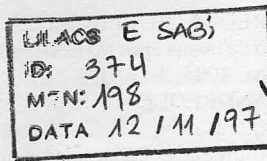


Medicina fetal: diagnóstico pré-natal



SINOPSE

Os autores apresentam uma revisão sobre a prática do diagnóstico pré-natal na medicina fetal hoje. Os métodos mais utilizados para o diagnóstico citogenético pré-natal, como a amniocentese, a coleta de vilosidades coriônicas e a amostragem de sangue fetal, são descritos e analisados quanto a sua eficácia e segurança para a gestante. São apresentadas também as novas abordagens utilizadas nesta área com objetivos diagnósticos e terapêuticos. A questão da triagem de populações para defeitos congênitos é discutida e problemas relativos aos custos, à utilidade e à ética no emprego desta tecnologia em nosso meio são levantados.

UNITERMOS: Diagnóstico pré-natal, Medicina fetal, Defeitos congênitos.

ABSTRACT

The authors present a review on fetal medicine as it is practiced nowadays. The means utilized for prenatal cytogenetic diagnosis, as amniocentesis, chorionic villus sampling and fetal blood sampling, are described and analyzed in terms of their efficacy and safety for pregnant women. New approaches used in this area with diagnostic and therapeutic purposes are presented. The screening of populations for birth defects is discussed and issues as costs, utility and ethics on employing this technology in our country are commented.

KEY WORDS: Prenatal diagnosis, Fetal medicine, Birth defects.

* Médico-Residente do Serviço de Ginecologia e Obstetria do Hospital de Clínicas de Porto Alegre.

** Médico-Residente do Serviço de Ginecologia e Obstetria do Hospital das Clínicas de Ribeirão Preto.

*** Médica-Residente da Unidade de Genética Médica do HCPA.

**** Médica da Unidade de Genética Médica do HCPA – Responsável pelo setor de Diagnóstico Pré-Natal.

***** Doutor em Medicina – Professor Adjunto do Departamento de Ginecologia e Obstetria da UFRGS.

Trabalho realizado no Hospital de Clínicas de Porto Alegre.

Endereço para correspondência:
Ricardo dos Santos Palma Dias
Rua Otampi 281
91770-580 – Porto Alegre – RS

RICARDO DOS SANTOS PALMA DIAS*
FABRÍCIO COSTA**
IDA VANESSA SCHWARTZ DOEDERLEIN***
MARIA TERESA SANSEVERINO****
JOSÉ ANTÔNIO DE AZEVEDO MAGALHÃES*****

INTRODUÇÃO

A medicina fetal é um ramo da obstetria em rápido desenvolvimento e que cada vez mais tem um caráter interdisciplinar, envolvendo praticamente todas as especialidades médicas e muitos profissionais da área técnico-laboratorial.

Neste artigo, procura-se dar uma visão geral da prática atual do diagnóstico pré-natal, parte fundamental deste novo campo que se abre na medicina.

TRIAGEM PRÉ-NATAL

Triagem de doenças congênitas

A identificação de gestações com alto risco para doenças genéticas deveria ser uma das preocupações de qualquer serviço de atendimento pré-natal (1). Esta triagem é baseada em dados obtidos durante a anamnese com o casal. São selecionados casos onde serão aplicadas técnicas diagnósticas de maior especificidade. Estes casos deverão ser encaminhados para serviços especializados em diagnóstico pré-natal (DPN). Além disso, a triagem possibilita a tranquilização dos casais com o mesmo risco para defeitos congênitos da população em geral, que é de 3 a 5% (2).

Triagem ultra-sonográfica de cromossomopatias

Uma triagem para risco aumentado de cromossomopatias denominado teste da translucência nucal pode ser realizado através da ultra-sonografia. Com a medida da espessura da nuca do feto entre 11 e 13 semanas de idade gestacional pode-se selecionar pacientes para exames invasivos como a biópsia de vilosidades coriônicas ou a amniocentese (3). Há um risco aumentado para trissomia do 21, 18 ou 13 se o resultado for superior a 3,00 mm. O exame não apresenta riscos para a gravidez e é indicado em pacientes com menos de 35 anos e que, portanto, tem baixo risco para cromossomopatias.

Triagem de defeitos do tubo neural no soro materno

A triagem em soro materno (SM) durante o segundo trimestre da gestação é um método não invasivo de detectar mulheres sob risco aumentado de estarem gerando um feto com defeitos do tubo neural (DTN) e cromossomopatias, além de outras patologias menos frequentes.

Os DTN constituem o segundo grupo mais comum de malformações fetais graves, ultrapassados somente pelas cardiopatias congênitas, atingindo nos Estados Unidos uma incidência de 1 a 2 para cada mil nascimentos (4), havendo variações geográficas e populacionais, podendo esta taxa atingir até 8: 1.000 em determinadas áreas. O DPN em soro materno para a detecção deste grupo de patologias começou a ser utilizado após o reconhecimento em 1972 da associação entre níveis elevados de alfa-fetoproteína no soro materno (AFP-SM) e presença de DTN como espinha bífida no feto (5). A base para esta associação é o fato de que quando o feto tiver algum defeito *aberto*, ou seja, não coberto por pele, a AFP passará através dos capilares fetais expostos para o líquido amniótico e daí para a circulação materna através da placenta. Estes estudos foram definitivamente comprovados pelo Estudo Colaborativo do Reino Unido, que em 1977 demonstrou a validade da utilização de uma triagem prospectiva de níveis de AFP para o diagnóstico precoce de DTN (6).

O seguimento das gestantes com valor de AFP-SM acima do limite aceito como normal detectará em torno de 85% dos casos de DTN da população triada. O diagnóstico de certeza é dado pela ultra-sonografia, que combinada com a AFP-SM detecta mais de 99% dos casos de anencefalia.

