

CENTRO UNIVERSITÁRIO DE BRASÍLIA
FACULDADE DE CIÊNCIAS DA EDUCAÇÃO E SAÚDE
GRADUAÇÃO EM BIOMEDICINA

ANDRESSA ALVES VIEIRA

SAÚDE MATERNO-FETAL E TÉCNICAS DE DIAGNÓSTICO

Trabalho de conclusão de curso no formato de artigo científico ao UniCEUB sob orientação da Professora Doutora Fernanda Costa Vinhaes de Lima.

Brasília
2016

AGRADECIMENTOS

Meus sinceros agradecimentos a todos que de alguma forma contribuíram para que o amadurecimento e engrandecimento deste trabalho fosse possível:

À Deus por me permitir acreditar sempre no meu potencial e estar presente continuamente me fortalecendo;

À minha orientadora, Fernanda Vinhaes, pela ajuda, disponibilidade e orientação;

Aos meus pais, Déa e Marcos, que me apoiaram nesses três anos de faculdade para realização do meu desejo em ser biomédica sem medir esforços para realizá-lo;

À minha irmã que por mais difícil que seja nossa relação sempre esteve disposta a contribuir para o meu aprendizado;

À minha afilhada, Maria Eduarda, por entender a minha ausência durante este período e por ter me transformado em alguém melhor;

Às minhas avós, Déa e Glória, por me ensinarem a ser uma pessoa curiosa e sempre procura ir além;

Aos meus professores de biomedicina por terem me acrescido academicamente;

Aos meus amigos e colegas por me darem forças e estarem sempre dispostos a colaborar;

À Helena pela perseverança em me fazer seguir meu sonho e pelo ombro amigo em cada momento de angústia;

À Gabriela pelo companheirismo nestes anos de amizade;

À Jessica pela paciência, alegrias, dores e caronas compartilhadas;

E a todos que contribuíram e desejaram esta minha conquista.

SAÚDE MATERNO-FETAL E TÉCNICAS DE DIAGNÓSTICO

ANDRESSA ALVES VIEIRA *

FERNANDA COSTA VINHAES DE LIMA **

Resumo

A utilização do diagnóstico pré-natal é essencial para avaliação e manutenção da saúde materno-fetal. Essa assistência verifica o desenvolvimento do feto e analisa fatores como medidas, sexo e condições anômalas. O presente trabalho tem como objetivo apresentar técnicas de diagnóstico pré-natal para garantir a saúde materno-fetal. Trata-se de uma revisão bibliográfica que apresenta as técnicas mais realizadas. Primeiramente, os exames não invasivos são realizados na rotina da gestante por apresentarem baixo risco de complicação. Utiliza-se ultrassonografia e triagem bioquímica no sangue materno. A presença de alto risco para o aparecimento de anormalidades é sugestiva de teste invasivo, como biópsia das vilosidades coriônicas, amniocentese, cordocentese e fetoscopia. Atualmente, exames biomoleculares têm demonstrado uma capacidade impressionante para detecção precoce de doenças materno-fetais, tornando-os preferíveis por não serem invasivos, apresentarem menor risco de complicações, maior especificidade e sensibilidade. Dessa forma, o acompanhamento pré-natal torna-se estratégico para diminuir os índices de morbimortalidade dos recém-nascidos.

Palavras-chave: Técnicas invasivas. Técnicas não invasivas. Técnicas moleculares. Sexagem fetal.

MATERNAL-FETAL HEALTH AND DIAGNOSIS TECHNIQUES

Abstract

The use of pre-natal diagnosis is essential to evaluation and maintenance of maternal-fetal health. Such assistance checks fetus development and analyzes factors such as measures, gender and anomalous conditions. This work aims to present prenatal diagnosis techniques to ensure maternal-fetal health. The objective of this article is to review and present the most commonly used techniques. Firstly, non-invasive tests are performed in the pregnant woman's routine for presenting low risk of complication. It's used ultrasonography and biochemical screening in maternal blood. The presence of high risk for the emergence of abnormalities is suggestive of invasive testing such as chorionic villus biopsy, amniocentesis, cordocentesis and fetoscopy. Nowadays, biomolecular exams have shown an impressive capacity for early detection of maternal-fetal diseases, making them preferred for not being invasive, presenting a lower risk of complications, increased specificity and sensitivity. In this way, the prenatal care is strategic to reduce the morbidity and mortality rates of newborns.

Keywords: Invasive techniques. Non-invasive techniques. Molecular techniques. Fetal sexing.

1. INTRODUÇÃO

A assistência pré-natal se tornou parte da rotina diária de uma gestante ao nível das políticas governamentais por ser uma promoção de saúde de atendimento básico. Por meio desta assistência, os níveis de mortalidade têm apresentado um leve decréscimo no Brasil (MORAIS; FILHO, 2000). Realizar exames de pré-natal durante a gravidez é essencial, pois eles são importantes para verificar a saúde da criança que está sendo formada, além de verificar o sexo, medidas e condições anômalas (BRASIL, 2015).

Na década de 60 houve o início do diagnóstico pré-natal, quando os cientistas descobriram que era possível realizar a análise da constituição cromossômica fetal por meio de células que se encontravam no líquido amniótico. A partir desse fato foram percebidos fatores, como idade materna avançada, que contribuíam para o aparecimento de síndromes e malformações. O diagnóstico pré-natal é utilizado para se detectar ainda na vida intrauterina enfermidades que antes só eram diagnosticadas após o nascimento (BOYD et al., 2012; MACHADO; HEINRICH-MUÇOUÇA; BARINI, 2012).

Os testes pré-natais são divididos em duas categorias. A primeira é conhecida como triagem pré-natal que faz parte da rotina de toda mulher grávida. Esta determina qual o risco do feto possuir alguma doença em específico. Se, por exemplo, o feto apresentar um alto risco, a futura mãe é encaminhada para o diagnóstico pré-natal em si que é capaz de oferecer um diagnóstico definitivo (WRIGHT et al., 2012).

O diagnóstico fetal é separado em testes invasivos e não invasivos. Esses testes são essenciais para informar aos pais se há algum defeito genético ou congênito no feto. Este diagnóstico permite verificar o risco e, em alguns casos, interromper a gravidez se sua continuação oferecer risco de morte a mãe por exemplo. Se for provado que o feto está saudável, pode amenizar e aliviar casais que possuem um alto risco de apresentarem filhos com alguma doença. Já em casos positivos, os médicos podem planejar e proporcionar ao neonato uma equipe especializada e o melhor tratamento desde o seu nascimento, caso não seja possível realizar um tratamento pré-natal (NUSSBAUM; MCINNES; WILLARD, 2008).

Deve haver um acompanhamento sistemático no período da gravidez, obedecendo o plano de pré-natal, para se verificar a evolução do paciente para que se consiga realizar uma assistência contínua, garantindo dessa forma uma manutenção da saúde do enfermo e também do serviço (MORON, 2003).

Os testes invasivos são realizados por meio da coleta de material que surge a partir da gravidez, como líquido amniótico. Para a realização destes testes são necessárias indicações, sendo a principal a idade materna avançada. Outras condições que levam a um teste invasivo

são: histórico familiar de distúrbio genético, filho anterior com defeito genético, principalmente, aneuploidia cromossômica, um dos pais com anomalia cromossômica estrutural, histórico familiar de distúrbio genético ligado ao sexo e risco de defeito no tubo neural. As provas invasivas são amniocentese, punção das vilosidades coriônicas, coriocentese e fetoscopia (NUSSBAUM; MCINNES; WILLARD, 2008).

Os testes não invasivos são utilizados em gravidezes de baixo risco e indicados em todas as gestações nos dias de hoje. Foi demonstrado que no sangue materno há presença de células fetais livres que são capazes de atravessar a barreira placentária. Dessa forma, uma simples coleta de sangue da paciente pode ser caracterizada como um teste de pré-natal não invasivo (LO et al., 2010). Outro teste é a dosagem de alfa-fetoproteína em que o aumento no soro materno é indicativo de defeito no tubo neural (BAND et al., 1977). O teste triplo, também realizado no soro da mãe, apresenta três marcadores: gonadotrofina coriônica humana, estriol não conjugado e alfa-fetoproteína. É capaz de detectar síndromes como as trissomias do cromossomo 21 e do 18. A positividade do teste não indica presença de defeito cromossômico, mas é um fator para serem realizados testes adicionais para verificação do cariótipo do feto (REYNOLDS, 2010).

A ultrassonografia foi o grande avanço tecnológico das últimas décadas para a medicina fetal. É um teste não invasivo que faz parte da rotina pré-natal da gestante. Ele verifica a idade fetal, realiza medidas do feto, observa gestações múltiplas e é capaz de detectar aberrações morfológicas (MORON, 2003; BRUNS et al., 2015).

Todos esses exames apresentam um objetivo: detectar a saúde fetal e seu desenvolvimento. Realizam-se esses testes a procura de anomalias congênitas e genéticas capazes de causar problemas funcionais e estruturais que possam afetar a qualidade de vida do neonato (MACHADO; HEINRICH-MUÇOUÇA; BARINI, 2012). Segundo a Organização Mundial de Saúde (WHO, 1999), a prevalência de doenças genéticas e malformações é de aproximadamente 2-3% entre todos os nascidos vivos, variando de acordo com a etnia, sociedade, economia e características da população. Nos países da América Latina, as anormalidades congênitas tem sido a terceira ou quarta causa de mortalidade (PAHO, 1998). Por isso a realização do diagnóstico pré-natal se torna inegavelmente importante para diminuição desta mortalidade (ANVERSA et al., 2012).

Essas anormalidades fetais apresentam grande relação com genética, podendo incluir também fatores ambientais. Os testes diagnósticos são eficazes na detecção de diversas alterações no cariótipo, sendo a citogenética essencial para positivar estas provas (BUG; SCHMITZ; NEVINNY-STICKEL-HINZPETER, 2014).

