
5. ESTUDO CITOGENÉTICO PRÉ-NATAL

Nas duas últimas décadas, observamos grande desenvolvimento nas ciências biomédicas, notadamente na Genética Médica. Com o aprimoramento de técnicas obstétricas de coleta de material fetal para estudo citogenético, e a precisão em sua análise laboratorial, parece-nos óbvio que todos os fetos de "*alto-risco*" para alterações de cariótipo (aneuploidias), devam ser investigados citogeneticamente.

Didaticamente, num primeiro instante, podemos dividir todas as gestantes em dois grandes grupos:

1. Gestantes de "*baixo-risco*" para apresentarem fetos com anomalias citogenéticas (fetos de baixo-risco).
2. Gestantes de "*alto-risco*" para apresentarem fetos com anomalias citogenéticas (fetos de alto-risco).

5.1. Testes Não-Invasivos (Marcadores não-invasivos de risco de aneuploidia fetal)

Gestantes de "*baixo-risco*" (fetos de baixo risco)

Neste grupo encontram-se as gestantes que a princípio, não possuem nenhum fator que possa aumentar sua probabilidade de vir a ter um feto com cariótipo anormal. O risco do conceito apresentar alguma cromosomopatia é igual ao da população em geral. Portanto, fora a ansiedade do casal que deve ser avaliada pontualmente, não teríamos indicação formal para o estudo citogenético fetal através de métodos invasivos (*biopsia de vilo corial, amniocentese e cordocentese*).

Por se tratar de grupo não isento de apresentar cariopatia fetal, à semelhança dos países do primeiro mundo, propomos de maneira universal a realização de **testes não-invasivos** (*marcadores não-invasivos*) nestes fetos de baixo-risco, através de métodos biofísicos e / ou bioquímicos, feitos entre *11 e 20 semanas* de gestação (preferencialmente entre *11 e 13 semanas* de gestação).

Importante salientar que estes marcadores não-invasivos de aneuploidia fetal, funcionam somente como *rastreadores*, ou seja, são capazes de identificar no grupo de *baixo-risco*, aqueles fetos que merecem investigação adicional mais precisa, portanto diagnóstica, realizada através de procedimentos invasivos que visam o estabelecimento do cariótipo fetal.

De maneira geral, *marcador não-invasivo anormal*, indica risco aumentado para aneuploidia fetal, notadamente as trissomias.

5.1.1. Marcadores Biofísicos

Translucência Nucal (TN)

Trata-se da representação ultra-sonográfica de acúmulo anormal de líquido na região nucal fetal durante o primeiro trimestre da gestação (figura 1). Usualmente regride durante o segundo trimestre, mas quando persiste pode evoluir para edema nucal ou higroma cístico. A fisiopatologia da translucência nucal anormal (aumentada) pode ter como possíveis mecanismos: insuficiência cardíaca associada a anomalias do coração e grandes vasos, congestão venosa na cabeça e pescoço, anormalidade ou atraso no desenvolvimento do sistema linfático, falha na drenagem linfática, anemia fetal ou hipoproteinemia, infecção congênita e composição alterada da matriz extracelular.

A presença de TN anormal (figura 2), está associada a risco aumentado de aneuploidia fetal, notadamente a Síndrome de Down (tabela 1).

É importante salientar que uma TN alterada, também está associada a outras patologias fetais, como, por exemplo, displasias ósseas e principalmente cardiopatia fetal, sendo inclusive indicação formal para a realização de ecocardiografia fetal.