Nos casos em que um DTN é encontrado, o cariótipo fetal deve ser obtido e uma ecocardiografia fetal é recomendada antes de discutir-se o prognóstico. Em casos de espinha bífida, já estão bem demonstrados os benefícios da cesariana sobre o parto vaginal, por deixar o recém-nascido com uma melhor função neurológica (7).

Os defeitos de tubo neural são uma das poucas malformações que são passíveis de terapia preventiva. Um estudo recente, prospectivo, randomizado e controlado, demonstrou a redução em 72% da incidência destas malformações através da administração de 4 mg de ácido fólico por dia durante as quatro semanas pré-concepção e o primeiro trimestre da gestação (8). Atualmente, a suplementação pré-concepcional de ácido fólico deve ser recomendada a todas as pacientes com história prévia de defeitos do tubo neural para impedir a recorrência.

Alterações dos níveis de AFP-SM podem também estar associadas a outras anormalidades, como defeitos de parede ventral do feto, nefrose congênita, morte fetal, gestação múltipla entre outros.

Triagem de cromossomopatias no soro materno

Em 1984 foi pela primeira vez descrita a associação entre baixos níveis de AFP-SM e aneuploidia fetal. Observou-se uma diminuição de 25% dos níveis de AFP-SM em mulheres com fetos portadores de Síndrome de Down (SD) quando comparadas a gestantes não afetadas (9). A diferença na curva de distribuição dos valores de AFP-SM entre o grupo afetado e o não afetado foi considerada suficiente para permitir o seu uso como método de triagem quando associado a idade da mãe (10). Mais tarde foi demonstrado o aumento no nível sérico de hCG materno quando da presença de um conceito com SD (11). Em 1988 verificou-se também que mulheres gestando um feto com SD apresentam um nível sérico diminuído de estriol não-conjugado (E3) durante o segundo trimestre da gestação quando comparadas a gestações normais. Assim como no caso do AFP-SM, o E3 tem uma redução de cerca de 25% (12), o que torna o hCG o marcador bioquímico mais efetivo para a triagem da SD, já que sua elevação em gestações afetadas é de 2,5 vezes os valores dos grupos controle (11).

Utilizando-se um método estatístico para combinar a distribuição destes três marcadores com a idade materna, estimativas individuais de risco podem ser obtidas para mulheres de todas as idades. Indica-se amniocentese para realização de cariótipo para todas as mulheres que após o triplice diagnóstico apresentarem uma chance estatística acima de 1: 250 de ter um feto alterado. Ao utilizar-se este ponto de corte, identifica-se 67% das gestações afetadas por SD na população triada, com uma taxa de falso-positivos (mulheres que farão amniocentese apesar de estarem gestando um feto normal) de cerca de 5% (13). O ponto de corte foi estabelecido neste nível por ser o risco estimado de para gestantes com 37 anos ao termo.

Os marcadores séricos maternos não são exames diagnósticos, e sim permitem identificar pacientes com um risco aumentado para determinadas patologias (SD, DTN), indicando a necessidade de realização de exames mais específicos e invasivos como a amniocentese.

Mulheres com idade a partir de 35 anos ao termo já têm indicação formal de amniocentese para o diagnóstico de cromossomopatias e portanto não são objeto da triagem. A importância da detecção da Síndrome de Down no grupo de mães com idade inferior a 35 anos fica clara quando observa-se que, apesar de terem uma incidência menor da doença em termos individuais, respondem por aproximadamente 69% do total de afetados da população em geral, já que é nesta idade que ocorrem a maior parte das gestações (14).

Outras vantagens do método incluem o fato de através dele ser também possível detectar um maior risco para trissomia do cromossomo 18, onde os valores dos três marcadores estão substancialmente diminuídos (15), trissomia do cromossomo 13 e Síndrome de Turner. Nos Estados Unidos, somente durante o ano de 1992, quase 2 milhões de gestantes realizaram este exame (16).

As desvantagens do método incluem o fato de expressar resultados em termos de estimativas de risco, conceito que não é bem compreendido por indivíduos de baixo nível sócio-cultural, podendo suscitar falsos temores. Além disso, é essencial para a indicação racional da amniocentese que todos os casos considerados como positivos tenham a idade gestacional confirmada por ultra-sonografia, tendo em vista que, se a idade gestacional for superestimada, o teste inicial tenderá a ser positivo (17).

Idealmente, a idade gestacional deverá ser confirmada por uma medida cabeça-nádega ou diâmetro biparietal antes de seu tríplice diagnóstico ser interpretado. É importante que estimativas de idade gestacional que incluam a medida do fêmur não sejam utilizadas, pois os fetos com Síndrome de Down têm os ossos longos encurtados durante o segundo trimestre. Na prática, estas precauções traduzem-se por uma diminuição nas indicações da amniocentese e, portanto, dos custos, bem como por um aumento na sensibilidade e especificidade do método (18).

INDICAÇÕES DE DPN

Os fatores de risco para anomalias congênitas constituem as principais indicações para DPN (tabela 1).