A evolução das técnicas de diagnóstico tem mostrado que a tecnologia caminha junto com o diagnóstico pré-natal. A utilização de técnicas de biologia molecular demonstra uma precisão diagnóstica que outras técnicas não conseguem trazer, levando a um benefício ao fazer o mapeamento genético e facilitando o diagnóstico de doenças, como talassemia, fibrose cística e outras enfermidades de alterações gênicas. Essas técnicas permitem o rastreamento das anomalias cromossômicas por meio do sequenciamento genômico humano. A hibridização *in situ* por fluorescência (FISH), por exemplo, é a técnica molecular mais propagada. Ela é empregada na citogenética molecular para detecção de cromossomopatias (JÚNIOR, 2002).

A citogenética convencional e as técnicas de biologia molecular conseguem um diagnóstico fetal mais rápido e eficaz por apresentarem a capacidade de correlacionar o genótipo e o fenótipo, conseguindo alcançar amostras fetais mínimas que possam apresentar uma “instabilidade genômica” (VISSERS et al., 2005).

Segundo Barini e colaboradores (2002), as técnicas para diagnóstico vêm sendo aprimoradas para conseguirem reconhecimento de defeitos nos cromossomos fetais por meio de técnicas não invasivas. Provas no soro materno, por meio de dosagens bioquímicas e a utilização de ultrassonografia têm sido muito utilizadas por apresentarem risco mínimo para a mãe e para o feto. A tecnologia relacionada a exames ultrassonográficos tem detectado anormalidades estruturais mais eficazmente até em gestações de baixo risco, por isso ela vem sendo utilizada na rotina de pré-natal.

O presente trabalho teve como objetivo apresentar técnicas de diagnóstico pré-natal, demonstrando como novas ferramentas têm contribuído para a garantia da saúde materno-fetal, por meio de procedimentos mais eficazes e prévios.

2. METODOLOGIA

Trata-se de uma revisão bibliográfica do formato narrativa, que segundo Cordeiro e colaboradores (2007), é um estudo que apresenta uma busca de artigos aleatória. Este tipo de revisão apresenta uma temática mais aberta do que quando comparada a revisão sistemática. Não possui uma questão específica bem definida e seu protocolo de preparação não é rígido.

O levantamento de artigos foi realizado nas bases bibliográficas, EBSCO, Scielo e PubMed, e em livros acadêmicos disponíveis na biblioteca do UniCEUB. As palavras chave utilizadas para procura foram: “diagnóstico pré-natal”; “técnicas pré-natal”; “exame invasivo”; “exame não invasivo”; “técnica molecular”; “alfa-fetoproteína”; “teste triplo”; “ultrassonografia”; “amniocentese”; “biópsia das vilosidades coriônicas”, “cordocentese”;

“fetoscopia”, sendo estas tanto em português como em inglês. As palavras chave foram utilizadas sempre sozinhas ou em combinação duas a duas, com o auxílio do conector “AND”.

O período de tempo definido para a busca foi de trabalhos publicados nos últimos 15 anos ou em outros artigos mais antigos que abordassem a temática de forma técnica e conceitual.

Os artigos utilizados abordam os critérios de temática, levando em consideração o ano de publicação e o conteúdo fornecido. Os critérios de inclusão foram: texto na íntegra; período de busca dentro dos últimos 15 anos; abordagem dos aspectos da técnica específica de diagnóstico pré-natal; descrição da utilização da técnica, levando em conta a saúde materno-fetal.

3. DESENVOLVIMENTO

A realização do diagnóstico pré-natal é necessária para garantia da saúde fetal e de seu desenvolvimento durante a gestação. Procura-se avaliar a existência de fatores genéticos, ambientais ou idiopática que possam gerar um crescimento anormal do feto. Dessa forma há uma gama de exames que devem ser realizados, que são divididos em testes invasivos e não invasivos (BRASIL, 2015).

3.1. Técnicas Não Invasivas

Os exames não invasivos são testes efetuados para avaliar a saúde materno-fetal sem a necessidade de técnicas invasivas, que elevem o risco de complicações tanto da mãe como do feto. A avaliação pode ser por meio do sangue materno em que há procura de marcadores específicos, que indicam normalidade ou anormalidade, dependendo da quantidade da substância procurada. Outra forma dessas técnicas é a verificação por meio de imagens do feto na pesquisa de anormalidades anatômicas. A atenção pré-natal por meio desses exames é essencial para utilização de ações de promoção e prevenção, além de permitir o diagnóstico de enfermidade e a realização de tratamento precoce, quando possível (BRASIL, 2006).

3.1.1. Triagem no Sangue Materno

A triagem realizada no primeiro trimestre de gestação, entre a décima primeira e décima terceira semana, é utilizada para detecção de risco para defeitos específicos nos cromossomos, como as trissomias do cromossomo 21 e do 18. É um exame não invasivo em que há coleta do sangue da mãe com posterior avaliação bioquímica do mesmo. Aproximadamente 85% dos fetos avaliados com anormalidade por esta triagem conseguem ser identificados, demonstrando a importância do exame (WIEACKER; STEINHARD, 2010).

No teste são quantificadas a proteína A plasmática associada à gestação (PAPP-A) e o hormônio gonadotrofina coriônica humana (hCG). Em casos de trissomia, a proteína A encontra-se diminuída, assim como o hCG. Porém na trissomia do 21 há um elevado aumento do hormônio gonadotrófico (NUSSBAUM; MCINNES; WILLARD, 2008). A PAPP-A tem como local principal de síntese a placenta durante o período de gravidez. É uma proteína importante na regulação do crescimento do feto, pois regula a biodisponibilidade do fator de crescimento “insulin like” em vários órgãos, como placenta e ovários (CERVEIRA et al., 2009).

A dosagem de proteína A plasmática e de gonadotrofina coriônica humana é referente a semana gestacional, como descrita no quadro 1 abaixo. Os valores normais aumentam de acordo com a semana gestacional, correspondendo a presença do feto. A diminuição desses valores é indicativa de defeito fetal (BIOLIDER-b, 2016).

Quadro 1: Valores normais por semana gestacional de gonadotrofina coriônica humana.

Semana gestacional	Valor em mU/ml
1ª semana	Inferior a 1,1
2ª semana	1,1-38,9
3ª semana	9,0-130,0
4ª semana	72,0-2.600,0
5ª semana	850,0-20.800,0
6ª semana	4.000,0-100.200,0
7ª semana	11.500,0-130.000,0
8ª semana	110.000,0-289.000,0

Fonte: BIOLIDER-b, 2016.

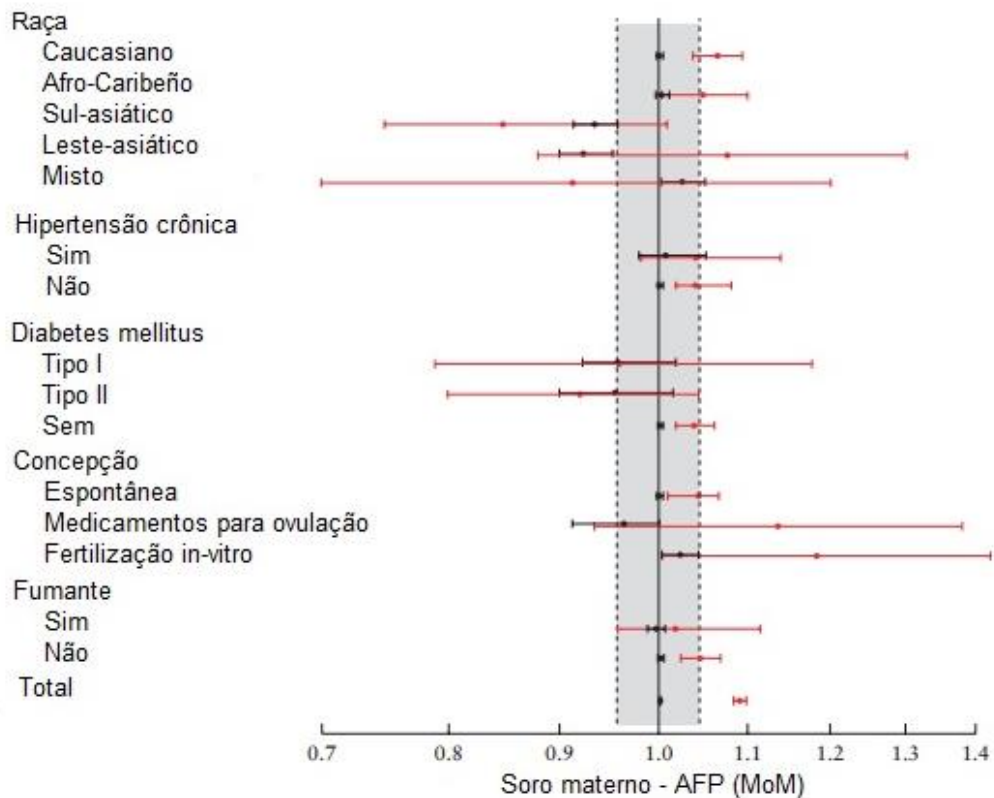
3.1.2. Dosagem de Alfa-fetoproteína

A dosagem de alfa-fetoproteína é importante para avaliar o feto, porque o mesmo a produz pelo fígado e por outros órgãos, mas em menor quantidade, como o trato gastrointestinal. Essa glicoproteína está presente no sangue fetal e por meio da via placentária se transfere ao sangue materno. A maior fase de produção do feto é entre a décima segunda e décima quarta semanas gestacionais, mas no soro materno permanece aumentada até, aproximadamente, o terceiro trimestre de gestação, como demonstra o quadro 2 (SILVA, 2013).

É realizado entre a décima quinta e a vigésima semana de gestação, sendo mais preciso entre a décima sexta e a décima oitava semana. O teste de triagem, ao se dosar alfa-fetoproteína no sangue materno durante a gravidez, é o marcador que possui maior especificidade ao resultado anormal do feto. A mensuração do nível de alfa-fetoproteína é captada por meio não só da idade da mãe, mas também por sua etnia, a fim de verificar a probabilidade de distúrbios fetais (DEHGHANI-FIROUZABADI et al., 2010).

