

UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS
FACULDADE DE MEDICINA

**ESTUDO COMPARATIVO DA PREDIÇÃO DA ANEMIA EM
FETOS TRANSFUNDIDOS PELOS MÉTODOS DO
ÍNDICE CARDIOFEMORAL E PICO DA VELOCIDADE
SISTÓLICA DA ARTÉRIA CEREBRAL MÉDIA**

MARINA MAGALHÃES LINS VICTÓRIA MARIZ

Belo Horizonte

2013

MARINA MAGALHÃES LINS VICTÓRIA MARIZ

**ESTUDO COMPARATIVO DA PREDIÇÃO DA ANEMIA EM
FETOS TRANSFUNDIDOS PELOS MÉTODOS DO
ÍNDICE CARDIOFEMORAL E PICO DA VELOCIDADE
SISTÓLICA DA ARTÉRIA CEREBRAL MÉDIA**

Dissertação apresentada ao curso de Pós-Graduação em Saúde da Mulher da Faculdade de Medicina da Universidade Federal de Minas Gerais como requisito parcial para a obtenção do título de Mestre.

Área de concentração: Perinatologia.

Orientador: Prof. Dr. Henrique Vitor Leite.

Belo Horizonte
Faculdade de Medicina da UFMG
2013

M343e Mariz, Marina Magalhães Lins Victória.
Estudo comparativo da predição da anemia em fetos transfundidos pelos métodos do índice cardiofemural e pico da velocidade sistólica da artéria cerebral média [manuscrito]. / Marina Magalhães Lins Victória Mariz. - - Belo Horizonte: 2013.
79f.: il.
Orientador: Henrique Vitor Leite.
Área de concentração: Saúde da Mulher.
Dissertação (mestrado): Universidade Federal de Minas Gerais, Faculdade de Medicina.
1. Isoimunização Rh/complicações. 2. Anemia/diagnóstico. 3. Ultrassonografia Doppler. 4. Hemoglobina Fetal. 5. Coração Fetal/ultrassonografia. 6. Fêmur/ultrassonografia. 7. Dissertações Acadêmicas. I. Leite, Henrique Vitor. II. Universidade Federal de Minas Gerais, Faculdade de Medicina. III. Título.

NLM: WQ 210

A Laura e João, razão do meu esforço,
por todos os sorrisos e carinhos -
mesmo depois de longas ausências -,
que me incentivaram à busca pelo melhor.

Ao meu marido, Leonardo,
que se tornou meu companheiro em todos os momentos
e me deu tranquilidade e respaldo
para buscar meus objetivos.

Aos meus pais, queridos amigos e exemplo de vida,
que acreditaram, apostaram e possibilitaram
a realização dos meus sonhos,
torcendo pelo meu sucesso e vibrando a cada conquista.

A minha querida irmã, Cristina,
que mesmo longe se mostrou tão perto
e se fez presente e companheira
em todas as minhas dificuldades.

Amo todos vocês,
sempre e em qualquer momento.

AGRADECIMENTOS

Ao Professor Doutor Henrique Vitor Leite, pelo auxílio e incentivo indispensáveis para a realização deste trabalho. Por se tornar um exemplo profissional e um chefe tão disponível e dedicado. Agradeço por todas as oportunidades e confiança depositadas em mim, além do apoio pessoal sempre necessário.

Ao Professor Doutor Antônio Carlos Vieira Cabral, pelas minhas primeiras lições sobre Obstetrícia, apresentando-me especialidade fantástica e gratificante. Agradeço pelas possibilidades iniciais no Centro de Medicina Fetal (CEMEFE), que foram tão importantes em minha escolha profissional.

À Professora Doutora Alamanda Kfoury Pereira, que cuidou de mim em momento tão especial e mostrou-me um lado doce e devotado da Medicina. Obrigada eternamente!

Ao colega e amigo, Dr. Augusto Henriques Fulgêncio Brandão, pela grande dedicação a este trabalho e por toda ajuda gratuita e generosa.

À Professora Doutora Zilma Silveira Nogueira Reis, pela paciência e grande auxílio na criação do meu projeto, além de esclarecimentos de dúvidas estatísticas iniciais aparentemente incompreensíveis.

Às Doutoradas Ludmila Maria Guimarães Pereira, Mariana Seabra e Jacqueline Braga, pelas orientações em relação à construção de dissertações, que me deixaram mais tranquila e organizada.

À Doutora Laura Maria Almeida Maia, pelos bons momentos e risadas; pelo apoio em dias difíceis e ouvidos atentos; por compartilhar minhas alegrias e dores, deixando a vida certamente mais leve.

A todas as pessoas, colegas, amigos e familiares, que preenchem a minha rotina, deixando o dia-a-dia mais interessante e prazeroso.

A todos vocês, minha eterna gratidão.

“O Homem é feito visivelmente para pensar;
é toda a sua dignidade e todo o seu mérito;
e todo o seu dever é pensar bem”.

Blaise Pascal.

“Há verdadeiramente duas coisas diferentes:
saber e crer que se sabe.
A Ciência consiste em saber;
em crer que se sabe reside a ignorância”.

Hipócrates.

RESUMO

Introdução: apesar dos grandes avanços alcançados até o momento com a prevenção, diagnóstico e tratamento, a isoimunização pelo fator *Rhesus* (Rh) é ainda a principal causa de anemia grave em fetos, gerando importante morbimortalidade. Os critérios diagnósticos da anemia fetal são fundamentais para a indicação da melhor abordagem no seguimento e tratamento das gestações complicadas pela isoimunização Rh. Atualmente, o Centro de Medicina Fetal do Hospital das Clínicas da Universidade Federal de Minas Gerais (CEMEFE-HC-UFMG) utiliza a medida do pico da velocidade sistólica da artéria cerebral média associada ao índice cardiofemoral (ICF) para a avaliação dos fetos de gestantes acometidas e necessidade de realização de cordocentese para hematimetria. O conhecimento do comportamento desses índices em fetos com risco de desenvolver anemia já é bem conhecido, porém não se sabe ainda se esses exames se comportam da mesma forma em fetos politransfundidos e se o nível de hemoglobina de adulto na circulação fetal interfere no resultado dos mesmos. **Objetivos:** o estudo se propõe à avaliação crítica da acurácia do índice cardiofemoral e do pico da velocidade sistólica na artéria cerebral média em fetos submetidos a transfusões intrauterinas subsequentes e a identificar o parâmetro mais fidedigno para o diagnóstico da anemia grave. **Pacientes e métodos:** foram analisadas 23 gestantes submetidas a pelo menos três transfusões intrauterinas (TIU). Os dados das três primeiras TIUs foram alocados em três grupos referentes a: primeira, segunda e terceira TIU. As pacientes foram acompanhadas durante a gestação e submetidas a exames não invasivos com medida do ICF e pico da velocidade sistólica da artéria cerebral média (PVS-ACM) para a detecção de anemia fetal grave a partir de 22 semanas de gestação. Caso houvesse sinais de hidropisia fetal ou alteração de um dos métodos não invasivos, a paciente era submetida a cordocentese e estudo da hematimetria fetal. Os dados referentes ao ICF e PVS-ACM foram comparados aos resultados de hemoglobina pré-transfusional obtidos por meio da cordocentese e alocados em seus grupos respectivos. **Resultados:** a sensibilidade do ICF na primeira, segunda e terceira TIU foi, respectivamente, 80%, 75% e 90%. Os resultados de valor preditivo negativo (VPN) foram de 90%, 85% e 89%, respectivamente. A sensibilidade do PVS-ACM na primeira, segunda e terceira TIU foi, respectivamente, de 80%, 75% e 45%. Os resultados de VPN foram de 88,8%, 80% e 60%, respectivamente. As curvas *receiver operating characteristic* (ROC) referentes ao ICF na primeira, segunda e terceira TIU apresentaram áreas sob as curvas de, respectivamente, 0,683 (95% IC, 0,384-0,983), 0,746 (95% IC, 0,510-0,982) e 0,913 (95% IC, 0,792-1,0). A acurácia do ICF e PVS-ACM foi testada em associação nos três grupos, apresentando sensibilidade de 64%, 57% e 40% quando testados em série, respectivamente; e 96%, 93% e 95% quando testados em paralelo, respectivamente. **Conclusões:** o índice cardiofemoral apresenta-se como método diagnóstico para anemia fetal grave de boa acurácia, mantendo sua efetividade mesmo em fetos politransfundidos. O PVS-ACM perde valor após transfusões intrauterinas repetidas. O uso do PVS-ACM em associação com o ICF aumenta a sensibilidade do *screening* da anemia fetal grave.

Palavras-chave: Isoimunização Rh. Anemia fetal. Hemoglobina fetal. Doppler fetal. Índice cardiofemoral.

ABSTRACT

Introduction: Despite the great progress achieved to date with the prevention, diagnosis and treatment, isoimmunization Rhesus (Rh) is still the leading cause of severe anemia in fetuses, generating significant morbidity and mortality. The diagnostic criteria for fetal anemia are key for indicating the best approach in the monitoring and treatment of pregnancies complicated by Rh isoimmunization. Currently, the Center for Fetal Medicine, Hospital das Clinicas, Federal University of Minas Gerais (CEMEFE-HC-UFMG) uses the measurement of peak systolic velocity of the middle cerebral artery associated with cardiofemoral index (ICF) for the evaluation of fetuses of pregnant women affected and need to perform cordocentesis for hematimetria. The knowledge of the behavior of these indices in fetuses at risk for anemia is already well known, but not yet known whether these tests behave similarly in fetuses multitransfused and if the hemoglobin level in the fetal circulation of adult prejudice the outcome of these . **Objectives:** The study aims to assess the accuracy of critical cardiofemoral index and peak systolic velocity in the middle cerebral artery in fetuses undergoing intrauterine transfusions and subsequent identify the most reliable parameter for the diagnosis of severe anemia. **Patients and methods:** We analyzed 23 pregnant women undergoing intrauterine transfusions at least three (TIU). The data of the first three TIUs were divided into three groups regarding: first, second and third TIU. Patients were followed during pregnancy and undergo noninvasive tests to measure the ICF and peak systolic velocity of the middle cerebral artery (MCA-PSV) for the detection of severe fetal anemia from 22 weeks of gestation. If there were signs of fetal hydrops or alteration of a non-invasive, the patient was subjected to cordocentesis and study of fetal red blood cells. The data relating to ICF and PVS-ACM were compared to the results of pre-transfusion hemoglobin obtained by cordocentesis and assigned to their respective groups. **Results:** The sensitivity of ICF in the first, second and third TIU was respectively 80%, 75% and 90%. Results from negative predictive value (NPV) were 90%, 85% and 89%, respectively. The sensitivity of the PVS-ACM in the first, second and third TIU was respectively 80%, 75% and 45%. The results VPN were 88.8%, 80% and 60%, respectively. The receiver operating characteristic curves (ROC) for the ICF in the first, second and third TIU showed areas under the curves, respectively, 0.683 (95% CI, 0.384 to 0.983), 0.746 (95% CI, 0.510 to 0.982) and 0.913 (95% CI, 0.792 to 1.0). The accuracy of the ICF and PVS-MA was tested in combination in the three groups, with a sensitivity of 64%, 57% and 40% when tested in series, respectively, and 96%, 93% and 95% when tested in parallel, respectively. **Conclusions:** The index cardiofemoral presents itself as a diagnostic tool for severe fetal anemia good accuracy while maintaining its effectiveness even in fetuses multitransfused. The PVS-ACM loses value after repeated intrauterine transfusions. The use of PVS-ACM in association with the ICF increases the sensitivity of the screening of severe fetal anemia.

Keywords: Rh immunization. Fetal anemia. Fetal hemoglobin. Fetal Doppler. Index cardiofemoral.

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ACM	Artéria cerebral média
CA	Circunferência abdominal
CC	Circunferência craniana
CEMEFE	Centro de Medicina Fetal
CF	Comprimento do fêmur
COEP	Comitê de Ética em Pesquisa
DBP	Diâmetro biparietal
DBVE	Diâmetro biventricular externo
DHPN	Doença hemolítica perinatal
dp	Desvio-padrão
EUA	Estados Unidos da América
HC	Hospital das Clínicas
ICF	Índice cardiofemoral
IgG	Imunoglobulina G
IgM	Imunoglobulina M
MoM	Múltiplo da mediana
PVS	Pico da velocidade sistólica
Rh	<i>Rhesus</i>
ROC	<i>Receiver operating characteristic</i>
SPSS	<i>Statistical Package for Social Sciences version</i>
TCLE	Termo de Consentimento Livre e Esclarecido
TIU	Transfusão intrauterina
UFMG	Universidade Federal de Minas Gerais
VPN	Valor preditivo negativo
VPP	Valor preditivo positivo

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figuras

FIGURA 1 - Processo de seleção das pacientes.....	32
FIGURA 2 - Organograma demonstrativo do processo de organização dos grupos.....	33
FIGURA 3 - Esquema demonstrativo da realização do índice cardiofemoral.	37
FIGURA 4 - Valores de referência para concentrações de hemoglobina fetal em função da idade gestacional, propostos por Mari <i>et al.</i> (2000)...	38
FIGURA 5 - Esquema demonstrativo da realização do pico da velocidade sistólica da artéria cerebral média pico da velocidade sistólica da artéria cerebral média.....	39

Gráficos

GRÁFICO 1 - Índice cardiofemoral em fetos não transfundidos.....	44
GRÁFICO 2 - Índice cardiofemoral em fetos submetidos a uma transfusão intrauterina.....	46
GRÁFICO 3 - Índice cardiofemoral em fetos politransfundidos.....	48

Quadro

QUADRO 1 - Valores para interpretação da área sob a curva ROC na eficiência estatística.....	41
--	----

LISTA DE TABELAS

TABELA 1 - Distribuição das causas de isoimunização entre as gestantes selecionadas	34
TABELA 2 - Distribuição de antígenos eritrocitários como causa de sensibilização entre as gestantes selecionadas	35
TABELA 3 - Distribuição da genotipagem das gestantes selecionadas	36
TABELA 4 – Avaliação não invasiva através do índice cardiofemoral em gestantes isoimunizadas antes da realização da primeira transfusão intra uterina.....	43
TABELA 5 - Avaliação não invasiva através do pico da velocidade sistólica da artéria cerebral média em gestantes isoimunizadas antes da realização da primeira transfusão intra uterina.....	43
TABELA 6 - Acurácia dos testes índice cardiofemoral e pico da velocidade sistólica da artéria cerebral média em fetos não transfundidos	44
TABELA 7 - Avaliação não invasiva através do índice cardiofemoral em gestantes isoimunizadas antes da realização da segunda transfusão intra uterina.....	45
TABELA 8 - Avaliação não invasiva através do pico da velocidade sistólica da artéria cerebral média em gestantes isoimunizadas antes da realização da segunda transfusão intra uterina.....	45
TABELA 9 - Acurácia dos testes índice cardiofemoral e pico da velocidade sistólica da artéria cerebral média em fetos submetidos a uma transfusão intra uterina prévia.....	46
TABELA 10 - Avaliação não invasiva através do índice cardiofemoral em gestantes isoimunizadas antes da realização da terceira transfusão intra uterina.....	47
TABELA 11 - Avaliação não invasiva através do pico da velocidade sistólica da artéria cerebral média em gestantes isoimunizadas antes da realização da terceira transfusão intra uterina.....	47
TABELA 12 - Acurácia dos testes índice cardiofemoral e pico da velocidade sistólica da artéria cerebral média em fetos	

politransfundidos.....	48
TABELA 13 - Acurácia da utilização do índice cardiofemoral e pico da velocidade sistólica da artéria cerebral média em associação em pacientes não transfundidos	49
TABELA 14 - Acurácia da utilização do índice cardiofemoral e pico da velocidade sistólica da artéria cerebral média em associação em pacientes submetidas a uma transfusão intra uterina prévia	49
TABELA 15 - Acurácia da utilização do índice cardiofemoral e pico da velocidade sistólica da artéria cerebral média em associação em pacientes politransfundidos.....	49

SUMÁRIO¹

1 INTRODUÇÃO.....	15
2 REVISÃO DA LITERATURA.....	17
2.1 Aspectos históricos.....	17
2.2 Considerações iniciais.....	18
2.3 Fisiopatologia da doença hemolítica perinatal.....	19
2.4 Diagnóstico.....	20
2.4.1 Propedêutica materna.....	20
2.4.2 Propedêutica fetal.....	21
2.4.2.1 Exames invasivos.....	21
2.4.2.2 Exames não invasivos.....	22
2.5 Tratamento.....	27
2.6 Prognóstico.....	29
2.6.1 Fetal.....	29
3 OBJETIVO.....	30
4 PACIENTES E MÉTODOS.....	31
4.1 Pacientes.....	31
4.1.1 Critérios de inclusão.....	32
4.1.2 Critérios de exclusão.....	33
4.1.3 Grupos selecionados.....	33
4.1.4 Características das gestantes estudadas.....	34
4.1.4.1 Idade materna.....	34
4.1.4.2 Paridade.....	34
4.1.4.3 Causas de sensibilização.....	34
4.1.4.4 Antígenos eritrocitários presentes em pesquisa de painel de hemácias.....	35

¹ Este trabalho foi revisado de acordo com as novas regras ortográficas aprovadas pelo Acordo Ortográfico assinado entre os países que integram a Comunidade de Países de Língua Portuguesa (CPLP), em vigor no Brasil desde 2009. E foi formatado de acordo com a ABNT NBR 14724 de 17.04.2011.