As técnicas de DPN existem tanto para detectar quanto para afastar a presença de anomalias fetais. Ao mesmo tempo em que é fornecida ao casal a oportunidade de decidir sobre o futuro de sua gestação, também é possibilitada uma gestação mais tranqüila, livre dos temores do nascimento de uma criança anormal, considerando-se que em

TABELA 1 – Indicações de diagnóstico pré-natal

- Idade materna maior ou igual a 35 anos na época da concepção: fator de risco para anomalia cromossômica numérica. É a indicação mais freqüente de amniocentese.
- Concentração elevada de alfa-fetoproteína no soro materno: fator de risco para defeito de fechamento do tubo neural e de parede abdominal.
- Concentração reduzida de alfa-fetoproteína no soro materno: fator de risco para trissomia dos cromossomos 21, 18 e 13.
- Gestação prévia com anomalia cromossômica estrutural ou numérica.
- Natimorto ou neomorto prévio.
- Anomalia cromossômica estrutural materna ou paterna.
- História familiar de fibrose cística, erro inato do metabolismo, doenças ligadas ao X.
- Doença materna: diabete melito, fenilcetonúria, rubéola, toxoplasmose e citomegalovírus.
- Exposição a teratôgeno: radiação ionizante, anticonvulsivante, lítio, vitamina A, álcool.
- Descendentes de franco-canadenses ou Judeus Ashkenazi: fator de risco para Doença de Tay-Sachs.
- Descendentes de negros africanos, povos mediterrâneos, árabes, indianos e paquistaneses: fator de risco para anemia falciforme.
- Descendentes de povos mediterrâneos e asiáticos: fator de risco para alfa e beta-talassemia.

98% dos casos nos quais há indicação de DPN não são encontradas anomalias ao exame (19) e a maioria das gestações acabam chegando ao termo. A consideração do aborto não é, portanto, condição essencial para a realização do DPN (20). A única condição imprescindível para a sua realização é a concordância do casal em participar do exame. O DPN deve ser uma escolha e não uma imposição (21).

MÉTODOS DE DIAGNÓSTICO PRÉ-NATAL

Ultra-sonografia

O rápido desenvolvimento da ultra-sonografia (US) possibilitou uma comunicação direta com o feto que somente há duas décadas atrás era inimaginável (22). O exame em tempo real, com definição bem superior ao exame estático, transformou a US em importante método para o diagnóstico pré-natal de anomalias fetais. Isto permitiu que algumas malformações passassem a ser detectadas por US de rotina no início do segundo trimestre da gestação. Os avanços da US possibilitaram também a realização de procedimentos com riscos de dano fetal bastante diminuídos.

Diversos estudos já foram realizados com a finalidade de detectar possíveis riscos para os fetos expostos à US (23,24). Um estudo isolado relacionou a exposição repetida do feto à US com alterações fetais, principalmente baixo peso (25). Este estudo foi posteriormente contestado por pesquisas que não evidenciaram prejuízo ao desenvolvimento fetal em decorrência da US (26).

O exame detalhado para diagnóstico de anomalias fetais, ou US de nível III, não é rotineiramente realizado (26). Este procedimento é indicado somente para gestantes com alto risco de malformações congênitas. A US de nível III possibilita a análise de 37 aspectos específicos do feto, com duração de aproximadamente uma hora. Algumas alterações podem estender o tempo do exame, podendo ser também indicado um estudo seriado do feto (26).

Amniocentese

A amniocentese consite no processo de obtenção de líquido amniótico através de punção com agulha fina guiada por US. Com a finalidade de diagnóstico genético, foi utilizada pela primeira vez na década de 1960 (27). Atualmente é um procedimento rotineiramente realizado em centros em todo o mundo, com aplicação principal no diagnóstico pré-natal.

A amniocentese tradicional é realizada entre 15 e 16 semanas de gestação. Neste período o útero é facilmente acessível pela via transabdominal e existe um volume suficiente de LA para permitir a retirada de 20-30 ml necessários para a realização dos exames laboratoriais.

Uma US deve ser realizada antes da punção para estabelecer a vitalidade fetal, confirmação da idade gestacional, número de fetos presentes, localização da placenta, verificação do volume de LA e a presença de alguma alteração que possa dificultar ou impedir o procedimento. Em seguida, o procedimento é realizado com monitorização ultra-sonográfica contínua para visualização direta da agulha, que geralmente é a mesma utilizada para a punção lombar (20 ou 22 G) (28). Através da amniocentese podemos obter células fetais presentes no LA para realizar análise citogenética, enzimática ou molecular com estudo do DNA fetal.

A dificuldade na obtenção de LA é mais comumente devido à dificuldade de penetração da agulha na cavidade amniótica, o que é mais freqüente em amniocenteses realizadas antes de 14 semanas de idade gestacional (28).

A segurança da amniocentese foi assegurada através de grandes estudos colaborativos. O primeiro grande estudo foi realizado pelo Institute of Health and Child Development com 1.040 casos e 992 controles (29). De todas as mulheres que se submeteram à amniocentese, 3,5% tiveram perdas entre o procedimento e o termo, comparado com 3,2% dos controles, não sendo esta diferença estatisticamente significativa.

Outros grandes estudos semelhantes ao anterior foram realizados no Canadá (30), Reino Unido (31) e Dinamarca (32). Todos concluíram que a amniocentese para diagnóstico genético é um procedimento seguro; não há aumento significativo de risco para a evolução da gravidez.

A amniocentese pode envolver um risco potencial para a mãe e para o feto, incluindo amnionite (0,1%), hemorragia, spotting, perda de LA (2-3%), oligodrâmnio e desencadeamento de contrações uterinas (30). Os riscos para o feto incluem abortamento, dano direto pela punção, descolamento da placenta, corioamnionite, parto prematuro e dano devido à retirada do LA (bridas amnióticas).

Considerando-se todos os dados existentes, atribui-se um risco de 0,5% de dano à gestação na qual é realizada amniocentese para estudo genético. O risco do procedimento depende diretamente da experiência do obstetra, das características da gestação estudada, da qualidade do equipamento de US utilizado e do número de inserções da agulha durante o procedimento (33).

Amniocentese precoce

A amniocentese precoce (AP) é realizada de maneira semelhante à amniocentese tradicional, mas com idade gestacional variando entre 9 e 14 semanas, com retirada de uma quantidade menor de LA (1 ml para cada semana de idade gestacional) e com a vantagem de oferecer um diagnóstico de anormalidades fetais em uma etapa mais precoce da gestação quando comparada à amniocentese tradicional (33).