A mensuração de alfa-fetoproteína é diferente dependendo da idade gestacional e de algumas características maternas, como será demonstrada na figura 1. O fator racial assim como o modo de concepção e a presença de doenças (hipertensão arterial e diabetes mellitus) são fatores contribuíveis para diferentes concentrações de alfa-fetoproteína. Ao analisar o gráfico abaixo, a linha preta representa o valor médio apresentado, sendo o comparativo em cinza os valores normais médios da dosagem de alfa-fetoproteína ao se avaliar o mínimo múltiplo comum. Já as linhas vermelhas horizontais são indicativas dos valores encontrados entre as características específicas, demonstrando como cada uma apresenta um valor diferenciado, não estando especificamente no valor referente à normalidade gestacional (BREDAKI et al., 2015).

Figura 1: Características que interferem na dosagem de alfa-fetoproteína no sangue materno.



Fonte: Adaptado de BREDAKI et al., 2015.

A alfa-fetoproteína é uma glicoproteína produzida pelo feto. A concentração elevada apresenta correlação com um maior risco de anormalidade fetal, por isso este marcador é utilizado como controle de pré-natal. Verifica-se que concentrações anormais de alfa-fetoproteína indicam defeitos congênitos estruturais, como anencefalia (GARCIA-CAVAZOS, 2010).

A avaliação da dosagem desta glicoproteína é capaz de indicar a viabilidade do feto, sua idade gestacional e também se há gestação múltipla. Níveis elevados de alfa-fetoproteína no sangue materno indicam defeito no tubo neural, podendo ele estar aberto ou com a parede ventral defeituosa, deixando a lesão sem pele. Pode haver outras anormalidades indicativas do aumento da proteína, como agenesia renal ou disfunção placentária (ROOD; STILLER, 2013).

Quadro 2: Valores referenciais de alfa-fetoproteína de acordo com a semana gestacional.

Semana gestacional	Valor em ng/ml
--------------------	----------------

13 ^a	4,5-22,3
14 ^a	6,2-30,8
15 ^a	8,3-41,5
16 ^a	11,0-55,0
17 ^a	14,4-71,8
18 ^a	18,4-92,0
19 ^a	23,3-116,3
20 ^a	29,1-145,3
21 ^a	35,9-179,5

Fonte: BIOLIDER-b, 2016.

3.1.3. *Teste Triplo*

É realizado entre a décima quinta e vigésima semana de gestação por meio da coleta de sangue materno, onde há procura de três elementos específicos: alfa-fetoproteína, gonadotrofina coriônica humana e estriol não conjugado. Por ser um teste não invasivo apresenta um baixo risco tanto para o feto e seu desenvolvimento quanto para a mãe (SAYN, 2008).

O exame tem a capacidade de indicar alguma anormalidade na gestação. Caso seja detectado um resultado inesperado será realizado um exame complementar de diagnóstico, porque este teste apenas norteia a existência de um problema. O teste triplo é um marcador para aneuploidia fetal. Ele entrou rapidamente na rotina pré-natal e é muito utilizado na triagem de síndromes, como a trissomia do cromossomo 21. Mulheres que apresentam fatores de risco, ou seja, maior susceptibilidade de gerarem fetos com síndrome de Down são indicadas para a realização deste teste de triagem. Após a realização, é necessário ofertar um exame de diagnóstico (REYNOLDS, 2010).

A alfa-fetoproteína é uma proteína produzida pelo feto. Altos níveis da mesma são indicativos de que o feto em desenvolvimento apresenta defeito no tubo neural, como anencefalia ou espinha bífida. Porém é preciso realizar o teste no período indicado, pois alterações desta proteína podem estar relacionada à semana gestacional imprecisa. Valores aumentados de alfa-fetoproteína também podem indicar outros resultados adversos na gravidez, como aborto espontâneo, pré-eclâmpsia e parto prematuro (SAYN, 2008).

A gonadotrofina coriônica humana (hCG) é um hormônio produzido no interior da placenta, sendo então associada a presença de gravidez. É importante na implantação do embrião, como também na regulação do endométrio. A presença deste hormônio confirma a gravidez e sua concentração pode ser capaz de indicar gestações múltiplas, gravidez ectópica e abortos espontâneos. Este hormônio é capaz de indicar possíveis anomalias fetais por meio de sua concentração (UENO, 2014).

O estriol não conjugado é um estrógeno produzido tanto pelo feto quanto pela placenta. A concentração deste marcador bioquímico aumenta ligeiramente no período da gravidez. Percebe-se que alterações cromossômicas, como a trissomia do cromossomo 21 e do 18, diminuem os níveis do estriol. No quadro 3, avalia-se os valores normais de estriol não conjugado no soro materno. Níveis abaixo desses são indicativos de alterações cromossômicas (SILVA, 2013).

Quadro 3: Valores referentes a quantidade de estriol no sangue materno por semana gestacional.

Semana gestacional	Valor em ng/ml
8 ^a	0-0,3
9 ^a	0,1-0,4
10 ^a	0,1-0,6
11 ^a	0,1-0,8
12 ^a	0,2-1,0
13 ^a	0,2-1,3
14 ^a	0,3-1,6
15 ^a	0,4-2,0
16 ^a	0,5-2,5
17 ^a	0,6-3,0
18 ^a	0,7-3,6
19 ^a	0,9-4,3
20 ^a	1,0-4,5

Fonte: BIOLIDER-c, 2016.

3.1.4. Ultrassonografia

A ultrassonografia se tornou indispensável para um diagnóstico pré-natal completo. O ultrassom vem apresentando um grande avanço desde sua criação (ROMOSAN et al., 2009). É uma tecnologia muito utilizada atualmente por utilizar ondas ultrassônicas capazes de identificar o feto, apresentando um risco mínimo para o mesmo. Dessa forma, é importante para realizar o diagnóstico fetal, porque outras técnicas, como a medicina nuclear, apresentam um risco elevado para gestantes, por poderem apresentar alterações fetais. Com a utilização do ultrassom é possível fazer a formação da imagem apenas com a utilização de propriedades físicas do som, visualizando o estudo da anatomia interna do corpo. No caso da ultrassonografia obstétrica, há visualização da anatomia fetal. Essa técnica apresenta vantagens, como: rápida execução, visualização na hora do exame, obtenção de imagens em diversos planos e é segura por não utilizar radiação. Por isso a técnica é utilizada no pré-natal para avaliar semanas específicas gestacionais (MASSELLI et al., 2013).

Este equipamento apresenta importância para: avaliar de forma precoce uma gravidez, verificar a existência de gestações múltiplas, avaliar a vitalidade fetal, estimar a quantidade de líquido amniótico e monitorar o trabalho de parto. O ultrassom se tornou essencial para realizar as medidas do feto e avaliar suas estruturas anatômicas a procura de anomalias e defeitos congênitos. Esse exame é capaz de realizar uma avaliação com precisão e rapidez (BRUNS et al., 2015).

3.1.4.1. Ultrassonografia Transvaginal

No primeiro trimestre de gestação é realizada a ultrassonografia transvaginal. Essa técnica é importante, porque traz uma melhor definição da imagem já que o aparelho é introduzido, ficando próximo ao tecido em estudo. Mas essa introdução não aumenta os riscos para algum tipo de futura alteração gestacional, porque são tomadas todas as medidas de precaução. A ultrassonografia indica a presença do embrião, seu tamanho e sua idade, além de verificar seu batimento cardíaco e sua localização no útero (PANEBIANCO et al., 2015).

A determinação da idade gestacional é imprescindível para o acompanhamento da gravidez, porque os exames são realizados conforme as semanas gestacionais e as medidas dos mesmos também. A real idade gestacional é relevante para a viabilidade fetal, gerando risco de morbimortalidade quando datado errado, ocasionando uma gestação prolongada, por exemplo. A medição do comprimento crânio-caudal do feto realizada entre a décima primeira e décima quarta semana traz um erro de estimativa de no máximo uma semana gestacional, sendo o

menor erro medido durante parâmetros ultrassonográficos (em exames posteriores) (PERALTA; BARINI, 2002).

Ao se utilizar o ultrassom transvaginal, é possível verificar anormalidades estruturais fetais em mais de 90% dos casos, excetuando-se estruturas cardíacas (SOUKA et al., 2004). Dessa forma, demonstra-se ser um exame viável, que com o aumento da tecnologia poderá prever precocemente a anatomia fetal. É um fator que ajuda na ansiedade dos pais, pois trará mais cedo a saúde e o desenvolvimento fetal (ISUOG, 2015).

3.1.4.2. Ultrassonografia para avaliar Translucência Nucal

O segundo ultrassom é para avaliação da translucência nucal. Ele é realizado entre a décima primeira e a décima terceira semana de gestação. Seu objetivo é fazer a medição da estrutura da nuca do feto, porque a presença excessiva de líquido no tecido mole do pescoço é indicativa de anormalidade cromossômica. Ao realizar o ultrassom, faz-se a medida da espessura do espaço entre o tecido que recobre a espinha cervical do feto e sua pele. Quando essa espessura se encontra aumentada nos primeiros três meses de gravidez, é um forte indicativo de trissomia, como trissomia do cromossomo 21. Essa alteração é possível ser visualizada na figura 2, ao se verificar uma ultrassonografia normal e uma com líquido nucal aumentando (AMORIM; MELO, 2009).

A medição da translucência nucal é correlacionada com a idade fetal, sendo então variável de acordo com a idade gestacional. A translucência nucal aumenta conforme o aumento das semanas gestacionais e do comprimento crânio-caudal. Um feto com esse determinado comprimento tem uma translucência nucal avaliada, apresentando assim um risco relativo. Esse risco é específico para a idade gestacional e idade da mãe, sendo assim quanto maior a medida da translucência nucal, maior será o risco relativo (NICOLAIDES; FIGUEIREDO, 2004).

Figura 2: Ultrassonografias diferenciando o aumento de líquido nucal.



Fonte: MCCLEAN, 2010.