4.1.4.5 Genotipagem.....	35
4.2 Métodos.....	36
4.2.1 Índice cardiofemoral.....	37
4.2.2 Medida do pico da velocidade sistólica da artéria cerebral média.....	38
4.2.3 Classificação da gravidade da anemia fetal.....	39
4.2.4 Hemoglobina fetal e déficit de hemoglobina.....	39
4.3 Normatização da dissertação.....	40
4.4 Análise estatística.....	40
4.5 Aspectos éticos.....	41
5 RESULTADOS.....	42
5.1 Análise do primeiro grupo.....	42
5.2 Análise do segundo grupo.....	44
5.3 Análise do terceiro grupo.....	46
5.4 Acurácia do índice cardiofemoral e pico da velocidade sistólica da artéria cerebral média utilizados associados.....	48
6 DISCUSSÃO.....	49
6.1 Importância do estudo.....	49
6.2 Pacientes e banco de dados.....	50
6.3 Métodos do estudo.....	51
6.4 Resultados do índice cardiofemoral.....	52
6.5 Resultados do pico da velocidade sistólica da artéria cerebral média.....	53
6.6 Índice cardiofemoral associado ao pico da velocidade sistólica da artéria cerebral média.....	55
6.7 Limitações do estudo, perspectivas e sugestões.....	55
7 CONCLUSÕES.....	57
REFERÊNCIAS.....	58
APÊNDICES E ANEXOS.....	64

1 INTRODUÇÃO

A aloimunização pelo fator *Rhesus* (Rh) é doença caracterizada por comprometimento fetal grave, sendo responsável por morbimortalidade importante do feto e neonato. Apesar dos grandes avanços no campo dessa doença nas últimas décadas, a isoimunização continua a ser a principal causa de anemia fetal e na maioria das vezes ocorre devido a manejo inadequado de gestantes com indicação de profilaxia com imunoglobulina antiD após partos ou abortamentos (NARDOZZA *et al.*, 2007). O Brasil apresentou incidência de 2.398 casos novos em 2009, correspondendo a 84 conceptos a cada 100.000 nascidos vivos (BRASIL, 2011).

A gestante acometida pela isoimunização necessita de acompanhamento e, por vezes, de tratamentos específicos e sofisticados. Por esse motivo, essas gestantes necessitam de encaminhamento para centros de referência terciários capacitados para realizar o seguimento adequado dessa gestação considerada de risco. É importante, assim, realizar o diagnóstico da anemia fetal, quando suspeitada, por técnicas não invasivas e, quando indicado, realizar procedimentos invasivos, como a cordocentese e a transfusão intrauterina (TIU), sendo este o único tratamento eficaz para o feto com anemia grave (CABRAL *et al.*, 1993). O resultado perinatal, nesses casos, depende desse referenciamento de forma precoce para que essa gestante e o feto possam ser tratados de forma adequada e em tempo oportuno.

O Centro de Medicina Fetal (CEMEFE) do Hospital das Clínicas (HC) da Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG) foi fundado na década de 90 e desde então acompanha e estuda essas gestantes, sendo hoje considerado referência nacional para esse fim. Durante todos esses anos foram diversas as dissertações de mestrado e teses de doutorado que abordaram especificamente este tema, além de diversas publicações científicas. Entre elas, destaca-se a proposição do índice cardiofemoral (CABRAL *et al.*, 2008) como método não invasivo do diagnóstico da anemia fetal grave.

Em 2003, ainda como acadêmica da Faculdade de Medicina da UFMG, tive a oportunidade de ingressar no Programa de Iniciação Científica proposto pelo

Professor Antônio Carlos Vieira Cabral no CEMEFÉ-HC-UFMG. Desde então venho acompanhando todo o processo de seguimento das gestantes aloimunes. Após o término da residência em Ginecologia e Obstetrícia, tive a oportunidade de continuar o acompanhamento e aprendizado no CEMEFÉ, além de manter contato direto com essas gestantes em ambulatórios, durante a realização de exames não invasivos e transfusões intrauterinas. Após esse longo tempo, passei a me interessar especialmente por essa doença, principalmente ao constatar a importância do impacto de um diagnóstico e tratamento corretos para uma boa evolução da gestação. Nos últimos dois anos, venho me dedicando em particular a essas pacientes, sendo este o motivo da escolha desse tema de mestrado.

Minha dissertação de mestrado tem como objetivo comprovar a eficácia do índice cardiofemoral, melhorando a acurácia do *screening* da anemia fetal grave e aprimorando as indicações para a realização de exames invasivos, para o diagnóstico definitivo do acometimento fetal e seu tratamento.

2 REVISÃO DA LITERATURA

2.1 Aspectos históricos

A doença hemolítica perinatal (DHPN) vem sendo descrita há muito tempo, existindo relatos da mesma desde os tempos de Hipócrates, 400 a.C., quando já eram referidos fetos com características de hidropisia. A literatura médica apresenta várias citações sobre essa grave doença e invariavelmente os casos estavam associados à morte perinatal. No entanto, apenas em 1932 Diamond *et al.* descreveram a associação entre a hidropisia fetal e a icterícia neonatal, doença então denominada de eritroblastose fetal, pelo achado de eritroblastos no sangue de fetos e neonatos (DIAMOND *et al.*, 1932; PAPANTONIOU *et al.*, 2008). O complexo Rh foi descoberto em 1940 por Landsteiner e Weiner (1940), mas apenas em 1941 Levine, Katzin e Burham documentaram a presença de anticorpos antiD em gestantes e que essa proteína era responsável pela hemólise e, conseqüentemente, pela anemia em seus descendentes.

A possibilidade de diagnóstico pré-natal surgiu no ano de 1953, quando Bevis reconheceu as alterações espectrofotométricas do líquido amniótico em fetos acometidos pela doença hemolítica perinatal (BEVIS, 1953). Em 1956, Liley realizou a primeira amniocentese para a análise da bilirrubina no líquido amniótico, o que abriu definitivamente a possibilidade de diagnóstico pré-natal do acometimento de fetos de gestante isoimunizadas.

Muitos eram os estudos que buscavam a prevenção da DHPN, sendo que a imunoprofilaxia efetiva para a imunização materna pelo fator Rh foi descrita em 1961 por Freda, Gorman e Pollack (1964). A imunoglobulina antiD tornou-se disponível para uso em gestantes Rh-negativo a partir de 1968, com redução significativa da morbidade da doença e, principalmente, da mortalidade perinatal (60-80% → 1-5%) (ERHABOR; ADIAS, 2010).

A possibilidade de tratamento da DHP iniciou-se a partir das publicações de Liley (1971), que idealizou a TIU através da punção do abdome fetal. Inicialmente era guiada por radioscopia e, mais tarde, por ultrassonografia (LILEY, 1971). O grande desenvolvimento do tratamento fetal surgiu apenas em 1983,

quando Daffos, Capella-Pavlovsky e Forestier (1983) descreveram a primeira transfusão intravascular guiada por ultrassom.

Desde a descoberta dos mecanismos fisiopatológicos da DHPN e descrição do complexo Rh, diversos estudos vêm sendo desenvolvidos com o objetivo do aprimoramento da abordagem diagnóstica dessas gestantes e fetos acometidos, além da busca por tratamento efetivo da doença e diminuição da morbimortalidade perinatal (SCHEIER *et al.*, 2006). O uso da imunoprofilaxia tornou-se de extrema importância na prática obstétrica, porém ainda existem muitos casos, principalmente pela não utilização adequada da medicação, permanecendo ainda em muitos países como a principal causa de anemia fetal grave (CARBONNE *et al.*, 2008).

2.2 Considerações iniciais

A isoimunização materna pelo fator Rh é uma doença caracterizada pela presença de anticorpos na circulação da gestante, que poderão agir contra antígenos eritrocitários não próprios presentes no feto (MARI *et al.*, 2000). O contato com esses antígenos pode ocorrer em diversas situações clínicas, sendo as obstétricas as mais comuns e frequentes. Entre elas destacam-se: abortamento, parto, gravidez ectópica, doença trofoblástica gestacional, hemorragias maternas na segunda metade da gestação e procedimentos invasivos obstétricos. A hemoterapia incompatível é causa não obstétrica mais comum (CABRAL, 2002). O principal mecanismo de sensibilização materna é a hemorragia feto-materna espontânea, que pode ocorrer em até 75% das gestantes, durante a gravidez ou após o parto (BOWMAN; POLLOCK; PENSTON, 1986). A frequência e o volume dessa hemorragia aumentam com o evoluir da gestação. A principal causa de imunização materna é a sensibilização pelo antígeno D. Além deste, são conhecidos mais de 50 antígenos eritrocitários irregulares, que podem causar doença hemolítica perinatal. Nesses últimos, não existe profilaxia conhecida que proteja as pacientes da imunização (ZIMMERMANN *et al.*, 2002).

Por outro lado, a doença hemolítica perinatal resulta da passagem transplacentária desses anticorpos maternos para a circulação fetal, ocasionando anemia de intensidade variável e secundária à hemólise. A gravidade da anemia

fetal e da doença hemolítica perinatal resultante irá depender do potencial hemolítico dos anticorpos, da concentração de anticorpos maternos na circulação fetal, da avidéz desses anticorpos e de seus sítios de ligação nas hemácias fetais (VON LINDERN; BROND. 2008).

2.3 Fisiopatologia da doença hemolítica perinatal

No decorrer da gestação, há frequente contato do sangue fetal com a circulação sanguínea materna. Em 1986, Bowman *et al.* realizaram estudo utilizando o teste de Kleinhauer e demonstrando transfusão feto-materna de pelo menos 0,01 mL de sangue em 3%, 12% e 46% nos três trimestres da gestação, respectivamente (BOWMAN; POLLOCK; PENSTON, 1986). A maioria desses contatos não é capaz de sensibilizar a gestante, devido à ação rápida de seu sistema retículo-endotelial que reconhece essas hemácias, provocando sua destruição. No entanto, hemorragias com maior volume estimulam resposta imunitária materna lenta, inicialmente por meio de linfócitos B e produção de imunoglobulina da classe M (IgM - proteínas com peso molecular alto e, por esse motivo, incapazes de atravessar a barreira placentária). Linfócitos B de memória são produzidos e um novo contato sensibilizante desencadeia uma resposta imunitária secundária rápida, com produção de imunoglobulinas do tipo G (IgG - proteínas com peso molecular baixo e capazes de atravessar a barreira placentária). Ao chegar ao feto, a IgG reage com antígenos eritrocitários presentes em suas hemácias a partir de uma reação antígeno-anticorpo, ocasionando a destruição desses eritrócitos com consequente anemia de intensidade variável (MOISE, 2008a).

Em fetos normais, a concentração média de hemoglobina aumenta linearmente com a gestação. Os valores são, em media, de 11,0 g/dL com 18 semanas e 14,5 g/dL com 40 semanas (MOISE, 2008a). Em fetos de gestantes isoimunizadas, o tempo de vida dos eritrócitos é reduzido. O feto utiliza mecanismos compensatórios para suportar o processo anêmico no qual se encontra. Essa compensação acontece com base em ajustes hemodinâmicos e cardiogênicos (MOISE, 2008a). Quando os níveis de hemoglobina caem para valores inferiores a 7 g/dL, verifica-se o desenvolvimento da hidropisia fetal (SCHEIER *et al.*, 2004).

Inicialmente, a hemólise progressiva levará ao estímulo da hematopoiese medular e, posteriormente, à extramedular, principalmente no fígado (MOISE, 2008a). A infiltração progressiva e extensa do fígado fetal ocasiona hipertensão portal, devido à compressão do parênquima dos vasos portais, conseqüente à hipoproteinemia tanto por diminuição de sua síntese hepática, como por aumento da perda renal secundária à lesão endotelial (NICOLAIDES, 1989; NICOLAIDES; WARENSKI; RODECK, 1985).

Em contrapartida, a anemia fetal ocasiona a diminuição da viscosidade sanguínea, devido à hemólise fetal acentuada (MARI *et al.*, 2000). Estabelece-se, então, um quadro hiperdinâmico em que o feto tenta, a partir do aumento da pré-carga e dilatação das câmaras cardíacas, compensar a hipóxia. Em casos de anemia fetal grave pode ocorrer também acidose metabólica sistêmica decorrente da depuração diminuída do lactato pela placenta (NICOLAIDES, 1989). Se a hipóxia e a acidemia persistem, desenvolve-se insuficiência cardíaca de alto débito com elevação da pressão venosa e extravasamento de líquido para o terceiro espaço (COPEL *et al.*, 1989). Na vigência da anemia grave e progressiva há a formação da hidropisia fetal, que é caracterizada por excesso de líquido em dois ou mais espaços fetais, incluindo a cavidade amniótica (WEINER *et al.*, 1981). A evolução do processo da hidropisia resulta em óbito do feto.

2.4 Diagnóstico

2.4.1 Propedêutica materna

A propedêutica materna inicia-se com anamnese completa e detalhada sobre possíveis intercorrências pessoais anteriores, assim como a história ginecológica e obstétrica, principalmente em relação à história das gestações pgressas e resultados e possíveis tratamentos perinatais (MOISE, 2008a).

A genotipagem materna é solicitada na primeira consulta de pré-natal e, se necessário, posteriormente, solicita-se a genotipagem paterna (MOISE, 2008a).

A obtenção da titulação materna - exame de Coombs indireto - é o primeiro passo na avaliação de gestantes sensibilizadas (MOISE, 2008a). Esse exame é capaz de identificar anticorpos contra antígenos eritrocitários na circulação materna, sendo o mais comum o antiD. É recomendada a realização seriada

desse exame para a avaliação do *status* da sensibilização materna (CABRAL *et al.*, 2000).

A genotipagem fetal é outra possibilidade de propedêutica fetal, já que o conhecimento do genótipo do feto possibilita definir o acompanhamento dessa gestação e o possível prognóstico fetal. Pode ser realizado a partir de reação em cadeia de polimerase, utilizando amostra de líquido amniótico, vilo corial ou sangue fetal, ou indiretamente, por meio de técnicas de resgate de células fetais no sangue materno (GEIFMAN-HOLTZMAN; GROTEGUT; GAUGHAN, 2006).

2.4.2 Propedêutica fetal

Os métodos diagnósticos da anemia fetal nos casos em que existe a aloimunização materna pelo fator Rh sofreram avanços nas últimas décadas, possibilitando o diagnóstico mais preciso e seguro da anemia fetal, com consequente aumento da sobrevivência perinatal (VAN KAMP *et al.*, 2005).

Até o início da década de 60, os fetos acometidos pela doença hemolítica perinatal não tinham possibilidade de tratamento. Após essa época, quando das publicações de Liley em relação ao diagnóstico da anemia fetal e possibilidade de tratamento intrauterino, todo o seguimento dessas gestantes foi modificado (LILEY, 1963).