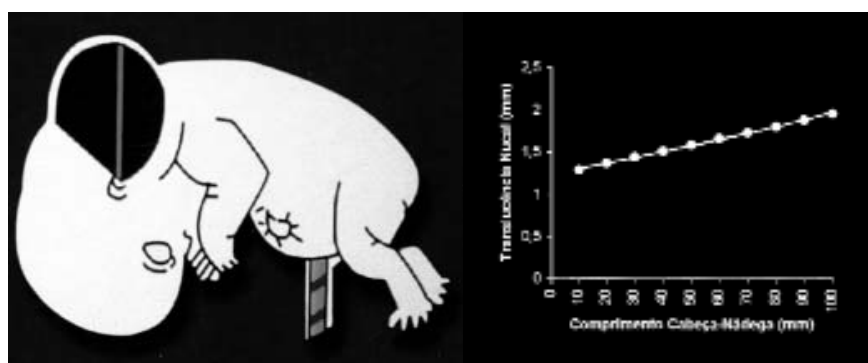


Figura 1 - Representação esquemática de uma TN alterada. Iconografia do Centro de Medicina Fetal do Rio de Janeiro



Figura 2 - Exame ultra-sonográfico mostrando uma TN anormal (> 2,5 mm)

TRANSLUCÊNCIA NUCAL	
Técnica	USG Transvaginal ou Transabdominal
Oportunidade do exame (preferencial)	11 a 13 semanas
CCN (adequado)	45 a 84 mm
Normal	< 2,5 mm
Sensibilidade (rastreamento de aneuploidias)	70 a 80%

Tabela 1 - Informações gerais a respeito da translucência nucal

Osso Nasal

Uma das características mais evidentes na Síndrome de Down é o osso do nariz pequeno, aparentemente achatado, sinal que aparece devido a hipoplasia ou ausência daquele osso.

Após a publicação do trabalho do Prof. K. Nicoloides et al, do King's College de Londres em 2001, onde correlacionam a ausência ou hipoplasia do osso nasal com a síndrome de Down e outras cromossomopatias, passamos a utilizar este marcador no exame rotineiro do primeiro trimestre da gestação, ocasião em que medimos a translucência nucal e insominamos o ducto venoso com o intuito de avaliar risco para aneuploidias.

A vantagem deste marcador em relação aos outros utilizados no 1º trimestre é que ele pode ser avaliado durante o segundo e o terceiro trimestres, visto que se trata de uma malformação estrutural, permanecendo portanto por toda a gestação.

O plano de aquisição da imagem para observar o osso nasal é o mesmo tecnicamente utilizado na medida da translucência nucal e do comprimento cabeça-nádegas (figura 3).

No exame ultra-sonográfico entre 11 e 14 semanas de gestação, o osso nasal não é visualizado em cerca de 60-70% dos fetos com trissomia 21 (figura 4), e em menos de 1% nos fetos cromossomicamente normais. Na pesquisa da incidência de ausência de osso nasal devemos observar as características raciais, sendo que é substancialmente mais alta em Afro-Caribenhos que em Caucasionos.



Figura 3 - Presença de osso nasal (setas)



Figura 4 - Ausência de osso nasal (seta) em feto com Síndrome de Down

PESQUISA DO OSSO NASAL	
Técnica	USG Transvaginal
Oportunidade do exame (preferencial)	11 a 13 semanas
Normal	presença do osso nasal
Anormal	ausência ou hipoplasia
Sensibilidade (rastreamento de aneuploidias)	60 a 70 %

Tabela 2 - Informações gerais a respeito da do osso nasal

Doppler-Colorido do Ducto Venoso (DCDV)

O ducto venoso é um shunt fisiológico entre a veia umbilical intra-hepática e a veia cava inferior, fazendo com que aproximadamente 50% do sangue bem oxigenado oriundo da veia umbilical, devido à sua diferença de velocidade (três vezes superior ao da veia cava), passe diretamente ao átrio direito, e através do forame oval alcance as câmaras esquerdas do coração, para oxigenar áreas nobres como o miocárdio e cérebro fetal (fluxo preferencial).

No sonograma-doppler do ducto venoso normal, observam-se dois "picos": o primeiro corresponde à sístole ventricular, associado ao relaxamento atrial; o segundo corresponde à diástole ventricular, período de enchimento passivo do ventrículo, que se segue por um segmento da onda representada pelo ponto A positivo, que se associa à fase de enchimento ventricular ativo ou contração atrial (*onda A*) (figura 5).