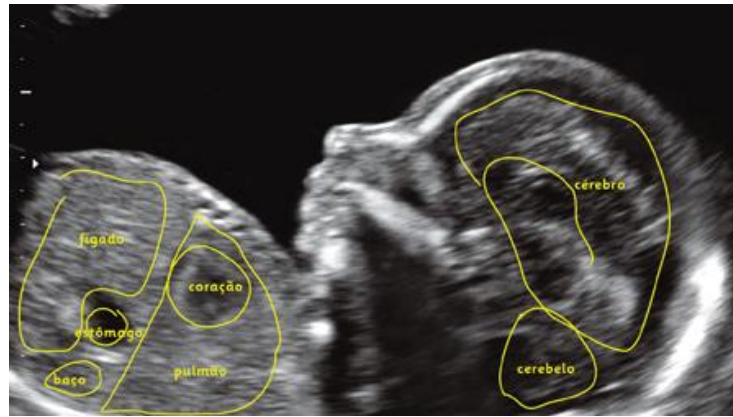
O comprimento medido mínimo é de 45mm e máximo de 84mm entre as décima primeira e décima terceira semanas gestacionais. Utilizam-se essas semanas por causa da precocidade para realização de um exame invasivo, como a biópsia das vilosidades coriônicas e após a décima terceira semana há diminuição do aumento do líquido nucal em fetos com anormalidades no cromossomo (NICOLAIDES; FIGUEIREDO, 2004).

3.1.4.3. Ultrassonografia Morfológica

A terceira ultrassonografia é realizada entre a décima oitava e vigésima quarta semana de gestação. Tem como propósito avaliar a morfologia do feto, verificando toda sua formação e de seus órgãos. A avaliação é feita de forma minuciosa e detalhada, realizando a medição estrutural do feto (SALOMON et al., 2011).

A avaliação morfológica é essencial para diminuição da mortalidade perinatal. Esta estimativa é realizada observando-se a anatomia do cérebro, tórax, abdômen, espinha e genitália fetal, além da posição placentária e da quantidade de líquido amniótico presente, como pode ser visto na figura 3 (CARGILL; MORIN, 2009).

Figura 3: Ultrassonografia morfológica.



Fonte: CPU, 2016.

A ultrassonografia morfológica não consegue fazer a detecção de todos os problemas fetais, pois alguns só ficam mais evidentes conforme o desenvolvimento do feto. Há outras desvantagens na realização desse procedimento, como a posição fetal e a técnica de condução do ultrassom, que pode dificultar a visualização de anormalidades estruturais (TELLES, 2008).

3.1.4.4. Ultrassonografia Obstétrica

A quarta ultrassonografia é realizada após a trigésima quarta semana gestacional, por meio de um transdutor abdominal. O objetivo é continuar avaliando o crescimento e o desenvolvimento fetal (AIUM, 2015).

Além de avaliar o crescimento fetal, é indicada avaliação dos anexos gestacionais. A verificação do líquido amniótico, medindo sua quantidade, além da avaliação da placenta, analisando localização e maturidade, são medidas importantes para a continuação natural gestacional (FERLIN, 2016).

3.1.4.5. Ultrassonografia – Doppler

A ultrassonografia doppler não é, frequentemente, utilizada na rotina pré-natal, mas é de importante avaliação. Ela consegue verificar a vascularização fetal e sua arquitetura em diversos órgãos, como pode ser visto na figura 4 (CARVALHO; CHAMMAS; CERRI, 2008).

É um exame indicado dependendo do caso analisado, sendo necessária uma avaliação prévia para seu pedido. Ao se realizar esta ultrassonografia, avalia-se o fluxo sanguíneo que percorre os vasos do feto e como o sangue materno está chegando ao mesmo através das ondas de sons produzidas por meio do sangue passando pelas veias. Dessa forma é possível identificar

algumas enfermidades e também verificar a oxigenação fetal. É uma técnica utilizada em gravidezes de alto risco, onde há preocupação com o feto, podendo verificar suas condições e trazendo benefícios com o resultado da técnica (ALFIREVIC; STAMPALIJA; MEDLEY, 2015).

Figura 4: Avaliação do cordão umbilical por ultrassonografia doppler.



Fonte: USB, 2016.

Não é um exame indicativo para triagem, porque pode gerar intervenções desnecessárias. Estudos existentes não conseguiram provar que a utilização do ultrassom doppler em pacientes de baixo risco na rotina de pré-natal tragam benefícios para a mãe e o feto, porque não houve diminuição de mortalidade perinatal e presença aumentada de anormalidades identificadas (ALFIREVIC; STAMPALIJA; GYTE, 2010).

3.2. Técnicas Invasivas

Os exames invasivos são indicados para pequenas populações de gestantes. Apenas para as mulheres que apresentam um risco aumentado de alterações que possam comprometer o desenvolvimento do feto (JÚNIOR, 2002). As gestantes que apresentam indicações para os procedimentos invasivos realizam estes testes, que apresentam um risco elevado de complicações, para obter uma análise mais acurada do material citogenético, bioquímico e molecular fetal (SANSEVERINO et al., 2001).

3.2.1. *Biópsia das Vilosidades Coriônicas*

O viló corial é primitivo do trofoblasto, que se diferencia em citotrofoblasto e sincitiotrofoblasto durante o primeiro trimestre de gestação. Ao fim desse período, a anatomia das vilosidades coriônicas já se encontra formada, sendo conhecida como córion viloso. Isto faz com que haja as trocas entre a mãe e o feto, pois o sangue do embrião passa a fluir pelos capilares do córion. No começo do segundo trimestre, a rede de vasos está madura, realizando troca gasosa, nutricional e de excreção (MONTANARI, 2013).

A biópsia das vilosidades coriônicas é um exame que realiza coleta e posterior análise de tecido do viló corial. Pode ser efetuado no primeiro trimestre de gestação, trazendo assim um diagnóstico precoce quando comparado a amniocentese. O período ideal para realização do exame é entre a décima primeira e décima terceira semana por apresentar uma execução facilitada e um menor risco de complicações (BATISTA et al., 2012).

Existem duas formas de executar a biópsia: por via transvaginal ou por via transabdominal. Esta última é a mais utilizada por apresentar menos contra-indicações quanto comparada a outra via. A penetração do equipamento de forma invasiva permite a entrada e proliferação de microrganismos, podendo levar a processos infecciosos, por exemplo. A via transcervical apresenta um limite para realização do exame, não sendo indicada após a décima segunda semana gestacional. Já a punção por via transabdominal pode ser realizada no segundo trimestre gestacional. É um método eficaz, prático e seguro por apresentar riscos mínimos (PROENÇA, 2014).

O procedimento do exame por via transabdominal é feito com a utilização do ultrassom como guia, não só para avaliar o local correto da área vilosa, mas também para verificar a vitalidade fetal. Procura-se o local que apresente maior espessura de massa placentária. Após localização, há introdução da agulha e aspiração do material do córion, contando sempre com a ajuda do ultrassom, como demonstrado na figura 5. O volume de coleta é de aproximadamente 10mg de vilosidades coriônicas quando a indicação é cariotipagem e duas vezes maior quando será necessário analisar o DNA e enzimas específicas. É imprescindível fazer a verificação dos batimentos cardíacos fetais após a coleta e observar a carência de indícios de descolamento de placenta, porque estes fatores levam ao risco mínimo de complicações pelo procedimento (FONSECA, 2016).

Figura 5: Procedimento de biópsia de vilosidades coriônicas.



Fonte: EUROGENTEST, 2016.

As indicações para a biópsia de vilosidades coriônicas continuam ligadas as relativas ao estudo citogenético ainda no pré-natal, procurando diagnóstico precoce para melhor manutenção da gravidez, da saúde fetal e materna. Por consequência, esta técnica possui as mesmas indicações da amniocentese, sendo elas: avaliação da citogenética fetal, da biologia molecular e da bioquímica (PROENÇA, 2014).

A precocidade quanto ao resultado da realização do exame é em razão de as células adquiridas estarem presentes já em metáfases espontâneas (característica de células presentes no trofoblasto). Então não é necessário esperar ou induzir a amostra, conseguindo fornecer um laudo em até 36 horas (FRITSCH, 2004).

Apesar de ser um método que apresenta raras complicações possui um risco de 1% de aborto. Em suma, a biópsia de vilosidades coriônicas é responsável por predizer um diagnóstico precoce, permitindo um possível acompanhamento terapêutico prematuro quando possível e diminuindo a ansiedade dos pais quando resultado negativo (FONSECA, 2016).

3.2.2. Amniocentese

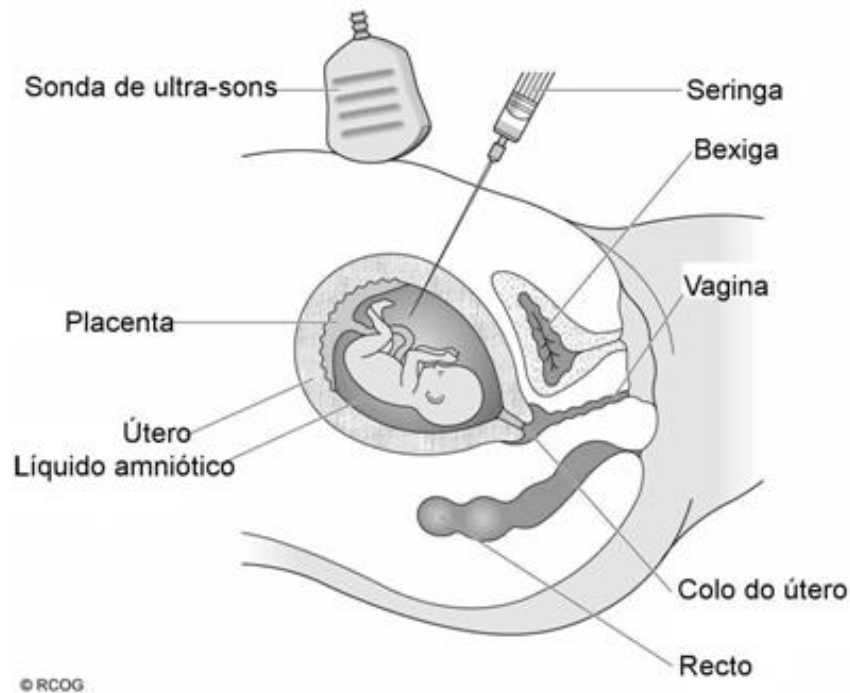
Um simples filtrado do plasma da mãe é o que compõe inicialmente o líquido amniótico (LA). Esse altera sua composição já no fim do primeiro trimestre, sendo mais característico do plasma do feto. As alterações de formação do líquido amniótico são por meio de deglutição fetal, produção de urina e anexos da gravidez a partir do segundo trimestre. É um líquido de renovação contínua, em que há quantidade abundante de células de origem fetal descamadas. O LA apresenta um importante papel no desenvolvimento da gravidez, pois ele garante benefícios ao feto. Este líquido traz informações tanto sobre a saúde fetal quanto sobre a saúde materna, porque reflete a composição e seu volume que são diretamente proporcionais a ambos (DERTKIGIL et al., 2005).