2.4.2.1 Exames invasivos

Em 1961, Liley propôs o uso da amniocentese para mensuração da bilirrubina no líquido amniótico, que pretendia indiretamente inferir a anemia fetal (LILEY, 1960; LILEY, 1961). O líquido amniótico era processado e analisado por análise espectrofotométrica em densidade óptica de 400 nm e os valores obtidos eram dispostos em uma curva de normalidade proposta por Liley. Essa curva apresentava três zonas distintas, referentes aos valores possíveis obtidos: a zona um representava fetos com doença hemolítica leve e a zona três, fetos com doença hemolítica grave. Mais tarde, Queenan *et al.* (1993) modificaram a curva proposta por Liley, prolongando valores e alocando resultados de exames realizados em gestações mais precoces.

A amniocentese apresenta risco de perda fetal mais baixo que a cordocentese, no entanto, é um método indireto de avaliação da anemia fetal, associado a índice de falso-positivo e falso-negativo (10% para cada). Além disso, sua realização deve ser intermitente, aumentando com isso a possibilidade de complicações (NISHIE, 2003).

Com o advento da cordocentese, o diagnóstico simplificou-se, já que se obtém diretamente o sangue fetal para hematimetria. Porém, os riscos associados ao procedimento são inegavelmente mais altos. Entre eles destacam-se: ruptura prematura de membranas, infecção intra-amniótica, trabalho de parto prematuro, bradicardia e óbito fetal (PAPANTONIOU *et al.*, 2008).

Além de todas as complicações fetais já citadas, ressalta-se também a possibilidade de agravamento da sensibilização materna. Sabe-se que existe a possibilidade de elevação do coombs indireto em mais de dois títulos em 80% das pacientes após um procedimento invasivo (SPINNATTO, 2002).

Devido às complicações inerentes aos métodos invasivos, diversos trabalhos têm sido elaborados com o objetivo de formular métodos diagnósticos de menos risco para o feto (MOISE JR., 2006).

2.4.2.2 Exames não invasivos

O grande desafio para a Medicina perinatal é o desenvolvimento de métodos diagnósticos capazes não apenas de demonstrar os efeitos da anemia sobre o conceito, mas também os mecanismos adaptativos fetais, e a avaliação dos efeitos do tratamento intrauterino (BOWMAN; POLLOCK; PENSTON, 1986). Diversas pesquisas foram desenvolvidas nos últimos anos na tentativa de se criarem métodos não invasivos para detecção da anemia fetal com o objetivo de reduzir o número de procedimentos invasivos realizados e, com isso, o risco fetal. Apostou-se principalmente em parâmetros ultrassonográficos para esse diagnóstico. Esses parâmetros consideram a fisiopatologia da doença como causa de alterações ultrassonográficas a serem detectadas. Entre eles destacam-se: espessamento e alteração da ecogenicidade placentária, hepatoesplenomegalia e aumento da circunferência abdominal fetal, duplo contorno da bexiga, estômago e vesícula biliar, derrame pericárdico, aumento da hidrocele fetal, polidrâmnio, ascite e hidropisia fetal (BAHADO-SINGH *et al.*, 1998;

HECHER *et al.*, 1995; MARI *et al.*, 2000; VON LINDERN; BROND, 2008). No entanto, todos os parâmetros estudados mostraram-se ineficazes para esse fim, com exceção da hidropisia fetal. Esta pode ser facilmente detectada pelo ultrassom, mas é um marcador tardio da anemia grave, associado a importantes morbidade e mortalidade perinatais (MOISE, 2008a).

A) Pico da velocidade sistólica da artéria cerebral média

Até 1995, quando da publicação do trabalho referente aos estudos com dopplerfluxometria de artéria cerebral média, principalmente a partir da avaliação do pico da velocidade sistólica da artéria cerebral média (PVS-ACM), o diagnóstico da anemia fetal era obtido indiretamente - pela medida da bilirrubina no líquido amniótico, com base em amostras coletadas por amniocentese (LILEY, 1961) - ou diretamente, pela medida da hemoglobina fetal em amostras obtidas por cordocentese (DAFFOS; CAPELLA-PAVLOVSKY; FORESTIER, 1983). Apesar de todas as complicações inerentes aos exames invasivos, não existia um protocolo bem definido sobre o intervalo entre as punções durante o monitoramento fetal (MARI *et al.*, 1995). Além disso, as complicações dos procedimentos invasivos foram justificativa para a pesquisa de novas técnicas diagnósticas mais seguras e com eficácia semelhante à das já existentes.

Em estudo publicado em 1988, Nicolaidis *et al.* testaram seis parâmetros ultrassonográficos distintos, candidatos à predição da anemia fetal. Estes eram: circunferência abdominal, índice circunferência craniana/ circunferência abdominal (CC/CA), volume intraperitoneal, medidas de doppler das veias intra e extra-hepáticas e espessura placentária. Concluíram que, na ausência de hidropisia fetal, nenhum desses parâmetros foi eficaz.

Em 1990, foi avaliada a velocidade média da circulação na aorta e comparada a hemoglobina dos fetos posteriormente submetidos à cordocentese (MARI *et al.*, 1990). Porém, esse parâmetro também não se mostrou eficiente (NICOLAIDES; BILARDO; CAMPBELL, 1990).

O insucesso desses estudos, possivelmente, deveu-se ao uso de índices que não sofrem modificações com a velocidade do sangue, em oposição ao que foi achado com o estudo da artéria cerebral média em 1995 (MARI *et al.*, 1995; MARI *et al.*, 2000).

Pesquisas precedentes, realizadas em animais, já haviam demonstrado que na vigência de anemia toda a circulação sanguínea encontra-se com a velocidade aumentada, devido à elevação do débito cardíaco e diminuição da viscosidade do sangue (FAN *et al.*, 1980). Achados similares também foram confirmados em humanos (MOISE *et al.*, 1990). Em 1995, Mari *et al.* comprovaram que a diminuição do hematócrito em fetos de gestantes isoimunizadas estava associada ao aumento da velocidade de circulação do sangue. Nesse estudo foi utilizado o doppler da artéria cerebral média como modelo, por se tratar de vaso com ângulo próximo de 0° do transdutor ao ultrassom e, portanto, sem necessidade de correção do mesmo. Por esse motivo, exame com fácil reprodutibilidade e menor variação inter e intraobservador. Além disso, a artéria cerebral média foi selecionada também devido à rápida resposta cerebral à hipoxemia (MARI *et al.*, 1995).

O PVS-ACM, método descrito por Mari *et al.* em 2000, é mais eficaz como propedêutica não invasiva para detecção da anemia fetal do que os títulos maternos de coombs indireto ou da procura de sinais de descompensação, como hidropisia fetal, em exames ultrassonográficos seriados (MARI *et al.*, 2000; MOISE, 2008b). Em fetos anêmicos, o sangue circulante torna-se menos viscoso e, além disso, há aumento do débito cardíaco fetal, provocando, em conjunto, elevação da velocidade da circulação sanguínea e consequente aumento do PVS na circulação sanguínea e, em menor escala, na artéria cerebral média (DUKLER *et al.*, 2003; STEFOS *et al.*, 2002). Os valores considerados anormais são aqueles expressos como superiores a 1,5 múltiplo da mediana (MoM) de acordo com tabela proposta por Mari *et al.* em 2000 (MOISE JR., 2006). A insonação da artéria cerebral média pode ser realizada em qualquer região, no entanto, foi demonstrado que melhores resultados são obtidos quando o fluxo é determinado próximo da origem do vaso, onde a mesma ascende quase de forma perpendicular ao transdutor, não necessitando de correção do ângulo de insonação (MARI, 2005).

Além de ser um método diagnóstico da anemia fetal, Mari *et al.* (2000) propuseram o uso do PVS-ACM no acompanhamento de todas as gestantes isoimunizadas para detecção da anemia moderada e grave e realização de cordocentese apenas nos casos em que houve alteração do PVS-ACM, diminuindo substancialmente a necessidade de exames invasivos e,

indiretamente, dos riscos fetais. Essa indicação foi confirmada em 2006 pelo estudo DIAMOND (OEPKES *et al.*, 2006).

A eficácia do PVS-ACM foi comprovada também em estudos com gestantes infectadas pelo parvovírus B (COSMI *et al.*, 2002) e em gestações gemelares afetadas pela síndrome da transfusão feto-fetal (COSMI *et al.*, 2005).

A sensibilidade do método relatado por Mari *et al.* (2000) foi de 100%. Valores semelhantes não foram reproduzidos posteriormente. Zimmerman *et al.* (2002) descreveram sensibilidade de 88% e OepKes *et al.* (2006) reportaram acurácia de 85%. Nesse mesmo estudo, Oepkes *et al.* (2006) compararam o uso do PVS-ACM com a amniocentese proposta por Liley (1961). Seus resultados demonstraram que o doppler é muito mais eficaz que a amniocentese para o diagnóstico da anemia, no entanto, comparável à curva proposta por Queenan *et al.* (1993). Em 2005, Bullock *et al.* ressaltaram que ambos os métodos apresentavam acurácia semelhante, sendo, contudo, o PVS-ACM preferível à amniocentese, por se tratar de exame não invasivo. Naquele mesmo ano, Van Dongen *et al.* evidenciaram a superioridade do PVS-ACM, em que a sensibilização ocorre devido ao antígeno Kell, já que, sendo este responsável por supressão da eritroblastose e não por hemólise, a anemia consequente não seria bem-detectada pelo estudo da espectrofotometria do líquido amniótico.

Em 2004 foi publicado trabalho realizado no CEMEFE-HC-UFMG, por Taveira *et al.* (2004), sobre a acurácia do PVS-ACM nas pacientes transfundidas nesse serviço. O estudo obteve associação estatisticamente significativa entre a alteração do PVS-ACM e a hemoglobina fetal abaixo de 10,0 g/dL. O PVS na ACM apresentou sensibilidade de 75,7% para a detecção de hemoglobina do cordão igual ou inferior a 10 g/dL - valor inferior ao apresentado por Mari *et al.* (2000), porém com significância estatística comprovada.

O PVS-ACM aumenta sua acurácia à medida que se verifica aumento da gravidade da anemia. Não necessariamente, o sangue aumenta sua velocidade nos casos de anemia leve, já que, nesses casos, a viscosidade sanguínea ainda não está sendo afetada consideravelmente (MARI, 2005).

Em gestações com idade gestacional superior a 35 semanas, o valor preditivo positivo do PVS-ACM diminui e o método perde sua correlação matemática com a hemoglobina fetal (ZIMMERMANN *et al.*, 2002). Isso porque, nessa fase, ocorrem modificações no comportamento do organismo fetal frente a

estímulos diversos, sendo, portanto o doppler da artéria cerebral média não mais confiável (CABRAL *et al.*, 2000).

No primeiro estudo realizado por Mari *et al.* (1995), os resultados já indicavam que a correlação entre o hematócrito e PVS-ACM se mantinha apenas quando estudados valores da primeira cordocentese realizada e não para punções subsequentes (DETTI *et al.*, 2002; MARI *et al.*, 1995). Em 2000, Bahado-Singh *et al.* (2000) também comprovaram a queda da sensibilidade do estudo doppler da artéria cerebral média em fetos submetidos a transfusões intrauterinas sucessivas (100% com nenhuma a uma TIU prévia para 84,4% para fetos com ≥ 2 TIU). Devido a essas limitações, ainda são necessárias pesquisas para desenvolver novos métodos diagnósticos que, juntamente com o PVS-ACM, possam assegurar à gestante isoimunizada acompanhamento seguro para seu feto e tratamento em momento oportuno (CABRAL *et al.*, 2010).

B) Índice cardiofemoral

Considerando-se as modificações adaptativas do feto ao processo anêmico já descrito anteriormente, o estudo ultrassonográfico evidenciando alterações biométricas e hemodinâmicas pode ser de grande valia na identificação do feto com anemia (CABRAL *et al.*, 2005). A remodelação ventricular com dilatação das câmaras cardíacas é o principal responsável pelo aumento do débito cardíaco observado nos fetos anêmicos. Outros fatores também responsáveis pela manutenção da função cardíaca são a diminuição do hematócrito e da viscosidade sanguínea, aumento do retorno venoso e aumento discreto da frequência cardíaca fetal (HUHTA, 2005; NICOLAIDES *et al.*, 1988; PEETERS *et al.*, 1979).

A medida do diâmetro biventricular externo (DBVE) é método propedêutico de grande acurácia na detecção de cardiomegalia fetal (RIZZO; ARDUINI; ROMANINI, 1992). Em dissertação defendida no CEMEFE-HC-UFMG em 2003 foi observada correlação inversa entre a concentração da hemoglobina no sangue fetal e a medida do DBVE, independentemente da idade gestacional (BARCELOS, 2003).

Em 1997, foi publicada a primeira descrição do uso do diâmetro biventricular para diagnóstico da anemia fetal (BAHADO-SINGH *et al.*, 1998).

OUZANIAAN *et al.*, 1997). Nesse estudo, o DBVE foi plotado em tabela utilizando como referência para igualar os valores em relação à idade gestacional a medida do diâmetro biparietal (DBP). Em estudo posterior (CABRAL *et al.*, 2008), utilizou-se como referência a medida do fêmur (DE VORE; SEASSI; PLATT, 1985), sendo sugerido, então, o índice cardiofemoral (ICF) para diagnóstico não invasivo da anemia fetal.

O ICF alterado associa-se a alterações gasométricas fetais e ao aumento do risco de hidropisia e mortalidade perinatal (KRETTLI, 2006; RODRIGUES *et al.*, 2007). Por outro lado, o ICF normal assegura boa função miocárdica do feto (BONOMI, 2007).

Em tese de doutorado apresentada na UFMG em 2004 por Melo, (*apud* CABRAL *et al.*, 2005), o ICF foi estudado e correlacionado a níveis de hemoglobina fetal abaixo de 10,0 g/dL. A sensibilidade foi de 80,9%, especificidade de 83,1%, valor preditivo positivo (VPP) 73,1% e valor preditivo negativo (VPN) de 88,5%; e VPN de 88,7% para fetos não transfundidos.

Em 2008, Cabral *et al.* propuseram o uso do ICF como método não invasivo de detecção da anemia fetal em gestantes isoimunizadas, sendo adotado nas gestantes isoimunizadas acompanhadas no serviço. O estudo salientou a acurácia da técnica nas três primeiras TIUs realizadas em cada gestante. A sensibilidade nesses três momentos foi de 87,2%, 88,0% e 94,1%, respectivamente.

O ICF é obtido dividindo-se o DBVE pelo comprimento do fêmur (CF). Seu valor foi considerado alterado quando o resultado foi $\geq 0,59$ (HANAN *et al.*, 2008). Mostrou-se como preditor estável, estabelecendo-se como método eficaz, mesmo após transfusões repetidas, para detecção da anemia fetal moderada e grave (CABRAL *et al.*, 2008).

2.5 Tratamento

O tratamento da isoimunização no início da década de 30, momento em que houve a detecção da associação da hidropisia fetal com icterícia ao nascimento, era realizado apenas nos neonatos que nasciam prematuros e eram então submetidos a hemotransfusões (DIAMOND;BLACKFAN; BATY, 1932). A TIU, além da possibilidade de tratamento, também possibilita a obtenção de

sangue fetal para estudo da hematimetria, distúrbios metabólicos e genotipagem fetal (DAFFOS; CAPELLA-PAVLOYSKY; FORESTIER, 1985). É o tratamento de escolha para fetos com prematuridade extrema e gravemente anêmicos. A técnica apresenta risco de óbito fetal de 1-3%, taxa de insucesso de 3,5% e sobrevida global de 80%.

A TIU foi descrita por Liley em 1963 e era realizada a partir da infusão de sangue na cavidade peritoneal fetal, com conseqüente absorção de hemácias pelos linfáticos do diafragma (LILEY, 1963). Na década de 80, foi proposta a transfusão intravascular, após a introdução da ultrassonografia, melhorando ainda mais a sobrevida dos fetos acometidos (em torno de 85% para 90%) (DAFFOS; CAPELLA-PAVLOVSKY; FORESTIER, 1983; HARMAN *et al.*, 1990; VAN KAMP *et al.*, 2005).

