} \pm DP$	
Idade (anos)	28,8 (5,1)	23,1 (5,0)	0,0002*
Idade Gestacional (semanas)	18,9 (2,9)	18,8 (2,8)	0,9548
IMC (kg/m ²)	31,6 (7,7)	23,0 (1,5)	0,0000*
PAS (mmHg)	114,6 (9,9)	104,9 (7,6)	0,0003*
PAD (mmHg)	68,9 (6,8)	64,2 (5,1)	0,0100*

IMC: índice de massa corporal. PAS: pressão arterial sistólica. PAD: pressão arterial diastólica.

*Teste *t de student*

Tabela 2: Comparação dos parâmetros de avaliação da microcirculação de gestantes obesas e de peso normal durante o repouso e em resposta à oclusão arterial.

	OBESAS	PESO NORMAL	<i>p</i> *
	(n =45)	(n = 20)	
	Mediana (II)	Mediana (II)	
<i>Sonda 1: Posicionada no antebraço</i>			
Fluxo de repouso (PU)	9,1 (6,6 – 11,6)	8,3 (6,3 – 11,4)	0,6528
Fluxo Máximo (PU)	63,6 (50,3 – 91,4)	60,1 (41,5 – 85,9)	0,3601
FM/FR	7,2 (5,8 – 21,8)	6,5 (4,7 – 7,9)	0,2592
Área de hiperemia	1353,7 (985,3 – 1846,5)	1095,4 (672,4 – 2303,1)	0,6294

II: Intervalo interquartil. PU: unidades de perfusão.

* Teste Mann-Whitney.

Tabela 3: Comparação dos parâmetros de avaliação da microcirculação de gestantes obesas e de peso normal durante o repouso e em resposta à apneia inspiratória.

	OBESAS (n =45)	PESO NORMAL (n = 20)	
	Mediana (II)	Mediana (II)	p*
<i>Sonda 2: Posicionada no dedo médio</i>			
Fluxo de repouso (PU)	283,3 (219,3 – 400,0)	228,8 (138,0 – 333,0)	0,1533
Fluxo Mínimo (PU)	45,4 (36,4 – 67,5)	52,5 (39,5 – 65,4)	0,5647
Resposta à apneia (%)	80,7 (75,4 – 95,2)	71,8 (62,4 – 84,2)	0,0559

II: Intervalo interquartil. PU: unidades de perfusão.

* Teste Mann-Whitney.

DISCUSSÃO

A comparação dos parâmetros de avaliação da microcirculação das gestantes obesas e de peso normal durante o repouso e em resposta aos estímulos de oclusão arterial e apneias inspiratórias não demonstrou diferenças entre os grupos estudados.

O endotélio vascular produz e secreta numerosos compostos que regulam funções fisiológicas, incluindo tônus vasomotor, coagulação, inflamação, a permeabilidade e a adesão celular. Entre outras, o óxido nítrico é considerado como sendo uma das moléculas-chave na manutenção da homeostase vascular normal e é um dos principais contribuintes para a manutenção da função dilatadora adequada das artérias²¹.

Evidências experimentais apontam que a obesidade está associada com redução da biodisponibilidade do óxido nítrico vascular, além de estar associada à produção vascular aumentada de espécies reativas de oxigênio. Foi demonstrado o aumento da produção do ânion superóxido vascular para conduzir a inativação de óxido nítrico endotelial, resultando em uma redução da dilatação dos microvasos.²¹

O excesso de tecido adiposo está associado com um aumento da produção de citocinas inflamatórias, tais como fator de necrose tumoral-alfa (TNF- α), produzindo um estado inflamatório vascular crônico¹².

Considerando as evidências relacionadas à microcirculação de obesos, esperava-se encontrar alterações microvasculares em gestantes obesas ao comparar sua microcirculação tecidual com a de gestantes normais, tanto em repouso, como em resposta a estímulos provocativos dependentes do óxido nítrico, como dependentes do tônus vascular controlado pelo sistema nervoso simpático. Entretanto, não foram observadas diferenças significativas entre os grupos no repouso ou em resposta a estímulos.