A amniocentese é um exame transabdominal com aporte ultrassonográfico, em que há coleta de líquido amniótico com uma agulha fina, como pode ser visto na figura 6. Segundo o Ministério da Saúde, existem dois tipos de amniocentese: a precoce realizada entre a décima segunda e décima quarta semana de gestação; e a tardia indicada após a vigésima oitava semana. Durante o procedimento é realizada uma punção com coleta de 10-20mL de líquido amniótico para estudo diagnóstico (BRASIL, 2000).

Sua realização é importante quando há suspeita de defeito genético. Além do estudo cromossômico, a amniocentese pode avaliar a concentração de alfa-fetoproteína no LA. Isto, dependendo da quantidade em elevação, pode ser indicativo de defeito de tubo neural. Existem outros fatores que podem elevar a alfa-fetoproteína, como morte fetal, anomalia fetal, avaliação da idade gestacional errônea, além de gravidez múltipla (PROENÇA, 2014).

A amniocentese precoce deve ser realizada idealmente na décima sexta semana e sua precocidade aumenta o risco por elevar complicações. Como indicações, tem-se: cariotipagem fetal (verificar síndromes, sendo a trissomia do 21 a principal), dosagem de alfa-fetoproteína (avaliar defeito de tubo neural), erro inato do metabolismo (indicar alimentação da mãe, por exemplo) e determinação do sexo fetal (através de cultivo de células). A amniocentese tardia é indicada para: verificar o desenvolvimento e vitalidade do feto, diagnosticar corioamnionite (inflamação do córion e do âmnio), casos de polihidrânio agudo (aumento do volume de LA), administração de medicamento (efeito rápido), determinar o grupo sanguíneo e verificar a existência de doença hemolítica (BRASIL, 2000).

Figura 6: Procedimento de amniocentese.



Fonte: EUROGENTEST, 2016.

A técnica pode ser utilizada como terapêutica em casos de pacientes sintomáticas com polihidrâmnios, em que há retirada do excesso de fluido amniótico e em grávidas oligoâmnicas (baixo nível de líquido amniótico, normalmente inferior a 200mL), onde há introdução do fluido (PROENÇA, 2014).

O procedimento é padrão para diagnóstico invasivo, sendo o que apresenta menor risco de perda fetal (média de 0,5%). Outros riscos associados são perda de líquido amniótico, infecção e lesão fetal por meio da punção. Realizar este teste precocemente (antes da décima quarta semana) aumenta o risco de aborto em três vezes. Na realização da amniocentese é realizada a dosagem de alfa-fetoproteína para indicação de defeito de tubo neural e estudo do cariótipo para determinação dos cromossomos. Qualquer outro exame realizado com o líquido amniótico precisa de indicação, porque não faz parte do padrão (FONSECA, 2016).

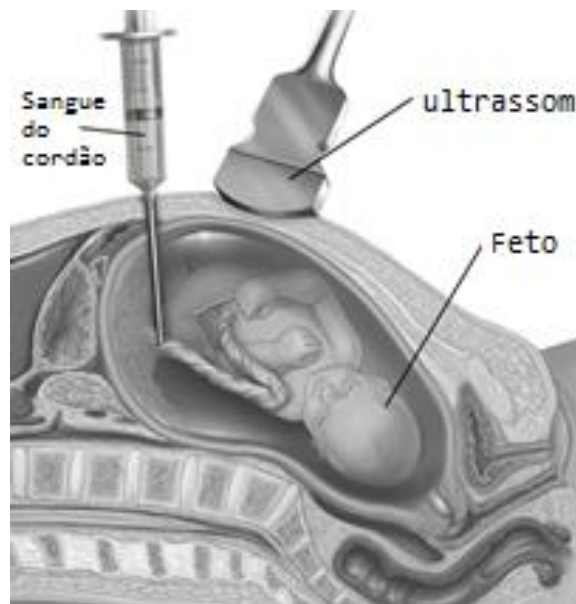
Apesar de ser um procedimento padrão-ouro, a amniocentese não é capaz de detectar todos os defeitos fetais. Mas continua sendo o método mais utilizado atualmente quando se trata de diagnóstico pré-natal invasivo (BATISTA et al., 2012).

3.2.3. Cordocentese

A cordocentese é um exame de pré-natal invasivo no qual é realizada uma punção do cordão umbilical para retirada de sangue, exclusivamente, fetal. Antes do surgimento desse exame era necessária uma histerectomia para conseguir acesso a circulação fetal. Após utilizava-se a fetoscopia, mas os riscos de complicações eram grandes. Então com a tecnologia foi possível utilizar o ultrassom para direcionar a técnica e a agulha conseguir chegar a veia umbilical (NUSSBAUM; MCINNES; WILLARD, 2008).

A cordocentese pode ser realizada a partir da décima sétima semana, sendo preferencialmente executada a partir da vigésima semana. Primeiramente procura-se o cordão umbilical por meio do ultrassom para determinar onde será puncionado. Pode-se visualizar o procedimento na figura 7 a seguir. Em seguida faz-se assepsia do local e a inserção da agulha até chegar a veia umbilical. Assim há coleta de 2 a 5ml de sangue fetal puro, sendo a quantidade dependente do tipo de exame a ser realizado (FONSECA, 2016).

Figura 7: Procedimento de cordocentese.



Fonte: MAYO, 2016.

A técnica possui indicações tanto para diagnóstico quanto para terapia. Quando a indicação é propedêutica, é possível realizar uma cariotipagem, procura de desordens genéticas, avaliação de infecção congênita, presença de doença hemolítica perinatal e verificação da vitalidade fetal. Agora quando a indicação é terapêutica, o procedimento permite aplicação de medicamentos diretamente na corrente sanguínea do feto. A principal indicação é quando se

necessita de transfusão intravascular intra-uterina, no qual é inserido um concentrado de hemácias diretamente no cordão umbilical do feto. Faz-se esse procedimento em casos de anemia fetal proveniente de isoimunização pelo fator Rh. Outras indicações são: infusão intravascular de medicamentos e de albumina, transplante de medula óssea e terapia gênica (USB, 2016).

Com a cordocentese, o exame para verificação do cariótipo fetal é mais rápido, podendo ser concluído em até três dias quando comparada a amniocentese que necessita de duas semanas. A técnica é imprescindível para verificar a estrutura anômala fetal que já foi diagnosticada pelo ultrassom morfológico, podendo dessa forma verificar se a anomalia estrutural se correlaciona com defeito cromossômico. A cordocentese também permite a diminuição da morbidade de recém-nascidos ao realizar a punção diretamente na veia do cordão umbilical, conseguindo determinar a tipagem sanguínea e a realização de exames hematológicos (BATISTA et al., 2012).

O procedimento apresenta um risco de aproximadamente 1% para perda fetal, verificando que quando mais cedo sua realização, maiores os riscos. Ao se fazer a punção pode haver um sangramento imediato em 1/3 dos casos, mas que para logo, não afetando a saúde fetal. Este pode apresentar bradicardia que logo cessa na maior parte dos casos. Outra complicação associada é a presença de contrações uterinas. Todas essas são consideradas complicações imediatas. Já as tardias são mais graves, porque são indicativas de infecção (corioamnionite) ou trabalho de parto prematuro (USB, 2016).

A coriocentese se mostra um exame de grande importância por suas indicações tanto propedêuticas quanto terapêuticas (FONSECA, 2016).

3.2.4. Fetoscopia

A fetoscopia é um exame cuja técnica consiste na introdução de um endoscópio transabdominal, o qual avalia a anatomia fetal através do fetoscópio e pode realizar biópsia seja do cordão umbilical ou de tecidos fetais. É realizada normalmente a partir da décima oitava semana, podendo ter sua realização a partir da décima quinta semana gestacional. Nesta fase há maior proporção entre o líquido amniótico e o feto, gerando também uma melhor visualização pelo mesmo estar límpido (PROENÇA, 2014).

Utiliza-se a fetoscopia quando se suspeita de alguma malformação anatômica fetal, sendo a sua realização importante para o estabelecimento do diagnóstico de alguma síndrome. Atualmente, a técnica ainda é realizada mesmo com o alto risco de complicações para avaliação

da saúde da pele do feto, porque exames moleculares ainda não conseguem suprir essas alterações dermatológicas (JÚNIOR, 2002).

Existem dois tipos de fetoscopia: externa e endoscópica. A primeira é realizada por um aparelho que consegue avaliar os batimentos cardíacos fetais, permitindo monitorar o feto durante o trabalho de parto, por exemplo, mesmo que a grávida não esteja ligada a um monitor fetal. Já a fetoscopia endoscópica é realizada por meio de um endoscópio que é capaz de realizar biópsias de tecidos e até proceder uma cirurgia no feto ainda no útero. O exame por ser um procedimento invasivo apresenta um risco elevado, sendo entre 3 e 5% para aborto, requerendo bastante experiência para quem o está realizando. Por haver introdução de um equipamento, aumenta o risco de infecções e de descolamento da placenta (PROENÇA, 2014).

Quadro 4: Comparação entre as técnicas de diagnóstico pré-natal invasivas.