A TIU intraperitoneal é feita pela punção do abdome fetal e infusão de sangue na cavidade peritoneal, sendo esse sangue absorvido principalmente pelos vasos linfáticos subdiafragmáticos e ducto torácico (CABRAL *et al.*, 1993). Tem a vantagem de ser técnica mais fácil e, por esse motivo, com baixas taxas de complicações e possível de ser realizada em idades gestacionais mais precoces. No entanto, impossibilitam-se estudos complementares do estado de anemia do feto, devido à não obtenção de amostras para determinação da hematimetria pré-transfusional do feto. Além disso, o peritônio absorve o sangue de forma irregular, diminuindo a possibilidade de um tratamento efetivo (HARMAN *et al.*, 1990; HOWE; MICHAILIDIS, 2007; OEPKES; VAN SCHELTEMA, 2007).

A TIU intravascular é técnica na qual a preferência é pela veia umbilical, próximo de sua inserção placentária do cordão, e infundido sangue compatível. É técnica de escolha devido à punção direta do cordão umbilical, sendo, por esse motivo, possível a realização de estudo do sangue fetal, determinação do grau de anemia, além de infusão direta de sangue na circulação fetal com mais efetividade do tratamento da anemia. No entanto, é método mais difícil e com elevados riscos agregados ao procedimento (HOWE; MICHAILIDIS, 2007; OEPKES; VAN SCHELTEMA, 2007).

2.6 Prognóstico

2.6.1 Fetal

O processo anêmico desenvolve-se de forma gradual, possibilitando ao feto mecanismos compensatórios e assegurando adequada oxigenação dos tecidos, apesar de hemólise progressiva. Metade dos fetos aloimunes nasce a termo ou próximo do termo sem apresentarem anemia. Em 25% dos fetos, os recém-nascidos exibem anemia leve a moderada. Entre os demais ocorrerá descompensação intrauterina com alterações hemodinâmicas e insuficiência cardíaca em graus variáveis (OZANAN, 2010).

Verifica-se sobrevida média de 74% dos fetos hidrópicos e 94% para os não hidrópicos, com perda fetal média de 1-3%, podendo chegar a 20% entre os fetos hidrópicos (OZANAN, 2010).

De acordo com trabalho realizado na UFMG em 2010, no nosso serviço, o principal parâmetro prognóstico para os fetos de gestantes isoimunizadas é a prematuridade (OZANAN, 2010).

3 OBJETIVO

Analisar e comparar a acurácia da medida do índice cardiofemoral e do pico da velocidade sistólica na artéria cerebral média, isolados ou associados, para diagnóstico da anemia fetal grave em fetos submetidos a transfusões intrauterinas sucessivas.

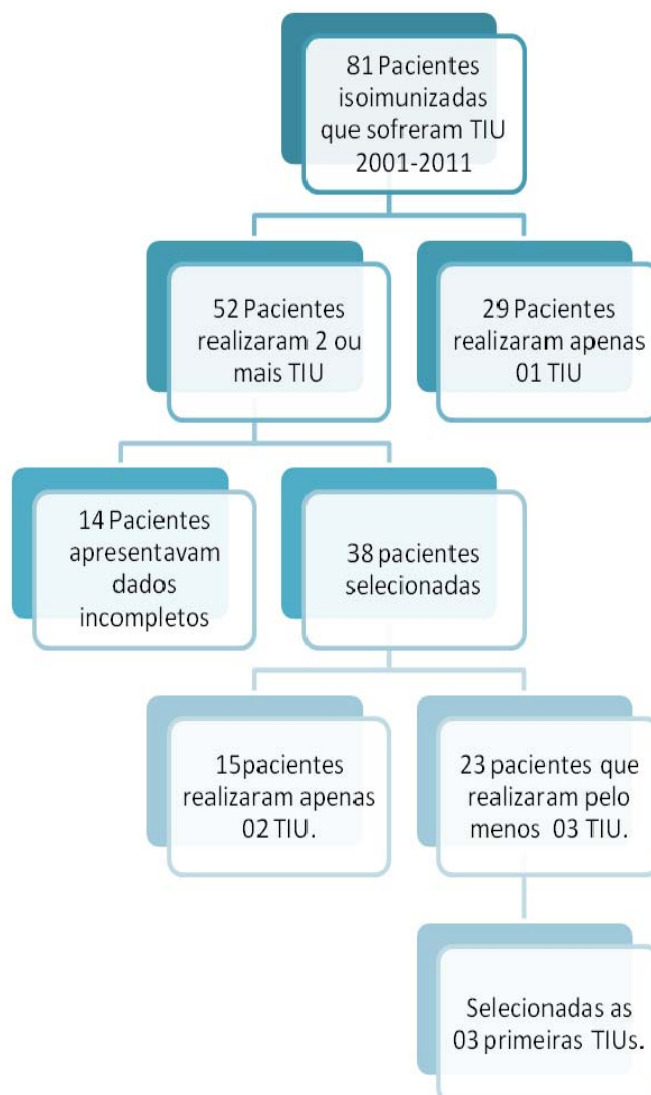
4 PACIENTES E MÉTODOS

4.1 Pacientes

Trata-se de estudo do tipo coorte, retrospectivo, com avaliação de 23 fetos que foram submetidos a três transfusões intrauterinas, no período de 2001 a 2011, pertencentes ao grupo de gestantes isoimunizadas acompanhadas no CEMEFÉ-HC/UFMG. As pacientes foram acompanhadas segundo o protocolo do serviço (APÊNDICE A) e foram indicadas a cordocentese e a TIU quando os métodos não invasivos para diagnóstico de anemia fetal (doppler da artéria cerebral média ou índice cardiofemoral) estavam alterados.

Inicialmente, foram selecionadas todas as pacientes que apresentavam o teste de coombs indireto positivo e que foram submetidas à TIU por suspeita de anemia, no período de 2001 a 2011, no total de 81. Desse grupo inicial, 29 pacientes foram excluídas do estudo porque foram submetidas apenas a uma TIU. Posteriormente, 14 gestantes e 15 fetos também foram excluídos, devido a dados incompletos em análise de prontuários e banco de dados do serviço. Totalizaram-se, então, 38 fetos selecionados para a investigação, entre os quais o número de TIUs a que foram submetidos variou entre dois e seis. Foram selecionados então 23 deles, que foram submetidos a pelo menos três TIUs, que os caracterizavam como pacientes politransfundidos. O organograma da FIG. 1 representa a seleção realizada.

FIGURA 1 - Processo de seleção das pacientes



4.1.1 Critérios de inclusão

Os critérios de inclusão foram:

- Gestantes com diagnóstico de isoimunização materna acompanhadas no CEMEFÉ-HC-UFMG e que foram submetidas a mais de duas TIUs por suspeita de anemia grave.
- Assinatura da gestante no termo de consentimento livre e esclarecido.

4.1.2 Critérios de exclusão

Os critérios de exclusão foram:

- Gestantes isoimunizadas acompanhadas apenas com exames não invasivos para detecção de anemia fetal.
- Gestantes isoimunizadas submetidas a apenas uma ou duas TIUs.
- Impossibilidade de obter amostras de sangue para hematimetria durante cordocentese.
- Dados incompletos em prontuário médico ou em banco de dados do serviço.
- Não aceitação, pela paciente, do uso de seus dados para pesquisa ou ausência do termo de consentimento livre e esclarecido.

4.1.3 Grupos selecionados

As gestantes selecionadas foram distribuídas em grupos conforme o procedimento que estava sendo realizado. No total, foram 23 gestantes, 23 fetos e 69 TIUs.

O primeiro grupo representa os dados referentes à primeira TIU dessas gestantes; o segundo grupo representa os dados referentes à segunda transfusão; e o terceiro grupo, a terceira transfusão.

FIGURA 2 - Organograma demonstrativo do processo de organização dos grupos



4.1.4 Características das gestantes estudadas

As gestantes participantes do estudo foram caracterizadas de acordo com: idade, paridade, causa de isoimunização, painel de hemácias e genotipagem.

4.1.4.1 Idade materna

A média de idade das pacientes foi de $28,09 \pm 5,96$ (média \pm desvio-padrão - dp).

4.1.4.2 Paridade

A mediana de paridade das pacientes foi de $3,96 \pm 1,00$ (mediana \pm II).

4.1.4.3 Causas de sensibilização

A causa mais comum de sensibilização entre as gestantes estudadas foi a falta do uso da profilaxia com imunoglobulina antiD para as gestantes durante puerpério ou após abortamentos prévios.

A TAB. 1 exemplifica essas causas e indica sua porcentagem entre as pacientes estudadas.

TABELA 1 - Distribuição das causas de isoimunização entre as gestantes selecionadas

Causas de isoimunização	Nº absoluto de pacientes	Porcentagem
Ausência de profilaxia	18	78,3%
Transfusão incompatível	03	13,1%
Falha da profilaxia	01	4,3%
Politransfusão	01	4,3%
Total	23	100%

4.1.4.4 Antígenos eritrocitários presentes em pesquisa de painel de hemácias

As gestantes tiveram seu painel de hemácias coletado e foram categorizadas de acordo com os anticorpos presentes. A TAB. 2 apresenta a distribuição desses antígenos em nossas gestantes.

TABELA 2 - Distribuição de antígenos eritrocitários como causa de sensibilização entre as gestantes selecionadas

Painel de Hemácias	Nº absoluto de pacientes	Porcentagem
Anti D	08	34,9%
Anti D + Anti c	02	8,7%
Anti D + Anti C	08	34,9%
Anti D + Anti C + Anti Fya	01	4,3%
Anti D + Anti Kell	01	4,3%
Anti D + Anti c + Anti E	01	4,3%
Anti D + Anti Lea + Anti Kell	01	4,3%
Anti D + Anti JK	01	4,3%
Total	23	100%

4.1.4.5 Genotipagem

As pacientes foram caracterizadas de acordo com o grupo sanguíneo. A TAB. 3 evidencia a distribuição da genotipagem das gestantes estudadas.

TABELA 3 - Distribuição da genotipagem das gestantes selecionadas

Genótipo	N° absoluto de pacientes	Porcentagem
O negativo	08	34,8%
A negativo	10	43,5%
B negativo	04	17,4%
AB negativo	01	4,3%
Total	23	100%

4.2 Métodos

Todas as pacientes tinham previamente o diagnóstico de isoimunização materna e foram recebidas no ambulatório do CEMEFE-HC-UFMG por encaminhamentos do serviço de origem. Foram então realizados em primeira consulta de pré-natal: anamnese detalhada e exame físico. Nessa primeira consulta, as pacientes foram classificadas em relação ao risco de anemia fetal, solicitaram-se exames de genotipagem materna e paterna, coombs indireto e painel de hemácias, de acordo com Protocolo do Serviço (APÊNDICE A).

Entre as pacientes acompanhadas no CEMEFE-HC-UFMG no período de 2002 a 2011 devido à isoimunização materna, foram selecionadas 23 que apresentavam pelo menos três TIUs e avaliadas as três primeiras TIUs. Essas pacientes foram alocadas em três grupos, de acordo com a ordem de TIUs realizadas. Como já explicitado anteriormente, o primeiro grupo representa a primeira TIU, o segundo a segunda TIU e o terceiro a terceira TIU.

As 23 pacientes foram acompanhadas, segundo protocolo do serviço, com exames ultrassonográficos semanais, a partir de 22 semanas de gestação, e determinação do ICF e PVS-ACM do feto. Uma vez que os exames sugerissem anemia fetal grave e, por esse motivo, fosse indicada a cordocentese (exame padrão-ouro para anemia fetal) para confirmação diagnóstica e possível tratamento fetal, os dados pré-transfusionais eram arquivados em banco de dados específico. Posteriormente, os dados referentes às três primeiras transfusões foram alocados em grupos. Os três grupos possuíam as mesmas 23 pacientes, porém em idades gestacionais distintas. Os exames não invasivos foram então

comparados à hematimetria fetal. Todos os grupos tiveram seus exames não invasivos (ICF e PVS-ACM) avaliados de acordo com sua acurácia, para determinação dos valores de sensibilidade, especificidade, VPP e VPN.

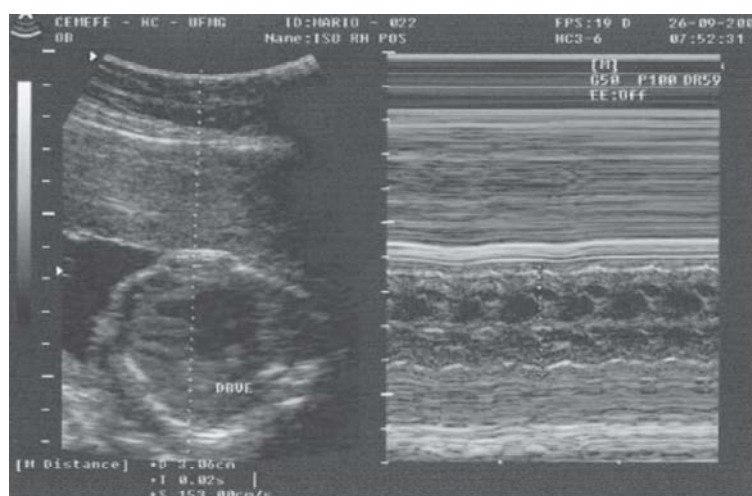
Foi realizada também a construção de curva ROC para o ICF nos três grupos.

Foram empregados os parâmetros de diagnóstico e classificação da anemia fetal a seguir.

4.2.1 Índice cardiofemoral

Realizado em todas as gestantes semanalmente após 22 semanas de gestação. Método descrito em 2008 por Cabral *et al.*, obtém o ICF a partir da medida do DBVE do coração fetal, dividindo-se pelo fêmur. Pode ser realizado no modo-M ou modo-B. Possui como ponto de corte o valor de 0,59, sendo alterados valores superiores a este. A FIG. 3 mostra a obtenção do DBVE. Logo após essa medida, foi realizada a medida do CF e determinado o ICF, dividindo-se a medida do DBVE pela medida do fêmur.

FIGURA 3 - Esquema demonstrativo da realização do índice cardiofemoral



Fonte: CEMEFE.

4.2.2 Medida do pico da velocidade sistólica da artéria cerebral média

Juntamente com o ICF, foi realizada a medida do PVS-ACM em todas as gestantes a partir de 22 semanas de gestação.

Método proposto por Mari *et al.* (2000), é obtido a partir do estudo doppler da ACM. As medidas foram comparadas à tabela de normalidade proposta por esses autores, de acordo com a idade gestacional no momento do exame. Valores acima de 1,5 MoM estavam alterados.

A FIG. 4 traz a tabela proposta por Mari *et al.* com valores de referência para a hemoglobina fetal normal nas diversas idades gestacionais.

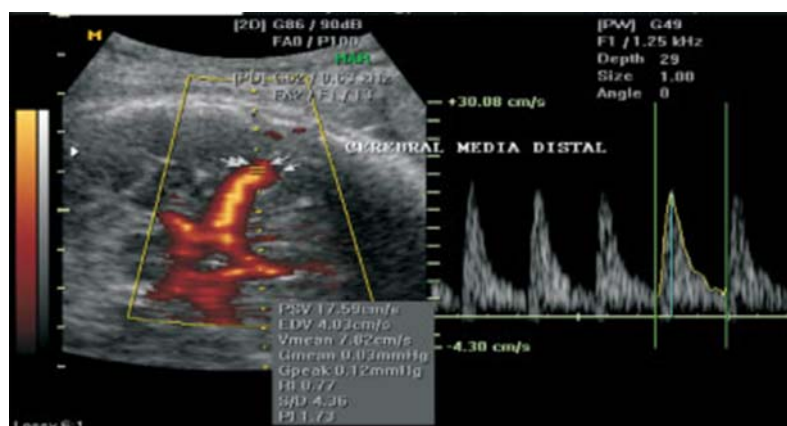
FIGURA 4 - Valores de referência para concentrações de hemoglobina fetal em função da idade gestacional, propostos por Mari *et al.* (2000)

WEEK OF GESTATION	MULTIPLES OF THE MEDIAN				
	1.10	1.00 (MEDIAN)	0.84	0.65	0.55
	grams per deciliter				
18	12.3	10.6	8.9	6.9	5.8
20	12.9	11.1	9.3	7.2	6.1
22	13.4	11.6	9.7	7.5	6.4
24	13.9	12.0	10.1	7.8	6.6
26	14.3	12.3	10.3	8.0	6.8
28	14.6	12.6	10.6	8.2	6.9
30	14.8	12.8	10.8	8.3	7.1
32	15.2	13.1	10.9	8.5	7.2
34	15.4	13.3	11.2	8.6	7.3
36	15.6	13.5	11.3	8.7	7.4
38	15.8	13.6	11.4	8.9	7.5
40	16.0	13.8	11.6	9.0	7.6

Fonte: Mari *et al.* (2000, p. 11).