Com base nas alterações fisiológicas no sistema cardiovascular e alterações hemorreológicas adaptativas à gestação, que variam desde o aumento do débito cardíaco, hemodiluição, diminuição da resistência vascular periférica e diminuição do hematócrito, assume-se que o fluxo microvascular no tecido periférico materno aumente¹². Desta forma, as alterações vasculares inerentes à gestação podem ter contribuído para amenizar a diferença no fluxo microvascular periférico de gestantes obesas em relação às de peso normal, avaliado pela fluxometria por laser-doppler, dificultando o diagnóstico de danos vasculares causados pela obesidade.

Um estudo transversal com objetivo de estudar os efeitos do índice de massa corporal materno sobre a microcirculação de gestantes, através da avaliação dos microvasos da retina, avaliou 814 participantes e sugeriu que a obesidade tem efeito sobre estas estruturas. No entanto, mostrou que não havia associações significativas entre os ângulos dos ramos dos vasos da retina e atribuiu isto ao fato do estresse acentuado pelo aumento do IMC ter ocorrido por um tempo curto e não ser tão severo a ponto de causar alterações estruturais na microvasculatura retiniana²².

Seguindo este raciocínio, e considerando que 35,6% (n=16) das gestantes obesas avaliadas no presente estudo não sofriam de obesidade previamente a gestação, e ainda, que a média de idade gestacional dos grupos foi de aproximadamente dezoito semanas (p=0,9548), os dados sugerem que é possível que o tempo de exposição às alterações ocasionadas pela obesidade e/ou a gravidade destas alterações não tenham sido suficientes para o estabelecimento de danos vasculares identificáveis através de nossa metodologia. Desta forma, sugerimos que novos estudos sejam realizados incluindo apenas pacientes que apresentassem obesidade anterior à gestação.

Além disso, considerando que a distribuição de gordura desempenha um papel importante no grau de disfunção endotelial, a relação cintura/quadril, um determinante

de obesidade visceral, poderia ser um marcador de disfunção endotelial mais sensível que o IMC por si só e deve ser considerada em estudos futuros.

Chamamos atenção para o fato de que, apesar de não terem sido identificadas alterações microvasculares nas gestantes obesas, os resultados corroboram com as evidências de que a resistência vascular destas mulheres pode estar alterada devido às reações mediadas pela obesidade, uma vez que, embora normotensas, as gestantes obesas apresentaram pressão arterial tanto sistólica como diastólica, mais elevadas que as gestantes de peso normal.

Ressaltamos que o presente estudo apresenta resultados parciais provenientes de um estudo piloto e não se constituindo uma amostra representativa da população suficiente para estabelecer diferenças ou generalizações. Portanto, sugerimos que esta pergunta de pesquisa seja respondida através da realização de pesquisa com amostra adequada, significativa, e com os ajustes metodológicos necessários, identificados e apontados por este estudo de iniciação científica.

CONCLUSÕES

O presente estudo piloto não identificou alterações na microcirculação de gestantes obesas em comparação à de gestantes de peso normal, através da avaliação utilizando fluxometria por laser-doppler.

Acredita-se que as alterações cardiovasculares fisiológicas de adaptação à gestação estejam relacionadas a estes resultados. Além disso, é possível que o tempo de exposição à obesidade possa ter influência sobre a manifestação ou não de danos vasculares nestas mulheres.

Desta forma, sugere-se a realização de novos estudos, com os ajustes metodológicos necessários para melhor resposta desta pergunta de pesquisa.