Técnica	Resultado	Risco	Vantagem	Desvantagem	Referência
Biópsia vilosidades	36 horas	1%	Diagnóstico precoce	Maior repetição do teste	FONSECA, 2016
<u>Amniocentese</u>	2 semanas	0,5%	Padrão-ouro Procedimento mais seguro	Cultivo in vitro	FONSECA, 2016
<u>Cordocentese</u>	72 horas	1%	Acompanhamento terapêutico Diminuição de morbidade	Dificuldade técnica	USB, 2016
<u>Fetoscopia</u>	Na hora - endoscópico	3-5%	Melhor visualização Terapêutica cirúrgica	Infecção Descolamento de placenta	PROENÇA, 2014

No quadro 4, há a comparação entre as técnicas invasivas de diagnóstico pré-natal. A punção das vilosidades coriônicas é uma técnica de diagnóstico precoce, tendo um resultado em até 24 horas, porque as células coletadas do vilo corial já se apresentam em metáfase espontânea, não precisando de cultivo celular in vitro. A técnica apresenta um risco de 1% para possíveis complicações pós-exame (FONSECA, 2016). A amniocentese é considerada o exame de diagnóstico pré-natal padrão-ouro, apresentando o menor risco de complicações (0,5%) e dessa forma, se torna o exame mais seguro para realização. Porém necessita de cultivo de células in vitro, apresentando um laudo em até 2 semanas (FONSECA, 2016). A cordocentese tem um resultado em até 72 horas e um risco de 1% para possíveis complicações após o exame. É uma técnica importante para realizar tratamento terapêutico, por colocar medicamento diretamente na corrente sanguínea do feto, por exemplo. É interessante sua realização na

diminuição da morbimortalidade neonatal, porque pode ser realizada a tipagem sanguínea direta do feto e realizar posteriormente exames hematológicos. Mas a realização da cordocentese é complicada, precisando de um profissional bem qualificado (USB, 2106). A fetoscopia é uma técnica pouco utilizada atualmente por apresentar um risco alto, entre 3 e 5%, para possíveis complicações, como infecções e descolamento de placenta. Mas é a única técnica invasiva capaz de realizar terapêutica cirúrgica, podendo reestabelecer a saúde fetal ainda dentro do útero de mãe (PROENÇA, 2014).

3.2.5. Exames moleculares para análise de aneuploidias cromossômicas

Como visto, o diagnóstico pré-natal apresenta importância fundamental tanto na prevenção como na detecção precoce de doenças materno-fetais. A descoberta na década de 90 de células fetais livres, que contém DNA (ácido desoxirribonucléico) no sangue materno, permitiu a produção de novas estratégias para se realizar um diagnóstico não invasivo. Atualmente testes moleculares trazem maior acurácia por serem mais sensíveis e específicos, porque trazem em si a identificação de sequências capazes de detectar aneuploidias cromossômicas (PORRECO, 2014).

A introdução de análise das células fetais permitiu maior possibilidade de triagem. Antes era possível realizar o diagnóstico das trissomias mais comuns, do cromossomo 21, do 18 e do 13. Com a evolução da técnica já é possível examinar outras aneuploidias, como a dos cromossomos sexuais (monossomia do X, síndrome de Klinefelter ou síndrome do triplo X por exemplo) (NICOLAIDES, 2014).

Procura-se a identificação precoce de fetos com essas anormalidades, pois há uma intensa associação de morbimortalidade significativa após o nascimento. Por isso a tecnologia vem sendo implementada no pré-natal. Sociedades de obstetrícia vêm recomendando a utilização tanto de métodos invasivos quanto não invasivos para o diagnóstico fetal, dependendo dos riscos da gravidez, como idade materna avançada e a presença de histórico familiar de aneuploidias (NORWITZ; LEVY, 2013).

A citogenética convencional é realizada, preparando-se amostras por meio do DNA fetal, procurando a determinação do maior número de bandas cromossômicas. A quantidade dessas bandas influencia a resolução do exame e a verificação de anomalias nos cromossomos, assim como a presença de pequenas deleções. Uma análise clínica comum utiliza 450-550 bandas para realizar o diagnóstico pré-natal, realizando a cariotipagem por coloração e bandeamento cromossômico. Essa análise é capaz de diagnosticar anomalias tanto numéricas

como estruturais, por meio de amostras que contenham entre 5 e 10 milhões de pares de bases de DNA. Esse é um método confiável, mas depende do profissional para um correto cultivo celular e análise de resultado (MACHADO; HEINRICH-MUÇOUÇA; BARINI, 2012).

Outra técnica de citogenética é conhecida como FISH (*Fluorescent In Situ Hybridization*). Tem como princípio a utilização de uma sonda, que é uma sequência de oligonucleotídeos marcada com elemento fluorescente (NEVES, S. M. N.; GUEDES, R. M. C., 2012). Os nucleotídeos são marcados de forma específica. Após essa marcação do DNA-molde, ele se anela ao DNA do paciente, que seria o alvo. Quando há esse anelamento, tem a liberação de fluorescência, que pode ser observada com a utilização de um microscópio de fluorescência. Ela realiza uma hibridização in situ por fluorescência, levando uma sonda a se ligar especificamente a um alvo para avaliação da presença de específica região do cromossomo ou sequência de DNA. A técnica permite a localização espacial da sequência que se quer analisar, realizando um mapeamento cromossômico (PINTO-MAGLIO, 2007).

A técnica apresenta limitação por ser locus-específica, ou seja, as sondas aplicadas no exame determinam que haja conhecimento da sequência de DNA de interesse. Para diagnóstico fetal precoce, utilizam-se sondas que detectam aneuploidias, principalmente, as dos cromossomos X, Y, 13, 18 e 21. O exame também é importante na detecção de síndromes que envolvam microdeleções ou microduplicações. O FISH é difundido por apresentar uma vantagem em relação as outras técnicas: rápida obtenção de resultado, podendo ser de horas (BATISTA et al., 2012).

A reação de cadeia de polimerase fluorescente quantitativa (Q-PCR) é uma metodologia de análise de amplificação de sequências de DNA altamente polimórficas, presentes em todos os cromossomos e regiões deles, conhecidas como *short tandem repeat* (STRs), que são sequências curtas de DNA, normalmente, com cerca de 6 pares de base, que se repetem diversas vezes no genoma humano. O número das repetições varia de acordo com a elevada taxa de heterozigose do marcador. Dessa forma, os polimorfismos em STRs são criados por causa do número diverso de cópias do mesmo elemento em repetição que pode ocorrer em uma população (WEBER; WONG, 1993).

O fundamento da Q-PCR se dá durante a fase exponencial de amplificação das sequências durante a realização da PCR. Aparece uma quantidade de produto diretamente proporcional a quantidade de DNA presente inicialmente na amostra. Há acréscimo de marcadores de fluorocromo, que são capazes de se incorporar aos produtos da reação em cadeia e serem detectados, com picos de diferentes tamanhos, avaliando-se a quantidade de pares de bases, e a intensidade da fluorescência. Com esses dois parâmetros, é possível analisar cada um

dos alelos presentes na amostra, realizando a presença e quantificação dos mesmos (ÁLVAREZ, 2007).

O interesse em estudar essas sequências específicas é por que esses polimorfismos podem ser examinados rapidamente usando PCR. Então, alguns tipos de alterações nas repetições conseguem ser mapeadas, dependendo do primer específico utilizado. Assim é possível verificar a presença de doenças através da análise de mutações e alterações em quantidade de STRs (WEBER; WONG, 1993).

Ao invés de realizar uma sequência aleatória de fragmentos do genoma humano, amplifica-se partes específicas que são de interesse, como locos polimórficos do cromossomo 18, por exemplo. Isto reduz o número de leituras e melhora a especificidade do exame, porque ao sequenciar seletivamente a região específica é possível realizar uma análise focal dos cromossomos, que são clinicamente relevantes (NORWITZ; LEVY, 2013).

A Q-PCR analisa as alterações cromossômicas, determinando a presença de alelos diferentes e seus números de cópias de cada cromossomo em estudo. As análises mais comuns são para se verificar e quantificar aneuploidias nos cromossomos 13, 15, 16, 18, 21, 22, X e Y (HERMES, 2016).

Atualmente, cada empresa desenvolve sua metodologia específica na produção de testes não invasivos moleculares. Mas utilizam como base o sequenciamento do genoma humano, utilizando células fetais provenientes do sangue materno. Apesar de toda essa tecnologia variar de entidade para entidade, todos estes testes devem ser confirmados por um exame invasivo, seja amniocentese ou biópsia dos vilos coriônicos (NORWITZ; LEVY, 2013).

Outra forma interessante em que a biologia molecular vem sendo aplicada é na sexagem fetal, utilizando o sangue materno a partir da oitava semana gestacional. É uma análise possível pela presença de células fetais livres no sangue materno, com posterior análise de DNA fetal (FLEURY, 2008). Por meio de reação em cadeia de polimerase em tempo real, há detecção e análise de quantidades pequenas de DNA do feto no sangue da mãe. Essa reação tem como princípio a detecção e quantificação de sequências específicas de ácidos nucleicos, com o uso de elemento fluorescente para visualização do resultado da técnica. Há então detecção dos produtos amplificados em cada ciclo, por isso o nome em tempo real. Consegue-se medir a cada ciclo a quantidade de DNA presente na amostra (DIOS; IBARA; VELASQUILLO, 2013). Essas sequências de DNA isoladas são levadas a reação junto com primers específicos de regiões do cromossomo Y, procurando uma única cópia de SRY ou múltiplas cópias de DYS14. Assim não é necessário realizar análise do DNA materno já que o fetal difere dele por meio da presença do cromossomo Y. É um método de elevada especificidade, chegando a 100%, e

sensibilidade de aproximadamente 98% (LEVI; WEDEL; TAKAOKA, 2003). A presença do cromossomo Y no resultado é indicativa de feto do sexo masculino, enquanto a ausência considera o feto como do sexo feminino (CARDOSO; FIACO; SANTOS, 2012).