Figura 5 -
Sonograma-doppler de
Ducto Venoso normal. S: sístole ventricular;
D: diástole ventricular.
A: contração atrial

Como o forame oval está fechado durante a contração atrial, a este tempo o fluxo no ducto venoso vai refletir o gradiente entre o átrio e o ventrículo direitos. Desta forma, alterações na hemodinâmica fetal manifestada por aumento da pressão venosa central, associada à falência cardíaca, podem ser precedidas por alterações na velocidade de fluxo do ducto venoso, característica que pode ser usada para seu diagnóstico.

Baseados em alguns trabalhos da literatura passamos a utilizar a dopplerfluxometria colorida de ducto venoso no primeiro trimestre da gestação como rastreador de cromossomopatias e defeitos cardíacos maiores. Estima-se que 40 a 50% dos fetos portadores de trissomia do cromossomo 21 (Síndrome de Down) e 90% dos fetos com trissomia do cromossomo 18 (Síndrome de Edwards), possuem algum tipo de cardiopatia, e provavelmente a disfunção cardíaca nestes pacientes seria a responsável pela onda velocimétrica alterada no ducto venoso.

Consideramos o sonograma-doppler do ducto venoso anormal, portanto presença de risco para aneuploidia fetal, quando observamos ausência de onda A, ou quando esta é reversa (figura 6 e 7).

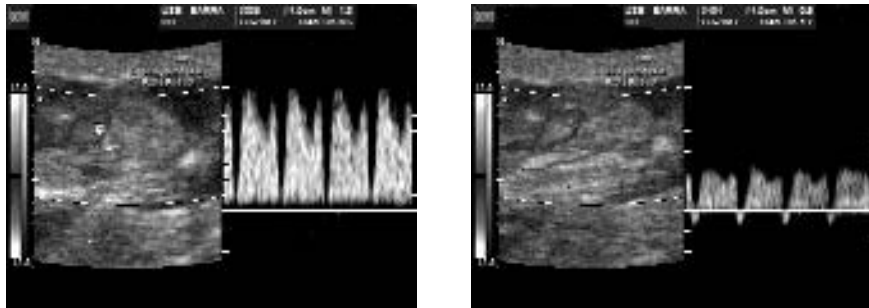


Figura 6 - Sonograma-doppler anormal do Ducto Venoso. Onda A ausente ou reversa

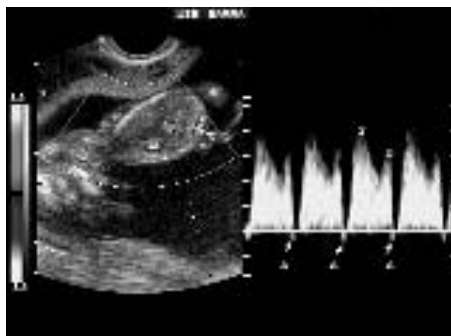


Figura 7 - Sonograma-doppler anormal do Ducto Venoso. Onda A reversa

DOPPLER-COLORIDO DO DUCTO VENOSO	
Técnica	USG Transvaginal com Doppler Colorido
Oportunidade do exame (preferencial)	11 a 13 semanas
Normal	fluxo unidirecional com onda A contínua
Anormal	onda A ausente ou reversa
Sensibilidade (rastreamento de aneuploidias)	90 %

Tabela 3 - Informações gerais a respeito do Doppler do Ducto Venoso

Doppler-Colorido da Artéria Umbilical (DCAU)

Durante o primeiro trimestre da gestação, a presença de diástole Zero no sonograma-doppler da artéria umbilical, faz parte de processo fisiológico normal, devido fundamentalmente a alta resistência do sistema viloso terciário.

A presença de *Diástole Reversa* (DR) no sonograma-doppler da artéria umbilical em gestação de primeiro trimestre é achado anormal, correlacionando-se com risco aumentado de aneuploidia fetal (figura 8 e tabela 4).