Em um recente estudo prospectivo (34), comparando os resultados da AP com a biópsia de vilosidades coriais (BVC), demonstrou-se que a taxa de sucesso dos dois procedimentos não é diferente. Entretanto, a taxa de abortamento no grupo da AP (5,3%) foi significativamente maior do que a do grupo submetido à BVC (2,3%). Outros estudos, com menor número de pacientes não encontraram diferenças nos resultados dos dois procedimentos (35,36).

Baseando-se nos estudos disponíveis hoje, ainda não podemos considerar a AP como um procedimento comparável à BVC e à amniocentese tradicional em termos de risco para a gestação, mas sem dúvida constitui-se em uma nova opção quando buscamos uma avaliação citogenética precoce (37).

Biópsia de vilosidades coriais

A biópsia de vilosidades coriais (BVC) é um método de diagnóstico pré-natal realizado no primeiro trimestre da gestação. O desenvolvimento deste método ocorreu quase que simultaneamente ao da amniocentese de segundo trimestre. As primeiras tentativas foram feitas em 1968 na Escandinávia com o propósito de fazer-se biópsias de tecidos fetais por via transvaginal e transcervical (38). Procedimentos para BVC foram inicialmente realizados em mulheres com idade gestacional entre 8 e 20 semanas, mas logo ficou claro que o período ideal para o procedimento situava-se entre 9 e 11 semanas (39).

A chave para o sucesso da BVC foi a utilização da ultra-sonografia para guiar os procedimentos, o que foi primeiramente feito na União Soviética (40) e depois também na Inglaterra (41) e Estados Unidos (42). A ampla aceitação do método por parte dos obstetras e pacientes seguiu-se a estes novos resultados derivados do auxílio do método de imagem. Por volta de 1992, mais de 80 mil casos de BVC já haviam sido documentados, permitindo assim uma análise objetiva das indicações, riscos, vantagens e limitações do procedimento (43).

Entre 9 e 11 semanas de gestação, período ideal para a realização da BVC, o saco amniótico ainda não preenche totalmente a cavidade uterina e o córion começa a diferenciar-se no córion frondoso, tecido viloso com grande atividade mitótica que é o sítio da biópsia. Antes da coleta do material, um estudo ultra-sonográfico do útero deve ser feito, obtendo-se detalhes da anatomia do feto, da placenta e do cordão umbilical. A BVC não deve ser feita antes de 9 semanas de gestação pela dificuldade de identificar-se a inserção do cordão umbilical (44).

Existem duas alternativas de acesso ao córion: a via transcervical e a via transabdominal. No caso da via transcervical, a paciente é colocada na posição de litotomia e a vulva e a vagina são preparadas com uma solução asséptica. Um cateter de polietileno com guia obturadora é introduzido através da cérvix uterina, até que seja iden-

tificado na endocérvice pela ultrasonografia e possa ser dirigido até o local da biópsia no centro do córion. A guia obturadora é então removida e adapta-se uma seringa contendo meio de cultura, aplicando-se pressão negativa. O cateter e a seringa são puxados de volta através do córion para obter-se a amostra.

No caso da abordagem transabdominal, usa-se uma agulha fina com guia obturadora acoplada a um transdutor, que é inserida em uma via pré-selecionada através da US. Em seguida, remove-se a guia obturadora e adapta-se uma seringa, na qual é aplicada pressão negativa à medida que é movida repetidamente para frente e para trás para coletar o material. Depois de vários movimentos repetidos, a agulha é removida do abdômen.

A inspeção do líquido contido na seringa deve revelar a presença dos vilos: pequenos fragmentos de tecido pálido e ramificado. O conteúdo deve ser assepticamente colocado em uma placa de petri, examinado e mandado a um laboratório de citogenética para cultura e análise. Se a quantidade for considerada insuficiente (menos de 10 mg de tecido úmido), mais duas tentativas podem ser feitas. O aumento do número de inserções da agulha parece aumentar o risco de complicações. A paciente deverá evitar esforços físicos, natação ou banhos de imersão por 24 horas após o procedimento (45).

Os resultados do exame podem ser obtidos em algumas horas, mas as amostras permanecem em cultura geralmente de 5 a 8 dias, o que constitui-se na grande vantagem do método. Existem riscos de contaminação durante este processo que respondem por parte das falhas do método assim como no caso da amniocentese.

A segurança da BVC tem sido bastante discutida, principalmente a possibilidade de que tenha efeitos teratogênicos quando realizada antes de 9 semanas, levando a defeitos de redução de membros (46). A maioria dos centros tem taxas de perda fetal relacionada com o procedimento inferiores a 2% (47). O ligeiro aumento do risco da BVC quando comparada à amniocentese, verificado em alguns estudos, parece ser devido a diferença na idade gestacional na qual é realizado o procedimento, já que espera-se uma maior taxa de perdas espontâneas em uma fase mais inicial da gestação (48). Estudos comparativos mais recentes e melhor controlados demonstraram ser a BVC tão segura quanto a amniocentese, bem como não existir diferença nas taxas de risco para a abordagem transcervical e a transabdominal (49).

Amostragem de sangue fetal

O uso da amostragem diagnóstica de sangue fetal tornou-se mais comum na segunda metade da década de 80, após os relatos de Daffos et al. (50), que descreveram o seu sucesso com a técnica na qual é obtido sangue fetal a partir do cordão umbilical através de monitorização ultrasonográfica contínua. A possibilidade de acessar-se o san-

gue fetal melhorou a prática obstétrica e permitiu o desenvolvimento da medicina fetal. O local preferido para a obtenção destas amostras é a raiz placentária do cordão umbilical, devido a sua boa fixação e pouca mobilidade.