Ao realizar um teste molecular para verificar anormalidade genômicas, a mãe e o feto apresentam menor risco de complicações ao procedimento por ser realizada apenas uma coleta de sangue materno. Estes testes vêm sendo aprimorados para substituírem a citogenética convencional, mas antes disso precisam gerar a precisão diagnóstica necessária (NORWITZ; LEVY, 2013).

4. CONSIDERAÇÕES FINAIS

A utilização de exames pré-natais é essencial para fazer uma avaliação ainda durante a gravidez tanto da saúde evolutiva do feto como da mãe. Por isso, o Ministério da Saúde recomenda a realização dos mesmos. Quando uma paciente apresenta um risco elevado para uma possível complicação gestacional, a mesma é amparada a realizar outros exames, porque descobrir ainda no útero se o feto possui alguma anormalidade, seja estrutural ou cromossômica, é importante para a realização de um tratamento intrauterino ou um acompanhamento da saúde fetal. A realização precoce de um diagnóstico pré-natal pode reduzir a mortalidade de neonatos. Dessa forma, o acompanhamento pré-natal torna-se estratégico para diminuir os índices de morbimortalidade dos recém-nascidos.

Atualmente, os exames mais realizados para a detecção de anomalias são invasivos e apresentam um risco elevado quando comparado ao risco de técnicas biomoleculares, por exemplo. Essas últimas não são invasivas e apresentam um risco mínimo para a saúde materno-fetal, porém por serem técnicas inovadoras apresentam alto custo para implantação no diagnóstico pré-natal de rotina.

As técnicas moleculares têm como vantagem a necessidade de pequena quantidade de DNA para confirmação do diagnóstico; coleta de sangue materno, apresentando baixo risco de complicação; elevada especificidade; rápido resultado. Mas por serem altamente específicas, as técnicas se tornam presas a determinadas anomalias cromossômicas, por exemplo, não determinando qualquer doença nos cromossomos analisados. Essas técnicas geraram grande evolução para a obstetrícia, revolucionando a rotina de análise clínica laboratorial. Mas, o elevado custo ainda é um problema para a saúde pública.

As políticas públicas de saúde não apresentam condições de implantar testes moleculares para acompanhar e diagnosticar um pré-natal, por causa do elevado custo para

realização das técnicas e dos recursos utilizados. Hoje, a implantação desses exames moleculares na rotina laboratorial tem se tornado um desafio para a saúde pública, por isso procuram-se formas de torná-los viáveis em relação ao custo-benefício dos mesmos. Mas é preciso investir também em qualificação profissional, porque hoje o Brasil não possui uma quantidade de profissionais qualificados suficientes para implantação de técnicas tão revolucionárias em uma rotina laboratorial de saúde pública.

Ainda nos dias de hoje, muitos profissionais encaram a biologia molecular como se ela fosse uma ciência que iria exterminar as outras técnicas, levando a uma grande resistência por ela. Mas essa ciência vem para complementar as outras técnicas, ajudando como ferramenta de diagnóstico, por sua alta sensibilidade e especificidade.

5. REFERÊNCIAS

AIUM. American Institute of Ultrasound in Medicine. **Obstetric Ultrasound Examinations**. 2015. Disponível em: <<http://www.aium.org/resources/guidelines/obstetric.pdf>>. Acesso em: 03 abr. 2016.

ALFIREVIC, Z.; STAMPALIJA, T.; GYTE, G. M. Fetal and umbilical doppler ultrasound in normal pregnancy. **Cochrane Database of Systematic Reviews**, Oxford, v. 8, p. 1-37, maio 2010.

ALFIREVIC, Z.; STAMPALIJA, T.; MEDLEY, N. Fetal and umbilical doppler ultrasound in normal pregnancy (review). **Cochrane Database of Systematic Reviews**, Oxford, v. 4, p. 1-38, abr. 2015.

ÀLVAREZ, D. D. **Aplicación de nuevas técnicas moleculares al estudio de alteraciones cromossômicas em abortos espontâneos**. 2007. Tese (Doutorado em Biologia) – Programa de Doutorado da Faculdade de Ciências, Universidade Autônoma de Madrid, Madrid.

AMORIM, M. M. R.; MELO, A. S. O. Avaliação dos exames de rotina pré-natal – parte 2. **Revista Brasileira de Ginecologia e Obstetrícia**, Rio de Janeiro, v. 31, n. 7, p. 367-374, jul. 2009.

ANVERSA, E. T. R. et al. Qualidade do processo da assistência pré-natal: unidades básicas de saúde e unidades de Estratégia Saúde da Família em municípios no Sul do Brasil. **Cadernos de Saúde Pública**, Rio de Janeiro, v. 24, n. 4, p. 789-800, abr. 2012.

BAND, E. B. et al. Evolution of measurement of maternal plasma alpha-fetoprotein levels as a screening test for fetal neural tube defects. **British Journal Obstetrics and Gynecology**, Oxford, v. 84, n. 8, p. 574-577, ago. 1977.

BARINI, R. et al. Desempenho da Ultrassonografia Pré-natal no Diagnóstico de Cromossopatias Fetais em Serviço Terciário. **Revista Brasileira de Ginecologia e Obstetrícia**, Rio de Janeiro, v. 24, n. 2, p. 121-127, mar. 2002.

BATISTA, M. P. et al. Importância do estudo genético pré-natal. **Federação Brasileira das Sociedades de ginecologia e Obstetrícia (FEMINA)**, Rio de Janeiro, v. 40, n. 1, p. 05-11, jan. 2012.

BIOLIDER-a. **Gonadotrofina coriônica beta**. Disponível em: <<http://laboratoriobiolider.com.br/media/images/408.pdf>>. Acesso em: 7 jul 2016.

BIOLIDER-b. **Alfa-fetoproteína**. Disponível em: <<http://laboratoriobiolider.com.br/media/images/54.pdf>>. Acesso em: 7 jul 2016.

BIOLIDER-c. **Estriol livre**. Disponível em: <<http://www.biolider.com.br/media/images/329.pdf>>. Acesso em: 7 jul 2016.

BOYD, P. A. et al. The evolution of prenatal screening and diagnosis and its impact on an unselected population over an 18 year period. **BJOG: Internacional Journal of Obstetrics and Gynaecology**, Oxford, v. 119, n. 9, p. 1131-1140, ago. 2012.

BRASIL. Ministério da Saúde. **Gestação de alto risco**. 2000. Disponível em: <http://bvsmis.saude.gov.br/bvs/publicacoes/gestacao_alto_risco.htm>. Acesso em: 13 fev. 2016.

BRASIL. Ministério da Saúde. **Manual técnico pré-natal e puerpério – atenção qualificada e humanizada.** 2006. Disponível em: <http://bvsmms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/manual_pre_natal_puerperio_3ed.pdf>. Acesso em: 25 mar. 2016.

BRASIL. Ministério da Saúde. **Importância do pré-natal.** 2015. Disponível em: <<http://bvsmms.saude.gov.br/bvs/dicas/90prenatal.html>>. Acesso em: 21 ago. 2015.

BREDAKI, F. E. et al. Serum alpha-fetoprotein in the three trimesters of pregnancy: effects of maternal characteristics and medical history. **Ultrasound obstetrics and gynecology**, Chichester, v. 46, p. 34-41, 2015.

BRUNS, R. F. et al. Applicability of pocket ultrasound during the first trimester of pregnancy. **Medical Ultrasonography**, Cluj, v. 17, n. 3, p. 284-288, set. 2015.

BUG, S.; SCHMITZ, F.; NEVINNY-STICKEL-HINZPETER, C. **Clinical Pediatrics**, Filadélfia, v. 53, n. 1, p. 8-10, jan. 2014.

CARDOSO, A. S.; FIACO, L. G. D. SANTOS, M. O. **Precisão e procedimentos para sexagem fetal.** 2012. Disponível em: <http://www.faculdadealfredonasser.edu.br/files/Pesquisar_4/16-12-2015-16.34.59.pdf>. Acesso em: 01 jun. 2016.

CARGILL, Y.; MORIN, L. Contento f a complete routine second trimester obstetrical ultrasound examination and report. **SOGC Clinical Practice Guideline**, Montreal, n. 223, 272-275, mar. 2009.

CARVALHO, C. F.; CHAMMAS, M. C.; CERRI, G. G. Princípios físicos do doppler em ultrassonografia. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 38, n. 3, p. 872-879, maio 2008.

CERVEIRA, I. et al. PAPP-A no primeiro trimestre como fator preditivo do prognóstico perinatal. **Fertilidad y Reproduccion Humana**, Madrid, v. 26, n. 1, p. 61-64, jan. 2009.

CORDEIRO, A. M. et al. **Revisão sistemática: uma revisão narrativa.** 2007. Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/rcbc/v34n6/11.pdf>>. Acesso em: 03 out. 2015.

DEHGHANI-FIROUZABADI, R. et al. The association between second-trimester maternal serum alpha-fetoprotein in 14-22 weeks and adverse pregnancy outcome. **Acta Medica Iranica**, Teheran, v. 48, n. 4, p. 234-238, maio 2010.

DERTKIGIL et al. Líquido amniótico, atividade física e imersão em água na gestação. **Revista Brasileira de Saúde Materno Infantil**, Recife, v. 5, n. 4, p. 403-410, out. 2005.

DIOS, T. L.; IBARRA, C.; VELASQUILLO, C. Fundamentos de la reacción en cadena de la polimerase (PCR) y de la PCR em tempo real. **Investigación em Discapacidad**, Tlapan, v. 2, n. 2, p. 70-78, maio 2013.

EUROGENTEST. **Amniocentese.** 2016. Disponível em: <<http://www.eurogentest.org/index.php?id=459>>. Acesso em: 01 jun. 2016.

EUROGENTEST. **Vilosidades coriônicas.** 2016. Disponível em: <<http://www.eurogentest.org/index.php?id=459>>. Acesso em: 01 jun. 2016.

FERLIN, R. M. Ultrassom no pré-natal. Disponível em: <http://www.saude.pr.gov.br/arquivos/File/ACS/ultrassom_pre_natal.pdf>. Acesso em: 07 jul 2016.