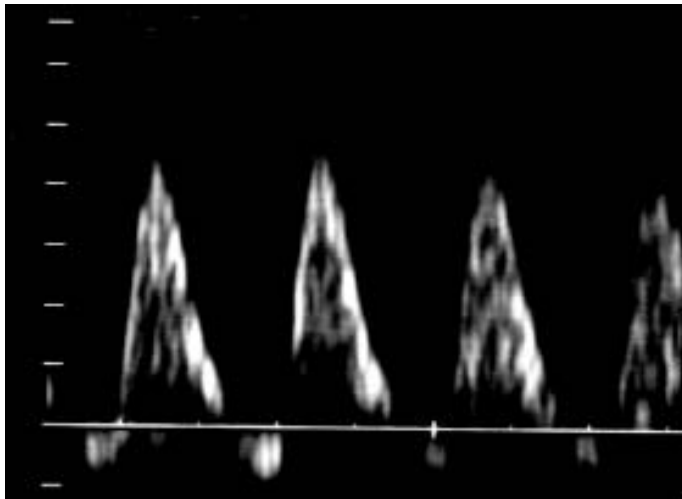


Figura 8 - Sonograma-doppler anormal da Artéria Umbilical em gestação de primeiro trimestre. Presença de diástole reversa

DOPPLER-COLORIDO DE ARTÉRIA UMBILICAL	
Técnica	USG Transvaginal com Doppler Colorido
Oportunidade do exame (preferencial)	11 a 13 semanas
Normal	fluxo diastólico presente ou zero
Anormal	fluxo diastólico reverso
Sensibilidade (rastreamento de aneuploidias)	60 %

Tabela 4 - Informações gerais a respeito do Doppler da Artéria Umbilical

5.1.2. Marcadores Bioquímicos

São determinadas substâncias presentes no soro materno, que podem ser dosadas, nos dando uma idéia do risco fetal para algumas aneuploidias (tabela 5). Para uma perfeita interpretação do risco fetal, esta dosagem deverá ser realizada por grupos experientes, que possuam curvas próprias de normalidade, que utilizem fatores de correção que levem em conta principalmente a raça da paciente e o número de fetos, assim como a idade gestacional correta.

Os marcadores bioquímicos poderão ser utilizados isoladamente, ou de forma combinada, sendo esta a nossa recomendação, pois aumenta a sensibilidade do método, diminuindo também a taxa de falsos positivos.

Bioquímicos de primeiro trimestre (soro materno)	ANORMAL
PAPP-A	diminuído
β hCG livre	aumentado
Bioquímicos de segundo trimestre (soro materno)	ANORMAL
Alfa-fetoproteína	< 0,8 MoM
β hCG	> 2 DP
Estriol	< 2 DP

Tabela 5- Marcadores Bioquímicos mais utilizados para rastreamento fetal de Aneuploidias.
MoM = múltiplo da mediana. DP = desvio padrão

Beta- hCG livre no soro materno

Após a 10a semana e com a evolução da gestação, normalmente a concentração sérica materna de β -hCG livre diminui, porém em muitos fetos com trissomia do cromossomo 21, os níveis séricos estão aumentados em relação às gestações de fetos normais. Estudos em gestações afetadas, mostraram que a sensibilidade deste rastreador bioquímico isolado (somente a fração livre do β -hCG) foi de 35% para a Síndrome de Down, com uma taxa de falso positivo de 5%.

PAPP-A (proteína plasmática A associada à gravidez)

Vários estudos mostraram que os níveis séricos de PAPP-A em gestações com fetos portadores de trissomia do 21 estão mais baixos quando comparados às gestações com fetos normais, mostrando portanto tratar-se de método útil no rastreamento desta patologia. Spencer *et al.* (1999), em estudo que envolveu 210 gestações com trissomia do 21, examinadas entre 10 e 14 semanas, obteve uma sensibilidade de aproximadamente 40% para uma taxa de falso positivo de 5%, quando utilizou a dosagem isolada do PAPP-A.