A FIG. 5 mostra o estudo doppler da ACM e a obtenção do PVS-ACM.

FIGURA 5 - Esquema demonstrativo da realização do pico da velocidade sistólica da artéria cerebral média



Fonte: Cabral *et al.* (2005).

4.2.3 Classificação da gravidade da anemia fetal

Neste estudo foi utilizada a curva de Bahado-Singh *et al.* (1998), para classificação da anemia fetal: a) anemia leve/moderada (déficit de hemoglobina de 2–5 g/dL); b) anemia grave (déficit de hemoglobina > 5 g/dL).

4.2.4 Hemoglobina fetal e déficit de hemoglobina

A cordocentese foi realizada em toda gestante com sinais de hidropisia fetal ou alterações de um dos exames não invasivos realizados. Durante o procedimento era obtida amostra de sangue fetal para realização de hematimetria, déficit de hemoglobina, avaliação do estado de anemia e necessidade de TIU.

Neste estudo utilizou-se a curva de normalidade de hemoglobina fetal de Nicolaidis *et al.* (1988). O déficit de hemoglobina foi obtido pela diferença entre a hemoglobina esperada e a encontrada para determinada idade gestacional, em dp (1 dp ~ 1 g/dL) (NICOLAIDES *et al.*, 1988). Esta curva foi utilizada por Bahado-Singh para normalidade de hemoglobina, sendo que apenas o valor de corte para anemia foi modificado.

4.3 Normatização da dissertação

A normatização desta dissertação baseou-se nas regras de formatação propostas pelo padrão UFMG, que segue a NBR 14724 de 17.04.2011..

4.4 Análise estatística

Todas as variáveis categóricas foram avaliadas de acordo com a sua frequência absoluta e relativa.

Para as variáveis categóricas, utilizou-se o teste qui-quadrado de Pearson assintótico, quando 20% das caselas da tabela de contingência apresentaram valor esperado entre um e cinco e 80% valor esperado acima de cinco. Quando mais de 20% das caselas tinham valor esperado entre um e cinco, utilizou-se o teste qui-quadrado de Pearson exato.

O teste para normalidade de Shapiro-Wilk verificou a normalidade de todas as variáveis numéricas contínuas. Para a análise descritiva de variáveis com distribuição normal, os resultados foram expressos na forma de média \pm dp. Quando a variável não preencheu critérios de normalidade de distribuição, os resultados foram expressos na forma de mediana \pm intervalo interquartil (Q3-Q1).

Verificando-se as condições de normalidade das variáveis, os dados foram comparados a partir do teste t de Student. Quando variáveis não obedeciam à distribuição normal, para comparação entre grupos distintos utilizou-se o teste de Mann-Whitney para comparação de variáveis não paramétricas.

Na avaliação do ICF como métodos de predição da anemia grave nos três momentos do estudo, foram usados: a análise de teste diagnóstico via curva *receiver operating characteristic* (ROC), cálculos de sensibilidade, especificidade, VPP e VPN. Na construção de curvas envolvendo o ICF, considerou-se “mais positivo” o resultado com mais alto valor, sendo considerada variável de desfecho final a anemia fetal classificada como grave.

A análise estatística foi feita no *software Statistical Package for Social Sciences version 20* (SPSS; Chicago, IL, Estados Unidos da América).

QUADRO 1 - Valores para interpretação da área sob a curva ROC na eficiência estatística

Área (AUC)	Qualidade do diagnóstico
0.9 a 1.0	Excelente
0.8 a 0.9	Bom
0.7 a 0.8	Regular
0.6 a 0.7	Ruim
0.5 a 0.6	Insignificante

Fonte: Martinez, Lozada-Neto e Pereira (2003).

4.5 Aspectos éticos

Este estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa (COEP) da Universidade Federal de Minas Gerais sob o número 0404.0.203.000-11 (ANEXO A).

Todas as gestantes acompanhadas participaram voluntariamente da pesquisa e assinaram o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE) aprovado pelo COEP esclarecendo todo o processo da pesquisa (APÊNDICE B).

5 RESULTADOS

5.1 Análise do primeiro grupo

As TAB. 4 a 6 demonstram os resultados dos testes não invasivos em relação ao achado de anemia grave ou não, após obtenção da hematimetria fetal. A TAB. 1 refere-se ao ICF e a segunda TAB. 2 ao PVS-ACM.

TABELA 4 - Avaliação não invasiva através do índice cardiofemoral em gestantes isoimunizadas antes da realização da primeira transfusão intra uterina

		Anemia		
		Grave	Não grave	
Índice cardiofemoral	Alterado $\geq 0,59$	04	09	13
	Normal $< 0,59$	01	09	10
Total		05	18	23

TABELA 5 - Avaliação não invasiva através do pico da velocidade sistólica da artéria cerebral média em gestantes isoimunizadas antes da realização da primeira transfusão intra uterina

		Anemia		
		Grave	Não grave	
PVS-ACM	Alterado $> 1,5$ MoM	04	10	14
	Normal $\leq 1,5$ MoM	01	08	09
Total		05	18	23

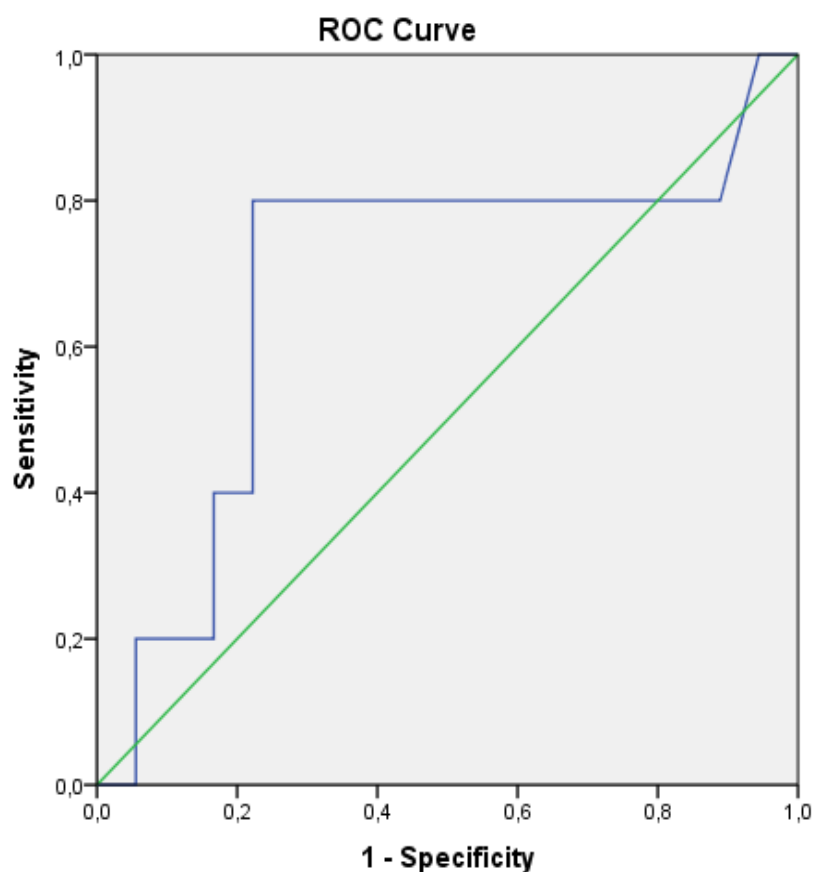
A TAB. 6 abaixo apresenta os valores de sensibilidade, especificidade, VPP e VPN do ICF e PVS-ACM dos fetos que foram submetidas posteriormente à primeira TIU.

TABELA 6 - Acurácia dos testes índice cardiofemoral e pico da velocidade sistólica da artéria cerebral média em fetos não transfundidos

	Sensibilidade	Especificidade	Valor preditivo positivo	Valor preditivo negativo
ICF	80%	50%	30%	90%
PVS-ACM	80%	55%	28%	88%

No GRÁF. 1 observa-se a representação da curva ROC referente ao ICF em fetos que não haviam sido submetidos a TIUs.

GRÁFICO 1 - Índice cardiofemoral em fetos não transfundidos



AUC-0,683 (95% IC, 0,384-0,983).

<i>CUT-OFF</i>	Sensibilidade	Especificidade
0,500	0,800	0,889

0,590	0,800	0,500
0,655	0,800	0,222

5.2 Análise do segundo grupo

As TAB. 7 e 8 evidenciam os resultados dos testes não invasivos na segunda TIU.

TABELA 7 - Avaliação não invasiva através do índice cardiofemoral em gestantes isoimunizadas antes da realização da segunda transfusão intra uterina

		Anemia		
		Grave	Não grave	
Índice	Alterado $\geq 0,59$	06	04	10
cardiofemoral	Normal $< 0,59$	02	11	13
Total		08	15	23

TABELA 8 - Avaliação não invasiva através do pico da velocidade sistólica da artéria cerebral média em gestantes isoimunizadas antes da realização da segunda transfusão intra uterina

		Anemia		
		Grave	Não grave	
PVS-ACM	Alterado $> 1,5$ MoM	06	07	13
	Normal $\leq 1,5$ MoM	02	08	10
Total		08	15	23

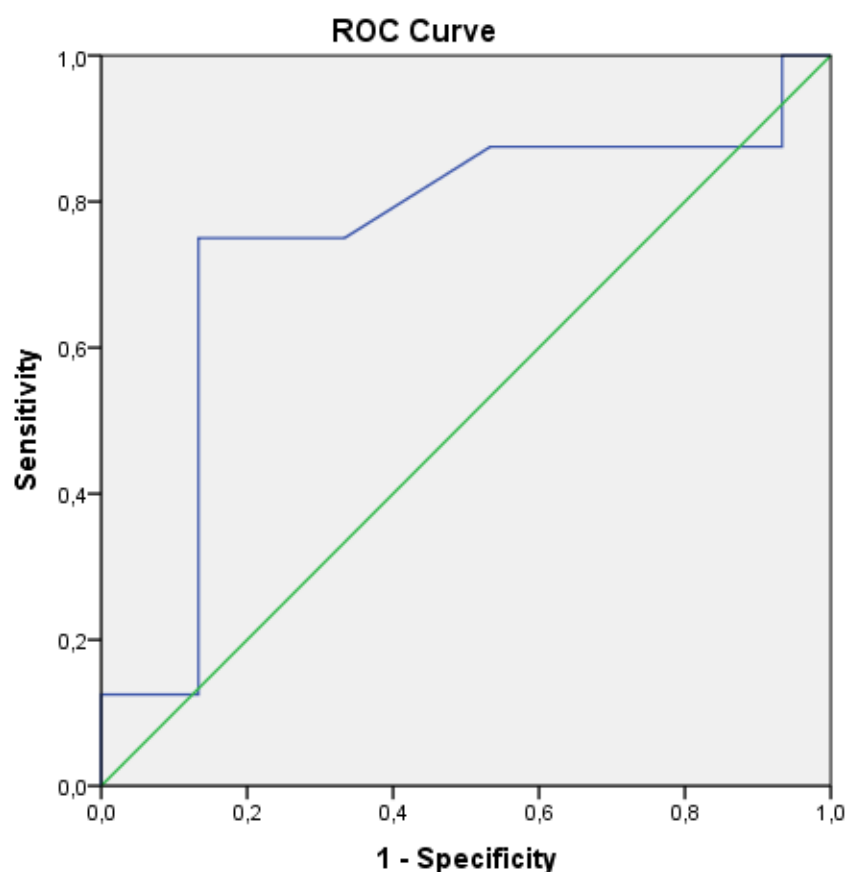
Na TAB. 9 constata-se a acurácia do ICF e do PVS-ACM dos fetos que foram submetidas posteriormente à segunda TIU.

TABELA 9 - Acurácia dos testes índice cardiofemoral e pico da velocidade sistólica da artéria cerebral média em fetos submetidos a uma transfusão intra uterina prévia

	Sensibilidade	Especificidade	Valor preditivo positivo	Valor preditivo negativo
ICF	75%	73%	60%	85%
PVS-ACM	75%	53%	46%	80%

O GRÁF. 2 representa a curva ROC referente ao ICF em fetos submetidos a uma TIU previamente.

GRÁFICO 2 - Índice cardiofemoral em fetos submetidos a uma transfusão intrauterina



AUC – 0,746 (95% IC, 0,510-0,982).

<i>CUT-OFF</i>	Sensibilidade	Especificidade
0,500	0,875	0,933
0,590	0,750	0,267
0,655	0,250	0,133

5.3 Análise do terceiro grupo

Nas TAB. 10 e 11 encontram-se os resultados de ICF e PVS-ACM em relação ao *status* de anemia fetal após a cordocentese.

TABELA 10 - Avaliação não invasiva através do índice cardiofemoral em gestantes isoimunizadas antes da realização da terceira transfusão intra uterina

		Anemia		
		Grave	Não grave	
Índice	Alterado $\geq 0,59$	10	04	14
cardiofemoral	Normal $< 0,59$	01	08	09
Total		11	12	23

TABELA 11 - Avaliação não invasiva através do pico da velocidade sistólica da artéria cerebral média em gestantes isoimunizadas antes da realização da terceira transfusão intra uterina

		Anemia		
		Grave	Não grave	
PVS-	Alterado $> 1,5$ MoM	05	03	08
ACM	Normal $\leq 1,5$ MoM	06	09	15
Total		11	12	23

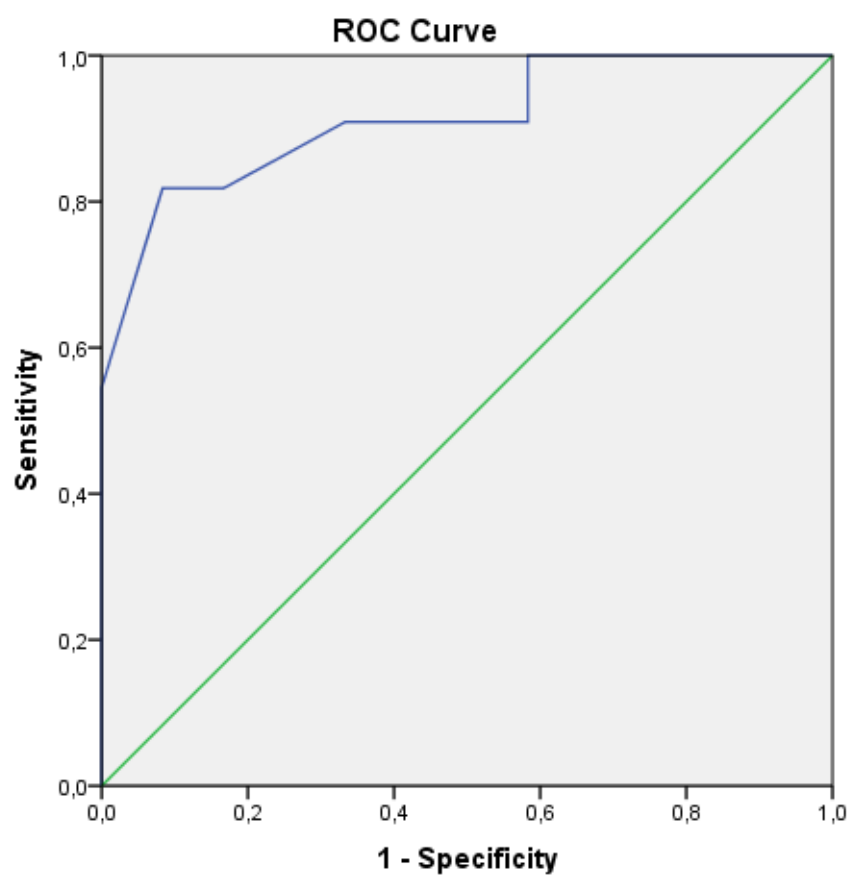
Os valores de sensibilidade, especificidade, VPP e VPN de ICF e PVS-ACM dos fetos politransfundidos encontram-se na TAB. 12.