As indicações para a coleta do sangue fetal com objetivos de diagnóstico pré-natal são várias: necessidade de cariótipo rápido, aloimunizações, infecções fetais, doenças hereditárias e avaliação do bem-estar fetal. As indicações terapêuticas incluem transfusão de hemácias, infusão de drogas e num futuro próximo a transferência de células com vistas à terapia gênica.

O manejo das aloimunizações mudou radicalmente com a amostragem do sangue fetal: hoje as decisões podem ser tomadas em caráter mais objetivo, medindo-se o hematócrito, hemoglobina, grupo sanguíneo, teste de Coombs, título das imunoglobulinas e contagem de reticulócitos do feto (51).

A cordocentese pode ser feita de maneira segura a partir de 18 semanas de gestação, mas procedimentos com até 12 semanas já foram relatados (52, 53). Uma cuidadosa revisão da anatomia fetal e dos seus anexos deve ser feita antes do procedimento, que é realizado ambulatorialmente. Em casos de procedimentos mais complicados, principalmente os que envolvem a transfusão de sangue, é aconselhável a sedação da mãe com benzodiazepínicos. O feto deve ter seus movimentos bloqueados com pancurônio, o que aumenta a segurança nos procedimentos mais delicados e não acarreta riscos adicionais (54). A grande maioria das intervenções feitas por profissionais experientes não ultrapassa 10 minutos de duração.

Utiliza-se para o procedimento uma agulha longa e fina, que é inserida através do abdômen da paciente e é direcionada com o auxílio da ultra-sonografia ao local da punção, que é variável. Em casos de dificuldade de visualização da raiz de implantação do cordão umbilical na placenta, outros pontos podem ser utilizados, o que aumenta a dificuldade técnica do procedimento. Outra alternativa inclui a coleta de sangue fetal por via intracárdica, mas esta deve ser utilizada somente em último caso (55). Uma amostra de 3 a 4 ml é suficiente para as diversas análises, e esta quantidade pode ser retirada com segurança após as 17 semanas de gestação. Se o sangue coletado for levado diretamente para o laboratório não é necessário o uso de anticoagulantes.

Complicações maternas incluem o risco de infecção e de sensibilização Rh se a gestante for Rh negativa. O risco de abortamento é de aproximadamente 1% (56, 57). Outros riscos para o feto incluem ruptura prematura de membranas, trabalho de parto prematuro, hemorragia e trombose do cordão umbilical. A bradicardia fetal ocorre em aproximadamente 7% dos casos (58,59) e reposicionamento da mãe e oferta de oxigênio podem ser necessários. Os riscos fetais aumentam de quatro a cinco vezes quando realiza-se de transfusão intravascular fetal. Emprega-se a imunoglobulina anti-RhOD humana para a prevenção da doença hemolítica.

Biópsia de tecidos fetais

Em alguns casos de doenças congênitas, o diagnóstico pré-natal não pode ser feito através da coleta de células do líquido amniótico ou de vilosidades coriais, já que estas células não se prestam à realização de determinadas análises específicas necessárias ao diagnóstico das patologias em questão. Portanto, métodos diagnósticos invasivos foram desenvolvidos para a biópsia de tecidos fetais, especialmente de pele, tecido hepático e muscular. O número de patologias que exigem este tipo de abordagem tende a diminuir consideravelmente no futuro, com o crescimento da disponibilidade de análise DNA-específica para cada doença ou de ensaios enzimáticos que possam ser feitos mesmo em células do LA ou em vilosidades coriais (60).

Outras técnicas invasivas de diagnóstico pré-natal, como a biópsia renal, podem tomar-se realidade em um futuro próximo. Além disso, pesquisas em desenvolvimento em modelo animal sobre transplante de células precursoras do sistema hematopoiético poderão permitir que a biópsia de fígado fetal venha a ter uma aplicação terapêutica, como veículo de transferência de genes (61, 62).

NOVOS RUMOS DO DIAGNÓSTICO PRÉ-NATAL

Diagnóstico pré-implantação

A biópsia de tecido embrionário pré-implantação oferece aos casais com grande risco de terem filhos afetados por uma doença genética a possibilidade de diagnóstico pré-natal destas condições sem a necessidade de um procedimento no segundo trimestre de gestação que lhes dará um resultado somente uma a cinco semanas depois de realizado. Evita-se também assim a questão da interrupção da gestação em um período já adiantado de evolução, com suas implicações médicas, legais e morais. Nesta técnica, células embrionárias são colhidas do embrião logo após a fertilização *in vitro*. Esta célula é então analisada para a doença em questão e somente embriões sadios são transferidos para a cavidade uterina ou trompas de Falópio, conforme o protocolo em questão. O procedimento mais utilizado tem sido a remoção de um único blastômero do embrião no estágio entre 4 e 8 células, com posterior cultura e análise.

Muitos estudos em animais têm sido feitos para permitir o avanço desta técnica, que ainda possui muitos pontos controversos nos campos ético e econômico. Ainda assim, várias descrições de sucesso no diagnóstico pré-implantação já foram relatadas, especialmente na determinação do sexo dos embriões em casos de doenças graves ligadas ao sexo, como a adrenoleucodistrofia (63). O diagnóstico de doenças gênicas como distrofia muscular Duchenne, anemia falciforme e fibrose cística também já

foi realizado com sucesso através da utilização deste método (64, 65).

Uso de células fetais da circulação materna

Todas as técnicas de diagnóstico pré-natal possuem um risco, ainda que pequeno, relacionado ao procedimento. Seria de grande importância, portanto, a viabilização de uma técnica livre de complicações e que pudesse ser oferecida a um grande número de mulheres. Uma das técnicas que vem sendo investigada para isso é o uso de células fetais presentes na circulação materna, que seriam fonte de material para cultura celular e posterior utilização na cariotipagem do feto. A presença destas células na circulação materna já é conhecida há muito tempo (66). Entretanto, apenas mais recentemente o avanço tecnológico permitiu o seu uso experimental com este propósito. Os passos a serem seguidos incluem a diferenciação das células fetais das maternas, o seu cultivo e posteriormente a análise, utilizando-se técnicas de PCR e hibridização *in situ* (FISH). Entretanto, muitos problemas de ordem operacional, bem como estimativas da sensibilidade e de custos deste tipo de exame, ainda não foram esclarecidos e deve demorar até que este método se torne realidade (67).