Beta-hCG livre associado ao PAPP-A

Ao associarmos os dois marcadores bioquímicos séricos maternos mais importantes do primeiro trimestre, estima-se que a taxa de detecção para trissomia do cromossomo 21 seja de aproximadamente 60%. Se a esses dois marcadores bioquímicos de primeiro trimestre associarmos a medida da translucência nugal, teremos uma taxa de detecção de aproximadamente 80 %.

Acreditamos que a associação de dois ou mais testes de rastreamento (*biofísicos e bioquímicos*) parece ser a conduta mais acertada no intuito de aumentar a nossa sensibilidade e diminuir os casos de falsos positivos (tabela 6).

MARCADORES NÃO-INVASIVOS MAIS UTILIZADOS	
Primeiro Trimestre da Gestação (mais indicado pela precocidade)	
Biofísicos	anormal
Medida da Translucência Nucal	≥ 2,5 mm
Fluxo de Ducto Venoso	onda A ausente ou reversa
Doppler-Colorido da Artéria Umbilical	diástole reversa
Bioquímicos	anormal
PAPP-A	diminuído
β hCG livre	aumentado
Teste Combinado Bioquímico & Ultra-sonográfico	
Medida da Translucência Nucal	
Dosagem materna de PAPP-A	
Dosagem materna de β hCG livre	
Segundo Trimestre da Gestação (mais tardio e menos utilizado)	
Métodos Bioquímicos	anormal
Alfafetoproteína	< 0,8
β hCG	> 2 DP
Estriol	< 2 DP
Métodos Biofísicos	anormal
Medida da prega cutânea occipital (PCO)	> 5 mm
Medida isolada do úmero	< 2 DP
Índice do diâmetro biparietal / fêmur	> 1,5 DP

Tabela 6 - Súmula dos marcadores não-invasivos mais utilizados para rastreamento fetal de aneuploidias. MoM = múltiplo da mediana. DP = desvio padrão

5.2. Testes Invasivos (Testes invasivos diagnósticos)

Em 1909, após análise de 350 casos, Shuttleworth relatou a associação entre Síndrome de Down e idade materna (tabela 7). Sabemos que aproximadamente 30% dos recém-nascidos com trissomia do cromossomo 21 são oriundos de gestantes ditas de *alto-risco*, quando esta-

belecemos como ponto de corte a idade de 35 anos. Estas gestantes com idade igual ou superior a 35 anos projetadas para o momento do parto, estariam portanto automaticamente situadas entre as que necessitariam de investigação citogenética por procedimentos invasivos.

RISCO PARA SÍNDROME DE DOWN BASEADO NA IDADE MATERNA E IDADE GESTACIONAL		
Idade materna	11 - 13 semanas	ao nascimento
20	1/898	1/1527
25	1/795	1/1352
30	1/526	1/895
32	1/388	1/659
34	1/262	1/446
36	1/165	1/280
38	1/98	1/167
40	1/57	1/97
42	1/32	1/55
44	1/18	1/30

Tabela 7 - Correlação entre a idade materna e o risco da Síndrome de Down

Gestantes de "alto-risco" (fetos de alto risco)

Este grupo é composto por gestantes que possuem algum fator que aumente a sua probabilidade de virem a ter um filho com o cariótipo anormal. Por apresentarem risco aumentado de cromossomopatia fetal, a feitura de exames invasivos para o estabelecimento do cariótipo se torna compulsória (tabela 8).

PRINCIPAIS INDICAÇÕES PARA O ESTABELECIMENTO DO CARIÓTIPO FETAL
Idade materna avançada (≥ 35 anos)
História pregressa ou familiar positiva
Pais portadores de translocação do tipo balanceada
Malformação fetal rastreada pela ultra-sonografia
Hidropisia fetal não-imune
Crescimento intra-uterino restrito (CIUR precoce e grave)
Marcadores não invasivos de cariopatia fetal positivos
Ansiedade do casal (casos <i>individualizados, indicação relativa</i>)

Procedimentos Invasivos Diagnósticos

Para a coleta de material fetal visando o estabelecimento do seu cariótipo, atualmente dispomos de inúmeras técnicas, que permitem a obtenção de material de boa qualidade, sendo procedimentos de baixo risco e de elevada precisão diagnóstica. As técnicas mais utilizadas são: a *biopsia de vilosidades coriônicas* (tabela 9), a *amniocentese* (tabela 10) e a *cordocentese* (tabela 11).