TABELA 12 - Acurácia dos testes índice cardiofemoral e pico da velocidade sistólica da artéria cerebral média em fetos politransfundidos

	Sensibilidade	Especificidade	Valor preditivo positivo	Valor preditivo negativo
ICF	90%	67%	71%	89%
PVS-ACM	45%	75%	62%	60%

No GRÁF. 3 verifica-se a curva ROC referente ao ICF em fetos politransfundidos.

GRÁFICO 3 - Índice cardiofemoral em fetos politransfundidos



Diagonal segments are produced by ties.

AUC – 0,913 (95% IC, 0,792-1,000).

<i>CUT-OFF</i>	Sensibilidade	Especificidade
0,500	1,000	0,917
0,590	0,909	0,333
0,655	0,455	0,000

5.4 Acurácia do ICF e PVS-ACM utilizados associados

A acurácia dos testes ICF e PVS-ACM foi testada em conjunto, de acordo com sua utilização em série e em paralelo.

As TAB. 13 a 15 demonstram esses resultados para os três grupos formados.

TABELA 13 - Acurácia da utilização do índice cardiofemoral e pico da velocidade sistólica da artéria cerebral média em associação em pacientes não transfundidos

		Primeira TIU	
		Sensibilidade	Especificidade
ICF	Associação em série	0,64	0,75
PVS-ACM	Associação em paralelo	0,96	0,36

TABELA 14 - Acurácia da utilização do índice cardiofemoral e pico da velocidade sistólica da artéria cerebral média em associação em pacientes submetidas a uma transfusão intra uterina prévia

		Segunda TIU	
		Sensibilidade	Especificidade
ICF	Associação em série	0,57	0,87
PVS-ACM	Associação em paralelo	0,93	0,48

TABELA 15 - Acurácia da utilização do índice cardiofemoral e pico da velocidade sistólica da artéria cerebral média em associação em pacientes politransfundidos

		Terceira TIU	
		Sensibilidade	Especificidade
ICF	Associação em série	0,40	0,91
PVS-ACM	Associação em paralelo	0,95	0,60

6 DISCUSSÃO

6.1 Importância do estudo

A isoimunização materna, apesar dos grandes avanços já conseguidos nas últimas décadas em relação à sua profilaxia e tratamento, continua sendo a principal causa de anemia fetal e responsável por importante morbimortalidade perinatal. Dados recentes mostram que em 2009 o Brasil registrou 2.398 novos casos de doença hemolítica perinatal, totalizando 84/100.000 nascidos vivos (BRASIL, 2011).

Até a década de 60, as gestantes acometidas pela doença tinham apenas seguimento, sem tratamento adequado. Após o surgimento de técnicas de diagnóstico e tratamento realizados por Liley (1963) e o desenvolvimento da imunoglobulina antiD por Freda, Gorman e Pollack (1964), o seguimento da isoimunização materna e da doença hemolítica perinatal modificou-se, reduzindo consideravelmente seus resultados adversos.

O desenvolvimento das técnicas não invasivas de diagnóstico da anemia fetal contribuiu ainda mais para a redução da morbimortalidade da doença, já que diminuiu de forma importante o número de procedimentos invasivos que, como já dito anteriormente, são responsáveis por inúmeras complicações para o feto (VAN KAMP *et al.*, 2005).

O método hoje estabelecido como escolha inicial para o diagnóstico da anemia fetal grave é o estudo doppler da ACM fetal com medida do PVS (MOISE, 2008a). Sendo esse estudo alterado, indica-se então a realização de cordocentese e hematimetria fetal, padrão-ouro para a obtenção do valor da hemoglobina fetal (MOISE, 2008a).

Diversos outros métodos não invasivos foram propostos e testados, porém sem êxito (BAHADO-SINGH *et al.*, 1998; CABRAL, 2002; HECHER *et al.*, 1995; MOISE, 2008a). Somente a hidropisia fetal mostrou-se eficaz. No entanto, por se tratar de parâmetro de diagnóstico tardio e associado a representativo aumento de mortalidade perinatal, evita-se seu uso como *screening* de anemia fetal (MOISE, 2008a).

O CEMEFE-HC-UFMG, desde sua criação na década de 90, vem estudando a isoimunização materna e a doença hemolítica perinatal, tendo se tornado hoje referência nacional no acompanhamento e tratamento dessas gestantes e fetos acometidos pela doença. Em analogia à pesquisa científica mundial, os interesses do CEMEFE em relação à aloimunização materna concentram-se em desenvolver técnicas não invasivas de diagnóstico da anemia fetal. Em 2008, Cabral *et al.* propuseram o uso do ICF para este fim. Esse índice já havia sido testado diversas vezes, tendo sido comprovada sua acurácia em diagnosticar a anemia fetal grave. O método mostrou-se eficaz também para o diagnóstico da DHP nos fetos acima de 35 semanas de gestação e naqueles politransfundidos (CABRAL *et al.*, 2008). Esta última avaliação é de extrema importância frente a diversas pesquisas que já identificavam a falha do PVS-ACM nesses fetos em especial.

O presente estudo se propôs a analisar a acurácia do ICF e do PVS-ACM em fetos que sofreram transfusões repetidas, com o objetivo de demonstrar a queda da acurácia do PVS-ACM. Por outro lado, o intuito é apresentar o ICF como método estável de diagnóstico da anemia fetal, mesmo em fetos politransfundidos ou como técnica de seguimento de gestantes até o termo.

6.2 Pacientes e banco de dados

A confecção do banco de dados para este estudo passou por diversas dificuldades.

A primeira delas reside no fato de ser a isoimunização uma doença de elevada gravidade e com desfechos imprevisíveis. Em muitas situações, pacientes eram perdidas por necessidade de interrupção precoce da gestação, complicações de procedimentos invasivos ou óbito fetal.

A segunda dificuldade ocorreu na busca ativa de dados nos prontuários e bancos de dados do serviço. Por se tratar de estudo de coorte retrospectiva, sabe-se que perdas de informações são mais corriqueiras.

A terceira dificuldade se interpõe devido a modificações sofridas pelo protocolo do serviço ao longo dos anos e diminuição do número de TIU após implementação do acompanhamento das gestantes isoimunizadas com técnicas não invasivas de diagnóstico da anemia fetal. Essas novas práticas reduziram de

forma considerável o número de pacientes politransfundidas. Por esse motivo, apesar de dificultar a realização do estudo, essas mudanças foram de grande valia para a diminuição da morbimortalidade da doença.

Por esses motivos, iniciou-se o estudo com o número de 52 pacientes gestantes que sofreram duas ou mais TIUs, perdendo-se 14 delas por dados incompletos e 15 que haviam se submetido a apenas duas TIUs.

6.3 Métodos do estudo

As pacientes isoimunizadas cadastradas no serviço foram acompanhadas segundo protocolo (APÊNDICE A), como já dito anteriormente, com realização de exames ultrassonográficos semanais após 22 semanas de gestação. O ICF e o PVS-ACM foram procedidos segundo descrição das técnicas (CABRAL *et al.*, 2008; MARI *et al.*, 2000). A cordocentese, indicada quando um dos exames não invasivos mostrava-se alterado ou em caso de hidropisia fetal, era realizada de acordo com técnica descrita no ANEXO B (DAFFOS; CAPELLA-PAVLOVSKY; FORESTIER, 1983).

Existem hoje, na literatura, três referências para diagnóstico e classificação da anemia fetal. Segundo Nicolaidis *et al.* (1988), em gestações complicadas com isoimunização Rh a gravidade da doença deve ser acompanhada e tratada baseada no déficit de hemoglobina fetal em relação ao valor normal de acordo com a idade gestacional. Os autores consideram anemia leve quando o déficit de hemoglobina é inferior a 2 g/dL; anemia moderada quando entre 2 e 7 g/dL; e anemia grave quando superior a 7 g/dL.

Para Mari *et al.* (2000), a hidropisia fetal é rara em fetos com concentração de hemoglobina abaixo de 5 g/dL, valor que corresponde à concentração 0,47 vez a mediana para 18 semanas e 0,36 vez para 37 semanas. Dessa forma, classificaram o grau de anemia fetal em leve quando a concentração de hemoglobina está entre 0,84 e 0,65 o valor de mediana para a idade gestacional; moderada quando entre 0,65 e 0,55 o valor da mediana; e grave quando inferior a 0,55 vez o valor da mediana.

Bahado-Singh *et al.* (1998) empregaram os mesmos parâmetros de normalidade para hemoglobina fetal por idade gestacional sugeridos por Nicolaidis *et al.* (1988). No entanto, propuseram outra classificação para a

gravidade da anemia fetal. Definiram como anemia leve o déficit de hemoglobina igual ou inferior a 2 g/dL e anemia grave o déficit de hemoglobina igual ou superior a 5 g/dL de acordo com a idade gestacional.

O diagnóstico e a classificação da anemia fetal seguiram os critérios estabelecidos por Bahado-Singh *et al.* (1998). A decisão de se estabelecer essa classificação como parâmetro de gravidade da anemia fetal deveu-se à dissertação de mestrado apresentada no serviço em 2011, que fez criteriosa análise das curvas descritas na literatura para esse fim (COELHO, 2011). O trabalho apresentado concluiu que, para as pacientes acompanhadas no CEMEFE-HC-UFMG, a classificação de Bahado-Singh *et al.* (1998) seria mais eficiente para a identificação de maior número de fetos com elevada morbimortalidade, comparando-se às demais propostas.

6.4 Resultados do índice cardiofemoral

A utilização de alterações das medidas do coração como parâmetro de diagnóstico da insuficiência cardíaca fetal foi inicialmente proposta por De Vore, Seassi e Platt (1984), que usavam o DBVE fetal associado ao DBP para o diagnóstico de insuficiência cardíaca fetal. No entanto, devido a alterações do DBP na vigência de anomalias cranianas que poderiam comprometer a acurácia do método, em 1985 os mesmos pesquisadores propuseram o uso do fêmur como denominador comum do DBVE para compor um parâmetro independente da idade gestacional, criando o índice cardiofemoral (CABRAL *et al.*, 2005). Em 2008, Cabral *et al.* sugeriram o uso desse índice para a insuficiência cardíaca secundária à anemia fetal devida à isoimunização Rh.

No presente estudo, 23 gestantes foram selecionadas e as primeiras três TIUs foram avaliadas. Em relação ao ICF, detectou-se sensibilidade de 80%, 75%, 90% para a primeira, segunda e terceira TIUs, respectivamente. Esse dado foi semelhante ao encontrado por Cabral *et al.* (2008), que obtiveram sensibilidades de 87,2%, 88,0% e 94,1% também para as três primeiras TIUs, respectivamente.

Os resultados de VPN foram de 90%, 85% e 89% para primeira, segunda e terceira TIUs, respectivamente, evidenciando ser o ICF um bom método de

screening, prevenindo a realização desnecessária de exames invasivos e diminuindo, com isso, a morbidade fetal.

Construiu-se a curva ROC referente às TIUs. Para a primeira, segunda e terceira TIUs, o valor de AUC foi de 0,683, 0,746 e 0,916, apresentando-se como uma curva ruim, regular e excelente, respectivamente.

De acordo com os dados obtidos, observou-se que o ICF mostra-se como método eficaz e com boa acurácia para o diagnóstico da anemia fetal grave. Além disso, apurou-se equilíbrio e até mesmo melhora da acuidade desse parâmetro em fetos submetidos a múltiplas TIUs. Este fato pode ser justificado a partir da fisiopatologia da insuficiência cardíaca em fetos anêmicos, já que, apesar da substituição do sangue fetal por sangue adulto após TIUs repetidas e elevação do hematócrito e da viscosidade sanguínea, o processo anêmico irá continuar no decorrer da gestação, perpetuando as alterações cardíacas fetais.

6.5 Resultados do pico da velocidade sistólica da artéria cerebral média

O PVS-ACM foi descrito inicialmente como método eficaz na identificação de fetos gravemente acometidos pela doença hemolítica perinatal, com sensibilidade de 100% (MARI *et al.*, 2000). Essa sensibilidade não foi reproduzida em estudos posteriores (OEPKES *et al.*, 2006; ZIMMERMANN *et al.*, 2002). Além disso, outras publicações já identificavam a diminuição da acurácia do método em gestantes com idade gestacional superior a 35 semanas e fetos politransfundidos, como a de Zimmermann *et al.* (2002).

De acordo com esses autores, após 35 semanas de gestação, devido a alterações fisiológicas no organismo fetal, o PVS-ACM perde sua correlação matemática com a hemoglobina fetal. A equação de Hagen-Poiseuille é uma lei da Física que descreve fluxo incompressível de baixa viscosidade através de um tubo de secção transversal circular constante. Segundo essa equação, a velocidade do sangue é proporcional ao gradiente pressórico e ao calibre do vaso estudado e indiretamente proporcional à viscosidade do sangue e ao comprimento do vaso. Após 35 semanas de gestação, o gradiente pressórico mostra-se com mais variação, levando a alto número de falso-positivos. Outra explicação também é o aumento da variação da complacência do vaso levando a modificações em seu calibre (ZIMMERMANN *et al.*, 2002).

Acredita-se, porém, que o PVS-ACVM também perde valor após repetidas TIUs devido a modificações das características do sangue circulante no organismo fetal (DETTI *et al.*, 2002). De acordo com Stefos *et al.* (2002), a hipótese para esse fenômeno reside em modificações da oxigenação dos tecidos fetais e aumento da viscosidade do sangue circulante. A diminuição da velocidade do sangue ocorre por elevação da impedância dos tecidos cerebrais como resultado do aumento da oxigenação dos mesmos. Associadamente verifica-se aumento da viscosidade sanguínea por elevação do hematócrito, que leva à elevação da pós-carga e do volume circulante, com diminuição do débito cardíaco e, conseqüentemente, da velocidade do sangue. Corroborando essa hipótese, Detti *et al.* (2002) publicaram trabalho no qual que mostravam a diminuição da sensibilidade do PVS-ACM após uma TIU, propondo, inclusive, novo ponto de corte (1,69 MoM) para o método em pacientes que já haviam sofrido TIUs. O estudo ressaltou, também, que apesar dessa modificação ainda existia boa correlação do ponto de corte de 1,5 MoM para anemia grave.

O presente estudo avaliou a acurácia do PVS-ACM nas 23 gestantes e suas três primeiras TIUs. A sensibilidade do método foi de 80%, 75% e 45% para primeira, segunda e terceira TIUs, respectivamente. Observa-se que, semelhantemente ao estudo de Detti *et al.* (2001), houve diminuição da sensibilidade do PVS-ACM após a primeira TIU, porém não muito significativa, mantendo, portanto, o método sua eficácia. A partir da segunda TIU registrou-se importante queda da sensibilidade do doppler da ACM, sendo este não mais um parâmetro confiável para ser utilizado de forma isolada no diagnóstico da anemia fetal grave em fetos politransfundidos.

Os resultados de VPN foram de 88,8%, 80% e 60% para primeira, segunda e terceira TIUs, respectivamente. Em analogia à sensibilidade, apurou-se considerável queda também em relação ao VPN do PVS-ACM, diminuindo a acurácia desse método e a segurança do seu uso isolado no *screening* de fetos anêmicos politransfundidos.

6.6 Índice cardiofemoral associado ao pico da velocidade sistólica da artéria cerebral média

Em estudo publicado em 2010, Cabral *et al.* combinaram o uso do ICF e do PVS-ACM para predição da anemia fetal. Com isso obtiveram sensibilidade de 100% dos métodos utilizados em conjunto para o diagnóstico da anemia fetal grave.