FLEURY, M. S. **Determinação do sexo fetal por meio do sangue materno.** 2008. Disponível em: <<http://www.fleury.com.br/medicos/educacao-medica/revista-medica/materias/Pages/determinacao-do-sexo-fetal-pela-analise-do-sangue-materno.aspx>>. Acesso em: 07 jul. 2016.

FONSECA, A. L. A. **Intervenções orientadas pela ultra-sonografia – biópsia de vilosidades coriônicas, amniocentese e cordocentese.** Disponível em: <http://www.usbipanema.com.br/site/uploads/noticias/arquivos/Biopsia_de_Vilo_Corial-amniocentese-cordocentese_capitulo-livro.pdf>. Acesso em: 21 fev. 2016.

FRITSCH, A. **Hidropsia fetal não-imune: efeito da presença de cromossomopatia na mortalidade fetal e neonatal.** 2004. Dissertação (Mestrado em Medicina) – Programa de Pós-graduação em Ciências Médicas, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre.

GARCIA-CAVAZOS, R. et al. Alpha-fetoprotein as an early predictor of adverse perinatal outcome. **Ginecología y obstetricia de México**, México, v. 78, n. 5, p. 268-274, maio 2010.

HERMES PARDINI. **Novos exames para diagnóstico pré-natal molecular de aneuploidias cromossômicas.** Disponível em <<http://www3.hermespardini.com.br/pagina/1173/novos-exames-para-diagnostico-pre-natal-molecular-de-aneuploidias-cromossomicas.aspx>>. Acesso em: 10 maio 2016.

ISUOG. **Orientações práticas de ISUOG: realização do exame de ultrassonografia de primeiro trimestre.** Disponível em: <http://www.isuog.org/NR/rdonlyres/2038309C-A292-41FF-BCDF-C9393063CB80/0/FINALFirstTrimester_W_Martins.pdf>. Acesso em: 29 maio 2016.

JÚNIOR, W. P. Diagnóstico pré-natal. **Ciência & Saúde Coletiva**, São Paulo, v. 7, n. 1, p. 139-157, jan. 2002.

LEVI, J. E.; WENDEL, S.; TAKAOKA, D. T. Determinação pré-natal do sexo fetal por meio da análise de DNA no plasma materno. **Revista Brasileira de Ginecologia e Obstetricia**, Rio de Janeiro, v. 25, n. 9, p. 687-690, set. 2003.

LO, Y. M. et al. Maternal Plasma DNA Sequencing Reveals the Genome-Wide Genetic and Mutational Profile of the Fetus. **Science Translational Medicine**, Washington, v. 2, n. 61, p. 61-91, dez. 2010.

MACHADO, I. N.; HEINRICH-MUÇOUÇA, J. K. R.; BARINI, R. Testes genéticos em diagnóstico pré-natal: onde estamos, para onde vamos. **Federação Brasileira das Sociedades de ginecologia e Obstetricia (FEMINA)**, Rio de Janeiro, v. 40, n. 2, p. 87-96, mar. 2012.

MAYO. **Tests and procedures – cordocentesis**. 2016. Disponível em: <<http://www.mayoclinic.org/tests-procedures/percutaneous-umbilical-blood-sampling/multimedia/cordocentesis/img-20006443>>. Acesso em: 09 jun. 2016.

MONTANARI, T. Embriologia: texto, atlas e roteiro de aulas práticas. 2013. Disponível em: <<http://www.ufrgs.br/livrodeembrio/>>. Acesso em: 17 mar. 2016.

MORAIS, E. N.; FILHO, F. M. **Medicina Materna e Perinatal**. Rio de Janeiro: RevinteR, 2000.

MORON, A. F. **Medicina Fetal na Prática Obstétrica**. São Paulo: Santos, 2003.

NEVES, S. M. N.; GUEDES, R. M. C. Hibridização in situ fluorescente: princípios básicos e perspectivas para o diagnóstico de doenças infecciosas. **Arquivos do Instituto Biológico**, São Paulo, v. 79, n. 4, p. 627-632, out. 2012.

NICOLAIDES, K. H.; FIGUEIREDO, D. B. O exame ultrassonográfico entre a décima primeira e décima terceira semanas. Disponível em: <<http://www.fetalmedicine.com/synced/fmf/FMF-English.pdf>>. Acesso em: 13 fev. 2016.

NICOLAIDES, K. H. et al. Assessment of fetal sex chromosome aneuploidy using directed cell-free dna analysis. **Fetal Diagnosis and Therapy**, New York, v. 35, n. 1, p. 1-6, fev. 2014.

NORWITZ, E. R.; LEVY, B. Noninvasive prenatal testing: the future is now. **Reviews in Obstetrics and Gynecology**, New York, v. 6, n. 2, p. 48-62, mar. 2013.

NUSSBAUM, R. L.; MCINNES, R. R.; WILLARD, H. F. **Thompson & Thompson, genética médica**. Rio de Janeiro: Elsevier, 2008.

PAHO (PAN AMERICAN HEALTH ORGANIZATION). **Health Conditions in Americas**. Washington: PAHO, 1998.

PANEBIANCO, N. L. et al. The utility of transvaginal ultrasound in the ED evaluation of complications of first trimester pregnancy. **American Journal of Emergency Medicine**, West Bethesda, v. 33, n. 6, p. 743-748, jun. 2015.

PERALTA, C. F. A.; BARINI, R. Ultrassonografia obstétrica entre a décima primeira e a décima quarta semanas: além do rastreamento de anomalias cromossômicas. **Revista Brasileira de Ginecologia e Obstetrícia**, Rio de Janeiro, v. 33, n. 1, p. 49-57, jan. 2002.

PINTO-MAGLIO, C. A. F. Mapeamento cromossômico em espécies de café através da técnica de hibridização in situ fluorescente (FISH). **O agrônomo**, Campinas, v. 59, n. 1, p. 66-67, maio 2007.

PORRECO, R. P. et al. Noninvasive prenatal screening for fetal trisomies 21, 18 e 13 and the common sex chromosome aneuploidies from maternal blood using massively parallel genomic sequencing of DNA. **American Journal of Obstetrics and gynecology**, New York, v. 211, n. 4, p. 365e1-365e12, out. 2014.

PROENÇA, B. L. F. **Técnicas invasivas de diagnóstico e terapêutica embrio-fetal**. 2014. 33f. Dissertação (Mestrado em Medicina) – Instituto de Ciências Biomédicas Abel Salazar, Universidade do Porto, Porto.

REYNOLDS, T. The triple test as a screening technique for Down syndrome: reliability and relevance. **International Journal of Women's Health**, Auckland, v. 2, p. 83-88, 2010. Disponível em: <<http://www.dovepress.com/international-journal-of-womens-health-journal>> Acesso em: 28 set. 2015.

ROMOSAN, G. et al. Diagnostic performance of routine ultrasound screening for fetal abnormalities in an unselected Swedish population in 2000-2005. **Ultrasound in Obstetrics & Gynecology**, Chichester, v. 34, n. 5, p. 526-533, nov. 2009.

ROODS, K.; STILLER, R. Hereditary persistence of alpha-fetoprotein: a rare cause for unexplained alpha-fetoprotein elevations in pregnancy. **Connecticut State Medical Journal**, New Haven, v. 77, n. 1, p. 43-45, jan. 2013.

SALOMON, L. J. et al. Practice guidelines for performance of the routine mid-trimester fetal ultrasound scan. **Ultrasound in Obstetrics and Gynecology**, Chichester, v. 37, n. 1, p. 116-126, jan. 2011.

SANSEVERINO, M. T. et al. Diagnóstico pré-natal: avanços e perspectivas. **Revista do Hospital de Clínicas de Porto Alegre**, Porto Alegre, v. 21, n. 3, p. 301-316, 2001.

SAYN, N. C. et al. The association of triple-marker test results with adverse pregnancy outcome in low-risk pregnancies with healthy newborns. **Archives of Gynecology and Obstetrics**, Berlin, v. 277, p. 47-53, 2008.

SILVA, M. F. D. **Capacidade diagnóstica dos biomarcadores de rastreio pré-natal**. 2013. Dissertação (Especialista em Análises Clínicas e Saúde Pública) – Instituto Politécnico do Porto, Vila Nova de Gaia.

SOUKA, A. P. et al. Assessment of fetal anatomy at the 11-14 week ultrasound examination, **Ultrasound in Obstetrics and Gynecology**, Chichester, v. 24, n. 7, p. 730-734, dez. 2004.

TELLES, J. A. B. **Defeitos congênitos no Rio Grande do Sul – diagnóstico ultrassonográfico pelo estudo morfológico fetal**. 2008. Dissertação (Mestrado em Medicina) – Programa de Pós-graduação em Ciências Médicas, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre.

UENO, S. et al. Maternal age and initial beta-hCG levels predict pregnancy outcome after single vitrified-warmed blastocyst transfer. **Journal of Assisted Reproduction and Genetics**, New York, v. 31, p. 1175-1181, 2014.

USB. Clínica de ultra-sonografia. **Cordocentese**. 2016. Disponível em: <<http://www.usbipanema.com.br/site/uploads/noticias/arquivos/Cordocentese.pdf>>. Acesso em: 15 mar. 2016.

VISSERS, L. E. L. M. et al. Identification of disease genes by whole genome CGH arrays. **Human Molecular Genetics**, Nova Iorque, v. 14, n. 2, p. 215-223, nov. 2005.

WEBER, J. L.; WONG, C. Mutation of human short tandem repeats. **Human Molecular Genetics**, New York, v. 2, n. 8, p. 1123-1128, ago. 1993.

WIEACKER, P.; STEINHARD, J. The Prenatal Diagnosis of Genetic Diseases. **Deutsches Arzteblatt International**, Cologne, v. 107, n. 48, p. 857-862, dez. 2010.

WHO (WORLD HEALTH ORGANIZATION). **Services dor the prevention and management of genetic disorders and bithr defects in deceloping countries**. Geneva: WHO, 1999.

WRIGHT, C. F. et al. Non-invasive prenatal diagnostic test accuracy for fetal sex using cell-free DNA a review and meta-analysis. **Biomed Central Research Notes**, London, v. 5, p. 476, set. 2012.