ACONSELHAMENTO GENÉTICO EM DPN

Segundo Opitz (68), o AG é o conjunto das atividades profissionais que ajudam e apóiam os pacientes, desde o momento da averiguação e do processo diagnóstico até a ocasião em que se apresentam ao casal e seus parentes, da maneira mais eficiente e confortadora, as conclusões clínicas, prognósticas, terapêuticas e genéticas: procura-se conseguir a colaboração dos pacientes para o exame das consequências e opções referentes à terapêutica e à reprodução, proporcionando-lhes então o apoio necessário à obtenção dos meios para realizar suas decisões.

O aconselhamento genético (AG) e o diagnóstico pré-natal são atividades inter-relacionadas. É possível aconselhar sem que seja feito uso associado de técnicas de DPN, mas, por outro lado, o uso destas técnicas de forma isolada não é justificado. Deve ficar claro, portanto, que o DPN faz parte do processo de aconselhamento e que sua função é a de transformar um risco empírico oriundo da anamnese e exame físico em um risco mais próximo da realidade para aquela gestação em particular, bem como permitir uma intervenção pré-natal mais precoce, tanto terapêutica quanto psicológica.

O AG deve, pois, ser iniciado no período pré-concepcional. O início nesta fase permite a utilização da técnica diagnóstica mais adequada, a opção pela interrupção precoce da gestação e a avaliação mais objetiva por parte dos pais sobre a sua situação. A informação deve sempre ser clara e verdadeira (69). Deve ser mencionado

o fato de que um resultado normal nos exames realizados não assegura o nascimento de uma criança perfeita. Este exame normal demonstrará apenas que a criança tem um risco mínimo ou inexistente de nascer com a doença para a qual foi testada.

CONCLUSÃO

A realização do DPN traz consigo o surgimento de várias questões éticas, a maioria delas relacionadas a uma de suas conseqüências: o aborto eletivo de fetos malformados. Como já foi exposto, os benefícios advindos do aconselhamento genético associado às técnicas de DPN, mesmo em países onde o aborto não é legalizado, são inúmeros. Para os autores, a idéia de DPN deveria ser um pouco mais desvinculada da idéia de aborto eugênico e, ao mesmo tempo, associada às idéias de terapêutica intra-útero e aconselhamento genético, que são na realidade os seus principais objetivos.

Outra questão a ser discutida diz respeito aos impactos da prática do DPN na população a longo prazo. Com a realização destes procedimentos em larga escala, é esperada uma redução na incidência de doenças autossômicas recessivas graves. Entretanto, haveria um aumento da frequência dos genes relacionados à transmissão destas doenças devido ao aumento relativo dos portadores heterozigotos. Isto geraria um círculo vicioso cuja tendência seria aumentar o número de conceitos afetados e, conseqüentemente, a demanda por DPN.

O DPN é um direito de todos os casais, sendo sua execução factível mesmo em países em desenvolvimento. Contudo, para que isso se viabilize, é necessário um investimento planejado na formação de profissionais capacitados em centros terciários que estejam inseridos em um sistema de saúde baseado na referência e contra-referência.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ANNAS GJ, ELIAS S. Legal and ethical implications of fetal diagnosis and gene therapy. *Am J Med Genet* 1990; 35: 215-8.
- KALTER H, WARKANY J. Congenital malformations: etiologic factors and their role in prevention. *NEJM* 1983; 308: 424-31.
- NICOLAIDES KH, AZAR G, BYRNE D, MANSUR C, MARKS K. Fetal nuchal translucency. Ultrasound screening for chromosomal defects in first trimester of pregnancy. *Br Med J* 1992; 304: 867-9.
- HOLMES LB, DRISCOLL SG, ATKINS L. Etiologic heterogeneity of neural-tube defects. *N Engl J Med* 1976; 294: 365-9.
- BROCK DJH, SUTCLIFFE RG. Alpha-fetoprotein in the antenatal diagnosis of anencephaly and spina bifida. *Lancet* 1972; 2: 197-9.
- Report of the UK Collaborative Study on Alpha-Fetoprotein in Relation to Neural Tube Defects: Maternal serum alpha-fetoprotein measurement in antenatal screening for anencephaly and spina bifida in early pregnancy. *Lancet* 1977; 2: 1323-32.
- LUTHY DA, WARDINSKY T, SHURTLEFF R. Cesarean section before the onset of labor and subsequent motor function