A presente investigação realizou a medida da acurácia do ICF e PVS-ACM utilizados em paralelo e em série como *screening* da anemia fetal. O estudo em série se refere a um teste inicialmente e, caso este se mostre alterado, realiza-se o outro posteriormente para confirmação diagnóstica. Os testes em série maximizam a especificidade e o VPP, mas diminuem a sensibilidade e o VPN. Já os estudos em paralelo referem-se à utilização de dois testes ao mesmo tempo e independentes do resultado de um ou outro. Os testes em paralelo geralmente aumentam a sensibilidade e o VPN do exame.

No caso da isoimunização materna, sendo essa doença de extrema gravidade e com elevada morbimortalidade fetal, acredita-se que o aumento da sensibilidade deve ser considerado, com o intuito de diminuir a probabilidade de um feto gravemente comprometido passar despercebido ao *screening* da anemia grave.

De acordo com os resultados obtidos, constatou-se sensibilidade de 96%, 93% e 95% referentes à primeira, segunda e terceira TIUs, respectivamente. Esses resultados corroboram os obtidos por Cabral *et al.* (2010) e comprovam considerável aumento da eficácia do *screening* da anemia grave com testes associados em paralelo.

Nesse contexto, pode-se considerar o uso associado do ICF e do PVS-ACM como método não invasivo de diagnóstico da anemia fetal grave, principalmente para fetos politransfundidos, com o objetivo dos testes se complementarem suprindo deficiências quando utilizados de forma isolada.

6.7 Limitações do estudo, perspectivas e sugestões

Acredita-se que as limitações desta pesquisa residem principalmente na obtenção do banco de dados para investigação posterior. Como já enfatizado

anteriormente, por se tratar de análise retrospectiva, entende-se que alto número de dados foi perdido ao longo dos anos. Associada a essas dificuldades, a utilização atual ampla dos métodos não invasivos diminuiu consideravelmente a necessidade da realização de cordocenteses e tratamento com TIUs repetidas, diminuindo diretamente o número de fetos politransfundidos.

Por outro lado, os resultados obtidos neste trabalho demonstram a eficácia do ICF não somente para os fetos submetidos a TIUs repetidas, como também para análise inicial em fetos que não sofreram transfusões. Além disso, seu uso associado ao PVS-ACM também demonstrou aumento da sensibilidade de *screening*, devendo essa associação ser considerada, da mesma forma como é realizado hoje no CEMEFÉ-HC-UFMG.

Finalmente, sugere-se que mais estudos referentes ao uso do ICF e dos testes em associação devam ser conduzidos, não somente no nosso serviço, para a verificação de sua eficácia também em populações distintas da abordada nesta pesquisa.

7 CONCLUSÕES

- O índice cardiofemoral apresenta-se como método diagnóstico para anemia fetal grave de boa acurácia, mantendo sua efetividade mesmo em fetos politransfundidos.
- O PVS-ACM, método hoje consagrado como de escolha no diagnóstico da anemia fetal grave, perde acuidade após transfusões intrauterinas repetidas.
- O uso do PVS-ACM em associação com o ICF aumenta a sensibilidade do *screening* da anemia fetal grave.

REFERÊNCIAS

BAHADO-SINGH, R. *et al.* Fetal splenic size in anemia due to Rh-alloimmunization. **Obstet Gynecol**, v. 92, n. 5, p. 828-32, 1998.

BAHADO-SINGH, R.O. *et al.* Middle cerebral artery Doppler velocimetric deceleration angle as a predictor of fetal anemia in Rh-alloimmunized fetuses without hydrops. **Am J Obstet Gynecol**, v. 183, n. 3, p. 746-51, 2000.

BARCELOS, T.B. **Acuidade do índice ecográfico diâmetro biventricular externo/comprimento do fêmur na predição da anemia fetal em gestantes isoimunizadas** (tese). Belo Horizonte: Universidade Federal de Minas Gerais; 2003.

BEVIS, D.C. The composition of liquor amnii in haemolytic disease of the newborn. **J Obstet Gynaecol Br Emp**, v. 60, p. 244-251, 1953.

BONOMI, B.A. **Avaliação do diâmetro biventricular externo do coração fetal como marcador de insuficiência cardíaca na anemia grave**. 2007. 104 f. Dissertação (Mestrado Saúde da Mulher) - Faculdade de Medicina, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2007.

BOWMAN, J.M.; POLLOCK, J.M.; PENSTON, L.E. Fetomaternal transplacental hemorrhage during pregnancy and after delivery. **Vox Sang**, v. 51, n. 2, p. 117-21, 1986.

BRASIL. Ministério da Saúde. **Morbidade hospitalar do SUS: por local de internação – Brasil**. Brasília, 2011. Disponível em: <http://tabnet.datasus.gov.br/cgi/tabcgi.exe?sih/cnv/niuf.def>. Acesso em: novembro de 2012.

BULLOCK, R. *et al.* Prediction of fetal anemia in pregnancies with red-cell alloimmunization: comparison of middle cerebral artery peak systolic velocity and amniotic fluid OD450. **Ultrasound Obstet Gynecol**, v. 25, p. 331-334, 2005.

CABRAL A.C.V. *et al.* Cardiofemoral index as an ultrasound marker of fetal anemia in isoimmunized pregnancy. **Int J Gynecol Obstet**, v. 100, p. 60-64, 2008.

CABRAL, A.C.V. *et al.* Combined use of the cardiofemoral index and middle cerebral artery Doppler velocimetry for the prediction of fetal anemia. **Int J Gynecol Obstet**, v. 111, p. 205-8, 2010.

CABRAL, A.C.V. *et al.* Índice cardiofemoral para avaliação da anemia de fetos de gestantes isoimunizadas. **RBGO**, v. 27, n. 8, p. 450-5, 2005.

CABRAL, A.C.V. *et al.* Isoimunização materna pelo fator Rh: histórico e perspectiva. **Femina**, v. 28, n. 4, p. 205-7, 2000.

CABRAL, A.C.V. *et al.* Transfusão sanguínea fetal: experiência do centro de medicina fetal da UFMG. **RMMG**, v. 3, n. 3, p. 2-3, 1993.

CABRAL, A.C.V. Isoimunização Rh. *In:* _____. **Obstetrícia**. 2. ed., Rio de Janeiro: Revinter, cap. 28, p. 2, 2002.

CARBONNE, B. *et al.* Prenatal diagnosis of anoxic cerebral lesions caused by profound fetal anemia secondary to maternal red blood cell isoimmunization. **Obstet Gynecol**, v. 112, p. 442-4, 2008.

COELHO, T.L.R. **Avaliação crítica dos parâmetros atuais de classificação da anemia dos fetos de gestantes aloimunizadas**. 2011. 72f. Dissertação (Mestrado em Saúde da Mulher) - Faculdade de Medicina, Universidade Federal de Minas Gerais, 2011.

COPEL, J.A. *et al.* Fetal cardiac output in the isoimmunized pregnancy: A pulsed Doppler-echocardiographic study of patients undergoing intravascular intrauterine transfusion. **Am J Obstet Gynecol**, v. 161, p. 361-365, 1989.

COSMI, E. *et al.* Noninvasive diagnosis by Doppler ultrasonography of fetal anemia due to massive fetomaternal hemorrhage in a case of twin-twin transfusion syndrome treated with serial amnioreduction. **Ultrasound Obstet Gynecol**, v. 25, p. 415-6, 2005.

COSMI, E. *et al.* Noninvasive diagnosis by Doppler ultrasonography of fetal anemia resulting from parvovirus infection. **Am J Obstet Gynecol**, v. 187, p. 1290-3, 2002.

DAFFOS, F.; CAPELLA-PAVLOVSKY, M.; FORESTIER, F. A new procedure for fetal blood sampling in utero: preliminary results of fifty-three cases. **Am J Obstet Gynecol**, v. 146, p. 985-7, 1983.

DAFFOS, F.; CAPELLA-PAVLOYSKY, M.. FORESTIER F. Fetal blood sampling during pregnancy with use of a needle guided by ultrasound: a study of 606 consecutive cases. **Am J Obstet Gynecol**, v. 153, n. 6, p. 655-60, 1985.

DETTI, L. *et al.* Doppler ultrasound velocimetry for timing the second intrauterine transfusion in fetuses with anemia from red cell alloimmunization. **Am J Obstet Gynecol**, v. 185, n. 5, p. 1048-1051, 2001.

DETTI, L. *et al.* Longitudinal assessment of the middle cerebral artery peak systolic velocity in healthy fetuses and in fetuses at risk for anemia. **Am J Obstet Gynecol**, v. 187, n. 4, p. 937-9, 2002.

DE VORE, G.R.; SEASSI, B.; PLATT, K.D. Use of fêmur length as a means of assessing M-mode ventricular dimensions during second and third trimesters of pregnancy in normal fetus. **J Clin Ultrasound**, v. 13, p. 619-25, 1985.

DE VORE, G.R.; SIASSI, B.; PLATT L.D. M-mode assessment of ventricular size and contractility during the second and third trimestres of pregnancy in the normal fetus. **Am J Obstet Gynecol**, v. 150, n. 8, p. 981-988, 1984.

DIAMOND, L.E.; BLACKFAN, K.D.; BATY J.M. Erythroblastosis fetalis and its association with universal edema of the fetus, icterus gravis neonaturium and anemia of the newborn. **J Pediatr**, v. 1, p. 269-309, 1932.

DUKLER, D. *et al.* Noninvasive tests to predict fetal anemia. A study comparing Doppler and ultrasound parameters. **Am J Obstet Gynecol**, v. 188, n. 5, p. 1310-1314, 2003.

FAN, F.C. *et al.* Effects of hematocrit variations on regional hemodynamics and oxygen transport in the dog. **Am J Physiol**, v. 238, p. H545-H552, 1980.

FREDA, V.J.; GORMAN, J.G.; POLLACK, W. Successful prevention of experimental Rh sensitization in man with an Anti-Rh Gamma2-globulin antibody preparation: a preliminary report. **Transfusion**, v. 77, p. 26-32, 1964.

GEIFMAN-HOLTZMAN, O.; GROTEGUT, C.A.; GAUGHAN, J.P. Diagnostic accuracy of noninvasive fetal Rh genotyping from maternal blood – a meta-analysis. **Am J Obstet Gynecol**, v. 195, n. 4, p. 1163-73, 2006.

HANAN, M.Z. *et al.* Correlação entre medidas ultrassonográficas do coração e o déficit de hemoglobina em fetos de gestantes aloimunizadas. **RBGO**, v. 30, n. 7, p. 341-8, 2008.

HARMAN, C.R. *et al.* Intrauterine transfusion – intraperitoneal versus intravascular approach: a case-control comparison. **Am J Obstet Gynecol**, v. 162, p. 1053-9, 1990.

HECHER, K. *et al.* Fetal venous, arterial, and intracardiac blood flows in red blood cell isoimmunization. **Obstet Gynecol**, v. 85, p. 122-8, 1995.

HOWE, D.T.; MICHAELIDIS, G.D. Intraperitoneal transfusion in severe, earlyonset Rh isoimmunization. **Obstet Gynecol**, v. 110, p. 4, p. 880-884, 2007.

HUHTA, J.C. Fetal congestive heart failure. **Semin Fetal Neonatal Med**, v. 10, n. 6, p. 542-52, 2005.

KRETTLI, W.S.C. **Correlação entre o índice cardiofemoral e o perfil gasométrico fetal em gestações complicadas por isoimunização**. 2006. 106 f. Dissertação (Mestrado em Saúde da Mulher) - Faculdade de Medicina - Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2006.

LANDSTEINER, K.; WEINER, S. An agglutinable factor in human blood recognized by immune sera for Rhesus blood. **Proc Soc Exp Biol Med**, v. 43, p. 223, 1940.

LEVINE, P.; KATZIN, E.M.; BURHAM L. Isoimmunization in pregnancy: its possible bearing on etiology of erythroblastosis foetalis. **JAMA**, v. 116, p. 825-7, 1941.

LILEY, A.W. Intrauterine transfusion of foetus in hemolytic disease. **Br Med**, v. 5365, p. 1107-1109, 1963.

LILEY, A.W. Liquor amni analysis in the management of pregnancy complicated by rhesus sensitization. **Am J Obstet Gynecol**, v. 82, p. 1359-70, 1961.

LILEY, A.W. The development of the idea of fetal transfusion. **Am J Obstet Gynecol**, v. 111, n. 2, p. 302-304, 1971.

LILEY, A.W. The technique and complications of amniocentesis. **Northwest Med**, v. 59, p. 581-86, 1960.

MARI, G. *et al.* Diagnosis of fetal anemia with Doppler ultrasound in the pregnancy complicated by maternal blood group immunization. **Ultrasound Obstet Gynecol**, v. 5, p. 400-5, 1995.

MARI, G. *et al.* Middle cerebral artery pulsatility index and maximal velocity as indicators of fetal anemia. *In: 37th ANNUAL MEETING OF THE SOCIETY FOR GYNECOLOGIC INVESTIGATION*, St Louis, MO, USA, 1990; **Abstract**, 253.

MARI, G. *et al.* Noninvasive diagnosis by Doppler ultrasonography of fetal anemia due to maternal red-cell alloimmunization. **N Engl J Med**, v. 342, p. 9-14, 2000.

MARI, G. Middle cerebral artery peak systolic velocity for the diagnosis of fetal anemia: the untold story. **Ultrasound Obstet Gynecol**, v. 25, p. 323-330, 2005.

MARTINEZ, E.Z.; LOZADA-NETO, F.; PEREIRA, B.B. A curva ROC para testes diagnósticos. **Cadernos saúde coletiva**, Rio de Janeiro, v. 11, p. 7-31, 2003.

MOISE Jr., K.J. Diagnosing hemolytic disease of the fetus: Time to put the needles away? **N Engl J Med**, v. 355, n. 2, p. 192-4, 2006.

MOISE Jr., K.J. *et al.* Acute fetal hemodynamic alterations after intrauterine transfusion for treatment of severe red blood cell alloimmunization. **Am J Obstet Gynecol**, v. 163, p. 776-84, 1990.

MOISE, K.J. Management of rhesus isoimmunization in pregnancy. **Obstet Gynecol**, v. 112, n. 1, p. 164-76, 2008a.

MOISE Jr., K.J. The usefulness of middle cerebral artery Doppler assessment in the treatment of the fetus at risk for anemia. **Am J Obstet Gynecol**, v. 198, n. 2, p. 161e1-164e4, 2008b.

NARDOZZA, L.M. *et al.* Perinatal mortality in Rh alloimmunized patients. **Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol**, v. 132, n. 2, p. 159-162, 2007.

NICOLAIDES, K.H.; BILARDO, C.M.; CAMPBELL, S. Prediction of fetal anemia by measurement of the mean blood velocity in the fetal aorta. **Am J Obstet Gynecol**, v. 162, p. 209-12, 1990.

NICOLAIDES, K.H. *et al.* Failure of ultrasound parameters to predict the severity of fetal anemia in rhesus isoimmunization. **Am J Obstet Gynecol**, v. 158, p. 920-6, 1988.

NICOLAIDES, K.H. *et al.* Fetal haemoglobin measurement in the assessment of red cell isoimmunisation. **Lancet**, v. 14, n. 1, p. 1073-1075, 1988.

NICOLAIDES, K.H. Studies on fetal physiology and pathophysiology in Rhesus Disease. **Sem Perinatol**, v. 13, n. 4, p. 328-337, 1989.

NICOLAIDES, K.H.; WARENSKI, J.C.; RODECK, C.H. The relationship of fetal plasma protein concentration and hemoglobin level to the development of hydrops in rhesus isoimmunization. **Am J Obstet Gynecol**, v. 152, n. 3, p. 341-344, 1985.

NISHIE, E.N. *et al.* A comparison between middle cerebral artery peak systolic velocity and amniotic fluid optical density at 450 nm in the prediction of fetal anemia. **Am J Obstet Gynecol**, v. 188, n. 1, p. 214-219, 2003.