BIOPSIA DE VILO CORIAL	
Oportunidade do exame	10 a 13 semanas
Resultado	1 semana
Risco (abortamento)	0,5 %
Peseudo-mosaicismo	1,0 %

Tabela 9 - Referências básicas da Biopsia de Vilo Corial

AMNIOCENTESE	
Oportunidade do exame	a partir de 15 semanas
Resultado	2 semanas
Risco (abortamento)	0,4 %

Tabela 10 - Referências básicas da Amniocentese

CORDOCENTESE	
Oportunidade do exame	≥ 18 semanas
Resultado	< 1 semana
Risco (perda fetal)	0,8 %

Tabela 11 - Referências básicas da Cordocentese

Vale lembrar que, nas gestantes Rh negativo, a administração de imunoglobulina anti-Rh é mandatória após qualquer procedimento invasivo.

A seguir apresentamos nosso protocolo de acompanhamento das gestantes de "baixo-risco" e "alto-risco", para aconselhamento citogenético pré-natal (figura 9).

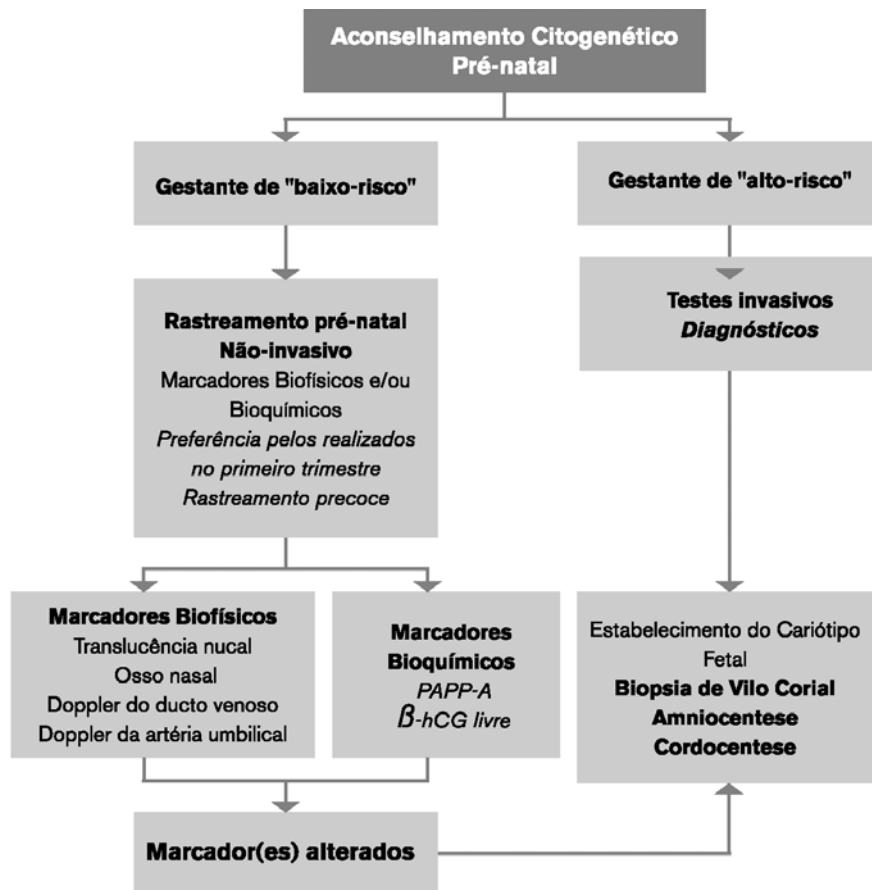


Figura 9 - Protocolo de acompanhamento citogenético pré-natal