- in infants with meningomyelocele diagnosed antenatally. *N Engl J Med* 1991; 324: 662-6.
- Prevention of neural-tube defects: Results of the Medical Research Council Vitamin Study. *Lancet* 1991; 338:131-7.
- MERKATZ IR, NITOWSKY IIM, MAERI JN, JOHNSON WE. An association between low maternal serum alpha-fetoprotein and fetal chromosome abnormalities. *Am J Obstet Gynecol* 1984; 148: 886-94.
- CUCKEL HS, WALD NJ, LINDENBAUM RH. Maternal serum alpha-fetoprotein measurement. A screening test for Down's syndrome. *Lancet* 1984; 1: 926.
- BOGART MH, PANDIAN MR, JONES OW. Abnormal maternal serum gonadotropin levels in pregnancies with fetal chromosome abnormalities. *Prenat Diagn* 1987; 7: 623-30.
- CANICK JA, KNIGHT GJ, PALOMAKI GE, HADDOW JE, CUCKLE HS, WALD NJ. Low second trimester maternal serum unconjugated oestriol in pregnancies with Down's syndrome. *Br J Obstet Gynecol* 1988; 95: 330-33.
- PHILLIPS OP, ELIAS S, SHULMAN LP, ANDERSEN RN, MORGAN CD, SIMPSON JL. Maternal serum screening for fetal Down syndrome in women less than 35 years of age using alpha-fetoprotein, hCG and unconjugated estriol: a prospective 2 year study. *Obstet Gynecol* 1992; 80: 353-8.
- HADDOW JE, PALOMAKI GE, WALD NJ, CUCKLE HS. Maternal serum alphafetoprotein screening for Down syndrome and repeat testing. *Lancet* 1986; 2: 1460.
- CANICK JA, PALOMAKI GE, OSATHANONDH R. Prenatal screening for trisomy 18 in the second trimester. *Prenat Diagn* 1990; 10: 546-8.
- PALOMAKI GE, KNIGHT GJ, MCCARTHY J, HADDOW JE, ECKFELDT JH. Maternal serum screening for fetal Down syndrome in the United States: a 1992 survey. *Am J Obstet Gynecol* 1993; 169: 1558-63.
- HADDOW JE, PALOMAKI GE. Prenatal screening for Down syndrome. In: Simpson JL, Elias S, eds. *Essentials of prenatal diagnosis*. New York: Churchill-Livingstone, 1993: 185-219.
- LOCKWOOD C, BENACERRAF B, KRINSKY A. A sonographic screening method for Down syndrome. *Am J Obstet Gynecol* 1987; 157: 803-8.
- THOMPSON HW, MC INNES H, WILLARD HF. *Genética Médica*. Trad. Márcio Moacir de Vasconcelos. 5a. edição. Rio de Janeiro: Editora Guanabara-Koogan, 1993.
- CLARK S, DE VORE G. Prenatal diagnosis for couples who would not consider abortion. *Obstet Gynecol* 1989; 73 (6): 1035-7.
- JOHNSON SR, ELKINS TE. Ethical issues in prenatal diagnosis. *Clin Obstet Gynecol* 1988; 31 (2): 408-17.
- SANDERS RL, JAMES AE. *Princípios e prática da ultrasonografia em obstetria e ginecologia*. Trad. Maria Regina de Almeida. 3a. edição. São Paulo. Editora Appleton-Century-Crofts, 1991.
- PERSSON PH, KULLANDER S. Long-term experience of general ultrasound screening in pregnancy. *Am J Obstet Gynecol* 1983; 146 (8): 942-7.
- SABBAGHA RE, SHEIKH Z, TAMURA RK, DAL COMPO S, SIMPSON JL, DEPP R ET AL. Predictive value, sensitivity and specificity of ultrasonic targeted imaging for fetal anomalies in gravid women at high risk for birth defects. *Am J Obstet Gynecol* 1985; 152 (7): 822-7.
- NEWHAM JP, EVANS SF, MICHAEL CA, STANLEY FJ, LANDAU LI. Effects of frequent ultrasound during pregnancy: a randomized controlled trial. *Lancet* 1993; 342: 887-91.
- SABBAGHA RE. Ultrasound diagnosis of fetal structural anomalies. In: Simpson JL, Elias S, eds. *Essentials of prenatal diagnosis*. New York: Editora Churchill. Livingstone, 1993: 91-138.

- ROMERO R, PUPKIN M, OYARGUN B, AVILA C, MORETTI M. Amniocentesis. In: *Ultrasonography in Obstetrics and Gynecology*, 1991.
- HANSON FW, TENNANT FR, ZORN EM, STEVEN S. Analysis of 2136 genetic amniocentesis: experience of a single physician. *Am J Obstet Gynecol* 1985; 152. (4): 436-43.
- NICHD National Registry for Amniocentesis Study Group: midtrimester amniocentesis for prenatal diagnosis: safety and accuracy. *Am J Med Assoc* 1976; 236: 1471.
- SIMPSON NE, DALLAIRE L, MILLER JR. Prenatal diagnosis of genetic disease in Canada: report of a collaborative study. *Can Med Assoc J* 1976; 15: 739.
- United Kingdom Medical Research Council Working Party of Amniocentesis: an assessment of the hazards of amniocentesis. *Br J Obstet Gynaecol* 1978; 85 (suppl.2): 1.
- TABOR A, PHILIP J, MADSEN ME. Randomized controlled trial of genetic amniocentesis in 4606 low-risk women. *Lancet* 1986; 1: 1287.
- ELIAS S, SIMPSON JL. Amniocentesis. In: Simpson JL, Elias S, eds. *Essentials of prenatal diagnosis*. New York: Churchill-Livingstone, 1993: 27-U.
- NICOLAIDES K, BRIZOT ML, PATEL F, SNIJDERS R. Comparison of chorionic villus sampling and amniocentesis for fetal karyotyping at 11-13 weeks gestation. *Lancet* 1994; 3U (8920): 435-9.
- SHULMAN LP, ELIAS S, PHILLIPS OP, GREEVENGOOD C, DUNGAN JS, SIMPSON JL. Amniocentesis performed at 14 weeks gestations or earlier: comparison with first-trimester transabdominal chorionic villus sampling. *Obstet Gynecol* 1994; 83 (4): 5434.
- CRANDALL BF, KULCH P, TABSH K. Risk assessment of amniocentesis between 11 and 15 weeks: comparison to later amniocentesis controls. *Prenat Diagn* 1994; 14 (10): 913-9.
- BYRNE P, MARKS K, AZAR G, NICOLAIDES K. Randomized study of early amniocentesis versus CVS: a technical and cytogenetic comparison of 650 patients. *Ultrasound Obstet Gynecol* 1991; 1: 23540.
- MOHR J. Foetal genetic diagnosis. development for techniques for early sampling of foetal cells. *Acta Pathol Microbiol Scand* 1968; 73: 73.
- HAHNEMANN N, MOHR J. Antenatal foetal diagnosis in genetic diseases. *Bull Eur Soc Hum Genet* 1969; 3: 47.
- KAZY Z, STYGAR AM, BAKHAREV AVA. Chorionic biopsy under immediate realtime ultrasonic control. *Prev-Hetil* 1980; 121: 2765.
- WARD RHT, MODELL B, PERTOU M. A method of chorionic villus sampling in the first trimester of pregnancy under real-time ultrasonic guidance. *Br Med J* 1983; 286: 1542.
- JACKSON LG, WAPNER RJ, BARR MA. Safety of chorionic villus sampling. *Lancet* 1986; 1: 674.
- JACKSON L, WAPNER RJ. Chorionic villus sampling. In: Simpson JL, Elias S, eds. *Essentials of prenatal diagnosis*. New York: Churchill-Livingstone, 1993: 4561.
- BRAMBATI B, TULUI L, SIMONI G, TRAVI M. Prenatal diagnosis at 6 weeks. *Lancet* 1988; 2: 397.
- BRAMBATI B, OLDRINI A, LANZANI A. Transabdominal chorion villus sampling. a freehand ultrasound guide technique. *Am J Obstet Gynecol* 1987; 157: 134.
- BURTON BK, SCHULZ CJ, BURD L. Limb anomalies associated with chorionic villus sampling. *Obstet Gynecol* 1992; 79: 726.
- AGER RP, OLIVER RWA. The risks of midtrimester amniocentesis. University of Salford, Salford, England, 1986.