OEPKES, D. *et al.* Doppler ultrasound versus amniocentesis to predict fetal anemia. **N Engl J Med**, v. 355, p. 156-64, 2006.

OEPKES, D.; VAN SCHELTEMA, P.A. Intrauterine fetal transfusions in the management of fetal anemia and fetal thrombocytopenia. **Sem Fetal Neonatal Med**, v. 12, n. 6, p. 432-438, 2007.

OUZANIAAN, J.G. *et al.* Ultrasonographic fetal cardiac measurement in isoimmunized pregnancies. **J Reprod Med**, v. 42, p. 342-6, 1997.

OZANAN, G.C. **Análise multivariada dos fatores determinantes da mortalidade perinatal de fetos submetidos à transfusão sanguínea intraútero por anemia decorrente da isoimunização materna.** 2010. 62f. Dissertação (Mestrado em Saúde da Mulher) - Faculdade de Medicina, Universidade Federal de Minas Gerais, 2010.

PAPANTONIOU, N. *et al.* Increasing the noninvasive management of rhesus isoimmunization. **Int J Gynecol Obstet**, v. 101, p. 281-284, 2008.

PEETERS, L.L.H. *et al.* Blood flow to fetal organs as a function of arterial oxygen content. **Am J Obstet Gynecol**, v. 135, n. 5, p. 637-46, 1979.

QUEENAN, J.T. *et al.* Deviation in amniotic fluid optical density at a wavelength of 450 nm in Rh-immunized pregnancies from 14 to 40 weeks' gestation: a proposal for clinical management. **Am J Obstet Gynecol**, v. 168, p. 1370-6, 1993.

RIZZO, G.; ARDUINI, D.; ROMANINI, C. Doppler echocardiographic assessment of fetal cardiac function. **Ultrasound Obstet Gynecol**, v. 2, n. 6, p. 434-45, 1992.

RODRIGUES, P. *et al.* Association between cardiofemoral index and perinatal outcome pregnancies complicated with alloimmunization. *In: WORLD CONGRESS OF PERINATOLOGY*, 8th, 2007, Florença. *J. Perinat. Med.*, proceedings. Berlin: Walter de Gruyter GmbH & Co. Kg, 2007. p. S253. [**Abstract**].

SCHEIER, M. *et al.* Prediction of fetal anemia in rhesus disease by measurement of fetal middle cerebral artery peak systolic velocity. **Ultrasound Obstet Gynecol**, v. 23, p. 432-436, 2004.

SCHEIER, M. *et al.* Prediction of severe fetal anemia in red blood cell alloimmunization after previous intrauterine transfusions. **Am J Obstet Gynecol**, v. 195, p. 1550-6, 2006.

SPINNATTO, J.A.. Hemolytic disease of the fetus: a plea for restraint. **Obstet Gynecol**, v. 80, n. 5, p. 873-7, 1992.

STEFOS, T. *et al.* Correction of fetal anemia on the middle cerebral artery peak systolic velocity. **Obstet Gynecol**, v. 99, n. 2, p. 211-15, 2002.

TAVEIRA, M.R., *et al.* Diagnóstico não invasivo da anemia fetal pela medida do pico de velocidade sistólica na dopplervelocimetria da artéria cerebral média. **RBGO**, v. 26, n. 8, p. 649-653, 2004.

VAN DONGEN, H. *et al.* Non-invasive tests to predict fetal anemia in Kell-alloimmunized pregnancies. **Ultrasound Obstet Gynecol**, v. 25, p. 341-345, 2005.

VAN KAMP, I.L. *et al.* Complications of intrauterine transfusion for fetal anemia due to maternal red-cell alloimmunization. **Am J Obstet Gynecol**, v. 192, p. 171-7, 2005.

VON LINDERN, J.S.; BROND, A. The use of blood products in perinatal medicina. **Semin Fetal Neonatal Med**, v. 13, n. 14, p. 272-81, 2008.

WEINER, S.R.J. *et al.* Ultrasound in the evolution and management of the isoimmunized pregnancy. **J Clin Ultrasound**, v. 9, n. 6, p. 315-23, 2001.

ZIMMERMANN, R. *et al.* Longitudinal measurement of peak systolic velocity in the fetal middle cerebral artery for monitoring pregnancies complicated by red cell alloimmunization: a prospective multicenter trial with intention-to-treat. **BJOG**, v. 109, n. 7, p. 746-52, 2002.

APÊNDICES E ANEXOS

APÊNDICE A - Protocolo de acompanhamento das gestações isoimunizadas no CEMEFE-HC-UFMG

1. Anamnese detalhada
2. Grupo sanguíneo e fator Rh materno e paterno.
3. Coombs indireto quantitativo à admissão. A seguir, quinzenal ou mensal.
4. Painel de hemácias para determinar o anticorpo envolvido na sensibilização materna.
5. Ultrassonografia periódica.
6. PVS-ACM e ICF: realizado em todas as gestações a partir de 22 semanas, com repetição quinzenal até 30 semanas e semanal a partir de então até o parto. Nos fetos com alto risco de anemia fetal o exame é realizado semanalmente (passado obstétrico desfavorável com natimorto, hidropisia fetal, necessidade de transfusão em gestações anteriores ou na atual, coombs indireto $\geq 1:256$ ou seu aumento acima de dois títulos, alterações no PVS-ACM ou ICF não confirmados no exame subsequente. Deve-se repetir o exame no dia seguinte, caso algum parâmetro esteja alterado.
7. Cordocentese, entre 20 e 34 semanas: indicada se hidropisia fetal ou PVSACM e ICF alterados. Determinar hemoglobina e grupo sanguíneo fetal.
8. TIU realizada até 34 semanas, quando o déficit de hemoglobina fetal é > 5 g/dL.
9. Interrupção de gestação dos fetos transfundidos: 34 semanas.
10. Interrupção de gestação dos fetos não transfundidos: 37-38 semanas. Se houver alteração do ICF ou PVS-ACM acima de 34 semanas, está indicada a interrupção imediata da gestação.
11. Corticoterapia para maturação pulmonar fetal está indicada nas interrupções abaixo de 36 semanas.
12. Fenobarbital sete dias antes do parto está indicado nas interrupções eletivas.

APÊNDICE B - Termo de Consentimento Livre e Esclarecido

ESTUDO COMPARATIVO DA PREDIÇÃO DA ANEMIA EM FETOS TRANSFUNDIDOS PELOS MÉTODOS DO ÍNDICE CARDIOFEMORAL E PICO DA VELOCIDADE SISTÓLICA DA ARTÉRIA CEREBRAL MÉDIA

Este estudo está sendo desenvolvido por mim, Marina Magalhães Lins Victória Mariz, e pelo professor Henrique Vitor Leite, para minha dissertação de mestrado, intitulado **Estudo comparativo da predição da anemia em fetos transfundidos pelos métodos do índice cardiofemoral e pico da velocidade sistólica da artéria cerebral média**. Você está sendo convidada a participar deste estudo por ter sido acompanhada durante a gestação pela Medicina Fetal do Hospital das Clínicas da UFMG e ter sido necessária a transfusão de sangue em seu(sua) filho(a) durante a gravidez.

Sabemos que durante a gestação de pacientes que têm o sangue Rh-negativo, que possuem exame de coombs indireto positivo e cujo feto é Rh-positivo, pode ocorrer desenvolvimento de anemia fetal que, caso não seja diagnosticada e tratada a tempo, pode provocar anemia da criança e sua morte dentro do útero.

O acompanhamento pré-natal dessas gestantes tem como objetivo principal diagnosticar a anemia fetal antes que ela se agrave; e quando for diagnosticada anemia no feto, deve-se fazer a transfusão de sangue. Para tanto, são realizados vários exames, como avaliação do sangue fetal, que é obtido através da punção de uma agulha no cordão umbilical (cordocentese). Esse exame tem riscos, apesar de baixos (1,0 a 2,0%), que podem provocar infecção, trabalho de parto prematuro, ruptura de membranas amnióticas, entre outras. Por isso, muitos estudos vêm sendo realizados buscando outros exames que não causem esses riscos.

Diversas pesquisas com a utilização do ultrassom têm sido feitas com o objetivo de se entender como o feto anêmico se comporta dentro do útero e, com isso, poder-se diagnosticar a anemia de maneira não invasiva (sem necessidade de introduzir agulha e retirar sangue da criança) da forma mais correta possível.

O ultrassom é um exame não invasivo e, portanto, não causa os riscos da cordocentese e permite estudar o feto sem riscos para a mãe ou a criança.

Quando você foi acompanhada durante a gravidez na Medicina Fetal do HC/UFMG, foi medido, pelo ultrassom, o diâmetro dos ventrículos do coração do seu feto e o comprimento do fêmur e calculado um índice (índice cardiofemoral). Também realizamos o doppler de uma artéria da cabeça de seu(sua) filho(a), a artéria cerebral média e determinamos a velocidade de circulação do sangue no seu feto. Com isso nós pudemos saber se sua criança estava correndo risco de anemia e fizemos a cordocentese para fazer a transfusão de sangue.

O que estamos pretendendo é estudar essas duas medidas - índice cardiofemoral e doppler da artéria cerebral média - e comparar com o valor da hemoglobina do sangue de seu(sua) filho(a). Para tanto, vamos pegar os resultados dos exames no seu prontuário médico que está arquivado no HC/UFMG.

Não existem riscos para você ou seu(sua) filho(a), já que serão consultados apenas os dados dos prontuários e vocês não serão identificados. Os benefícios para você irão ocorrer se vier a ter uma nova gestação. Se você não engravidar novamente, não terá qualquer benefício, mas sim as outras mulheres na mesma situação e que engravidarem e precisarem de tratamento.

Você pode se recusar a participar deste estudo ou mesmo retirar seu consentimento a qualquer momento sem que isso prejudique o seu atendimento ou de seu(sua) filho(a) no Hospital das Clínicas da UFMG. O fato de você concordar em participar não vai significar alguma vantagem pessoal ou financeira.

(7) Eu, _____, portadora do documento de identidade número _____, expedido por _____, compreendi o que foi aqui exposto e autorizo a realização de exame de ultrassom durante o acompanhamento da minha gestação. Autorizo, também, o uso dos dados laboratoriais provenientes da cordocentese (sangue fetal).

Belo Horizonte, ____ de _____ de _____.

Telefone para contato com os pesquisadores: 031 2489422 (Maternidade Hospital das Clínicas da UFMG)

Prof. Henrique Vitor Leite- Pesquisador responsável - 34099421

Dr^a. Marina Magalhães Lins Victória Mariz - 34099421

COEP/UFMG - Av. Presidente Antonio Carlos, 6.627, Unidade Administrativa II, 2º. andar, sala 2.005.

CEP- 31270-901 – Belo Horizonte Minas Gerais – 3409-4592

ANEXO A – Parecer Ético

UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS
COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA - COEP

Projeto: CAAE – 0404.0.203.000-11

Interessado(a): **Prof. Henrique Vítor Leite**
Departamento de Ginecologia e Obstetrícia
Faculdade de Medicina - UFMG

DECISÃO

O Comitê de Ética em Pesquisa da UFMG – COEP aprovou, no dia 22 de novembro de 2011, após atendidas as solicitações de diligência, o projeto de pesquisa intitulado "Estudo comparativo da predição da anemia em fetos transfundidos pelos métodos do índice cardíofemoral e pico da velocidade sistólica da artéria cerebral média" bem como o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido.

O relatório final ou parcial deverá ser encaminhado ao COEP um ano após o início do projeto.

Profa. Maria Teresa Marques Amaral
Coordenadora do COEP-UFMG

ANEXO B - Técnica de cordocentese proposta por Daffos, Capella-Pavlovsky e Forestier (1983)

1. Paciente em posição de *semifowler*.
2. Antissepsia e anestesia local no abdome materno.
3. Escolha do local da punção guiada por ultrassonografia, puncionando-se preferencialmente o cordão umbilical junto à inserção da placenta.
4. Punção da veia umbilical com agulha BD, calibre de 20 gauge, com extremidade ecorrefringente.
5. Aspiração de mais ou menos 5 mL de sangue fetal em tubo contendo EDTA.

ANEXO C – Ata da Defesa de Dissertação do Mestrado



FACULDADE DE MEDICINA
CENTRO DE PÓS-GRADUAÇÃO

Av. Prof. Alfredo Balena 190 / sala 533
Belo Horizonte - MG - CEP 30.130-100
Fone: (031) 3409.9641 FAX: (31) 3409.9640
cpg@medicina.ufmg.br



ATA DA DEFESA DE DISSERTAÇÃO DE Mestrado de **MARINA MAGALHÃES LINS VICTÓRIA MARIZ**, nº de registro 2011660992. No dia vinte e dois de fevereiro de dois mil e treze, reuniu-se na Faculdade de Medicina da UFMG a Comissão Examinadora de dissertação indicada pelo Colegiado do Programa para julgar, em exame final, o trabalho intitulado: **“Estudo comparativo da predição da anemia em fetos transfundidos pelos métodos do índice cardiofemural e Pico da Velocidade Sistólica da Artéria Cerebral Média”**, requisito final para a obtenção do grau de Mestre em Saúde da Mulher, pelo Programa de Pós-Graduação em Saúde da Mulher - Área de Concentração em Perinatologia. Abrindo a sessão, o Presidente da Comissão, Prof. Henrique Vitor Leite, após dar a conhecer aos presentes o teor das normas regulamentares do trabalho final, passou a palavra à candidata para apresentação de seu trabalho. Seguiu-se a arguição pelos examinadores, com a respectiva defesa da candidata. Logo após, a Comissão se reuniu sem a presença da candidata e do público para julgamento e expedição do resultado final. Foram atribuídas as seguintes indicações:

Prof. Henrique Vitor Leite/ orientador	Instituição: UFMG	Indicação: <u>APTO</u>
Profa. Alamanda Kfoury Pereira	Instituição: UFMG	Indicação: <u>APTO</u>
Prof. Alim Alves Demian	Instituição: UNIPAC	Indicação: <u>APTO</u>

Pelas indicações a candidata foi considerada APROVADA

O resultado final foi comunicado publicamente à candidata pelo Presidente da Comissão. Nada mais havendo a tratar, o Presidente encerrou a sessão e lavrou a presente ATA, que será assinada por todos os membros participantes da Comissão Examinadora. Belo Horizonte, 22 de fevereiro de 2013.

Prof. Henrique Vitor Leite _____

Profa. Alamanda Kfoury Pereira _____

Prof. Alim Alves Demian _____

Prof. Antônio Carlos Vieira Cabral/Coordenador _____

Obs.: Este documento não terá validade sem a assinatura e carimbo do Coordenador.

Coordenador do Programa de Pós-Graduação em Saúde da Mulher - Faculdade de Medicina - UFMG

CONFERE COM ORIGINAL
Centro de Pós-Graduação
Faculdade de Medicina - UFMG


ANEXO D – Declaração de Aprovação**FACULDADE DE MEDICINA
CENTRO DE PÓS-GRADUAÇÃO**

Av. Prof. Alfredo Balena 190 / sala 533
Belo Horizonte - MG - CEP 30.130-100
Fone: (031) 3409.9641 FAX: (31) 3409-9640
cpg@medicina.ufmg.br

**DECLARAÇÃO**

A Comissão Examinadora abaixo assinada, composta pelos Professores Doutores Henrique Vitor Leite, Alamanda Kfoury Pereira e Alim Alves Demian, aprovou a defesa da dissertação intitulada **“Estudo comparativo da predição da anemia em fetos transfundidos pelos métodos do índice cardiofemural e Pico da Velocidade Sistólica da Artéria Cerebral Média”** apresentada pela mestranda **Marina Magalhães Lins Victória Mariz** para obtenção do título de mestre em Saúde da Mulher, pelo Programa de Pós-Graduação em Saúde da Mulher - Área de Concentração em Perinatologia, da Faculdade de Medicina da Universidade Federal de Minas Gerais, realizada em 22 de fevereiro de 2013.


Prof. Henrique Vitor Leite
Orientador


Profa. Alamanda Kfoury Pereira


Prof. Alim Alves Demian