REFERÊNCIAS

1. World Health Organization. The Impact of Chronic Disease in Brazil. 2005 [acesso em: 19 mar. 2015]. Disponível em: www.who.int/chp/chronic_disease_report/en/.
2. World Health Organization. Obesity. 2014 [acesso em: 19 mar. 2015]. Disponível em: www.who.int/topics/obesity/en/.
3. de Ferranti S, Mozaffarian D. The perfect storm: obesity, adipocyte dysfunction, and metabolic consequences. *Clin Chem*. 2008;54:945-55.
4. Park MH, Falconer C, Viner RM, Kinra S. The impact of childhood obesity on morbidity and mortality in adulthood: a systematic review. *Obes Rev*. 2012;13:985-1000.
5. Obesity in pregnancy. Committee Opinion No. 549. American College of Obstetricians and Gynecologists. *ObstetGynecol* 2013;121;213–7.
6. Yu CKH, Teoh TG, Robinson S. Obesity in pregnancy. *BJOG*. 2006;113: 1117–1125.
7. Chu SY, Callaghan WM, Kim SY, Schmid CH, Lau J, England LJ, Dietz PM. Maternal obesity and risk of gestational diabetes mellitus. *Diabetes Care*. 2007;30:2070–6.
8. Anderson NH, McCowan LME, Fyfe EM, Chan EHY, Taylor RS, Stewart AW, Dekker GA, North RA, SCOPE Consortium. The impact of maternal body mass index on the phenotype of pre-eclampsia: a prospective cohort study. *BJOG*. 2012; 119(5): 589-95.
9. UshaKiran TS, Hemmadi S, Bethel J, Evans J. Outcome of pregnancy in a woman with an increased body mass index. *BJOG*. 2005;112:768–72.
10. Poston L, Harthoorn LF, van der Beek EM. Obesity in pregnancy: implications for the mother and lifelong health of the child. A consensus statement. *Pediatr Res*. 2011;69:175–80.

11. O'Reilly JR, Reynolds RM. The risk of maternal obesity to the long-term health of the offspring. *ClinEndocrinol (Oxf)*. 2013;78:9-16.
12. Abdo I, George RB, Farrag M, Cerny V, Lehmann C. Microcirculation in Pregnancy. *Physiol Res*. 2014; 63:395-408.
13. Nicolau LG, Martins WP, Ferreira AC, Gallarreta FMP, Lima JC, Barra DA, Mauad FM, Filho FM. Avaliação da dilatação máxima da artéria braquial em gestantes e não gestantes, fumantes e não fumantes. *Radiol Bras*. 2010;43(2):85–89.
14. Poston L, Igosheva N, Mistry HD, Seed PT, Shennan AH, Rana S, Karumanchi SA, Chappell LC. Role of oxidative stress and antioxidant supplementation in pregnancy disorders. *Am J Clin Nutr*. 2011;94:1980S-85S.
15. Roberts VH, Smith J, McLea SA, Heizer AB, Richardson JL, Myatt L. Effect of increasing maternal body mass index on oxidative and nitrative stress in the human placenta. *Placenta*. 2009;30:169-75.
16. Roustit M, Cracowski JL. Non-invasive assessment of skin microvascular function in humans: an insight into methods. *Microcirculation*. 2012;19:47-64.
17. Clough G, Chipperfield AC, Mul F, Gush R. Evaluation of a new high power, wide separation laser doppler probe: potential measurement of deeper tissue blood flow. *Microvasc Res*. 2009;78:155-61.
18. Wellhöner P, Rolle D, Lönnroth P, Strindberg L, Elam M, Dodt C. Laser-Doppler flowmetry reveals rapid perfusion changes in adipose tissue of lean and obese females. *Am J PhysiolEndocrinolMetab*. 2006;291:E1025-30.
19. Rossi M, Nannipieri M, Anselmino M, Pesce M, Muscelli E, Santoro G, Ferrannini E. Skin vasodilator function and vasomotion in patients with morbid obesity: effects of gastric bypass surgery. *Obes Surg*. 2011;21:87-94.

20. Institute of Medicine. Weight gain during pregnancy: reexamining the guidelines. Washington, DC: National Academies Press; 2009
21. Bagi Z, Feher A, Cassuto J. Microvascular responsiveness in obesity: implications for therapeutic intervention. *Br J Pharmacol.* 2012 Feb; 165(3): 544–560.
22. Li LJ, Ikram MK, Cheung CY, Lee YS, Lee LJ, Gluckman P, Godfrey KM, Chong YS, Kwek K, Wong TY, Saw SM. Effect of maternal body mass index on the retinal microvasculature in pregnancy. *Obstet Gynecol.* 2012 Sep;120(3):627-35.