- MRC-UK: MRC European trial of CVS. *Lancet* 1991; 337: 1491.
- JACKSON LG. A randomized comparison of transcervical and transabdominal chorion villus sampling. *N Eng J Med* 1992; 327: 594.
- DAFFOS F, FORESTIER F, CAPELLA-POVOLSKI M. Fetal blood sampling via the umbilical cord using a needle guided by ultrasound. A report of 66 cases. *Prenat Diagn* 1983; 3: 271.
- NICOLAIDES KH, CLEWEL WH, RODECK CH. Measurement of fetoplacental blood volume in erythroblastosis fetalis. *Am j Obstet Gynecol* 1987; 157: 50.
- ORLANDI F, DAMIANI G, JAKIL C. The risks of early cordocentesis (12-21 weeks). Analysis of 500 procedures. *Prenat Diagn* 1990; 10: 93.
- ORLANDI F, DAMIANI G, JAKIL C. Clinical results and fetal biochemical data on 140 early second trimester diagnostic cordocentesis. *Acta Eur Fertil* 1987; 18: 329.
- MOISE KJ, DETER RL, KISHON B. Intravenous pancuronium bromide for fetal neuromuscular blockade during intrauterine transfusion for red cell alloimmunization. *Obstet Gynecol* 1989; 74 (6): 905.
- WESTGREEN M, SELBING A, STAGENBERG M. Fetal intracardiac transfusions in patients with severe rhesus isoimmunization. *Br Med J* 1988; 296: 885.
- DAFFOS F, FORESTIER F, KAPLAN C, COX W. Prenatal diagnosis and management of bleeding disorders with fetal blood sampling. *Am J Obstet Gynecol* 1988; 158: 939.
- LUDOMIRSKI A. North American P.U.B.S. Registry 1986-91: S.P.O. Abstract, San Francisco, Feb 1993.
- WEINER CP. The role of cordocentesis in fetal diagnosis. *Clin Obstet Gynecol* 1988; 32: 285.
- DAFFOS F. Fetal blood sampling. *Annu Rev Med* 1989; 40: 913.
- RODECK CH, NICOLAIDES KH. Fetoscopy and fetal tissue sampling. *Br Med Bull* 1983; 39: 332-7.
- EVANS MI, GREB A, KUNKEL LM. In utero fetal muscle biopsy for the diagnosis of Duchenne muscular dystrophy. *Am J Obstet Gynecol* 1991; 165: 728-32.
- CLAPP DW, DUMENCO LL, HATZOGHOU M, GERSON SL. Fetal liver hematopoietic stem cells as a target for in utero retroviral gene transfer. *Blood* 1991; 78: 1132-9.
- HANDYSIDE AH, KONTOGIANNI EH, HARDY K, WINSTON RML. Pregnancies from biopsied human preimplantation embryos sexd by Y-specific DNA amplification. *Nature* 1990; 344: 768-70.
- HANDYSIDE AH, LESKO JG, TARIN JJ, WINSTON RML, HUGHES MR. Birth of a normal girl after in vitro fertilization and preimplantation diagnostic testing for cystic fibrosis. *N Engl J Med* 1992; 327: 905-9.
- MONK M, KENEALY MR, MOHADJERANI S. Detection of both Fe normal and Fe mutant alleles in single cells of individuals heterozygous for the sickle cell mutation - Prelude to preimplantation diagnosis. *Prenat Diagn* 1993; 13: 45-53.
- GOODFELLOW CF, TAYLOR PV. Extraction and identification of trophoblast cells circulating in peripheral blood during pregnancies. *Br J Obstet Gynaecol* 1982; 89: 65-8.
- CHUEH J, GOLBUS MS. Prenatal diagnosis using fetal cells from Fe maternal circulation. *West J Med* 1993; 159: 308-11.
- OPITZ JM. Tópicos recentes de genética médica. *Revista Brasileira de Genética* 1984; 213.
- HARPER PS. Prenatal diagnosis. In: Harper PS. *Practical genetic counseling*. Cambridge: Butterworth-Heinemann, 1993: 104-22.