

UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS

Faculdade de Medicina

**Estudo da Troponina I cardíaca
como marcador bioquímico de
lesão miocárdica isquêmica em
fetos de gestantes aloimunizadas
pelo fator Rh.**

Rosangela Lopes Miranda Rodrigues

Belo Horizonte - Minas Gerais

2011

Rosangela Lopes Miranda Rodrigues

Estudo da Troponina I cardíaca como marcador bioquímico de lesão miocárdica isquêmica em fetos de gestantes aloimunizadas pelo fator Rh

Tese apresentada ao Programa 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 Doutor.

Área de Concentração: Perinatologia

Orientadora: Profa Dra. Alamanda Kfoury
Pereira

Faculdade de Medicina - UFMG

Belo Horizonte

2011

***“O Senhor chamou-me desde meu nascimento,
ainda no seio de minha mãe, ele pronunciou meu nome.”***

(Isaias 49,1)

“Pode uma mulher esquecer-se daquele que amamentas?

Não ter ternura pelo fruto de suas entranhas?

E mesmo que ela o esquecesse, eu não te esqueceria nunca.”

(Isaias 49,15)

*Aos meus pais, Simeão e Vera pelo exemplo de
superação.*

*Ao meu amado Leonardo por tornar possível
esta nova conquista.*

*Aos meus filhos, Mariana e Leandro, preciosas
jóias que brilham no meu dia a dia.*

AGRADECIMENTOS

É tarefa difícil agradecer a todos que fizeram parte deste período tão importante do meu aprendizado e amadurecimento durante a realização deste trabalho. A todos vocês, muito obrigada e, em especial a:

Dra. **Alamanda Kfoury Pereira**, professora do Departamento de Ginecologia e Obstetrícia da Faculdade de Medicina da UFMG, integrante do Centro de Medicina Fetal do Hospital das Clínicas da UFMG, minha orientadora, a quem admiro pelo carinho e paciência que sempre me dedicou. Por saber esperar os momentos oportunos para orientações e, sobretudo, pela confiança em mim depositada;

Dr. **Antônio Carlos Vieira Cabral**, professor do Departamento de Ginecologia e Obstetrícia da Faculdade de Medicina da UFMG, chefe do Centro de Medicina Fetal do Hospital das Clínicas da UFMG, pelas oportunidades a mim concedidas;

Dr. **Henrique Vítor Leite**, professor do Departamento de Ginecologia e Obstetrícia da Faculdade de Medicina da UFMG, integrante do Centro de Medicina Fetal do Hospital das Clínicas da UFMG, por ser exemplo e estar sempre contribuindo para o meu crescimento, não só científico como pessoal;

Dra **Patrícia Gonçalves Teixeira** amiga e companheira nas horas difíceis deste estudo;

Dra **Eura Lage** professora do Departamento de Ginecologia e Obstetrícia da Faculdade de Medicina da UFMG, integrante do Centro de Medicina Fetal do Hospital das Clínicas da UFMG, obrigada pelo carinho que sempre me proporcionou. Exemplo de persistência e dedicação em tudo que conduz;

Ana Luiza Penido Ferreira, obrigada pelas palavras certas, na hora certa.

Dras. **Izabela Gomes de Melo**, **Ana Paula Brum Miranda Lopes**, pelo apoio e conselho nos momentos de decisão, importantes tanto para este estudo, quanto para experiência de vida;

Pelas amigas, **Marina e Carol** do Centro de Medicina Fetal do Hospital das Clínicas, hoje também colegas na pós-graduação, pela ajuda na execução deste trabalho;

Agradeço a **Dra Jacqueline Braga**. Uma coisa é o trabalho que tem que ser feito, outra coisa é a forma com que se realiza. Sua participação neste trabalho, preparando as amostras para análise final, foi feito com muita dedicação. Obrigada por tudo;

Obrigada, **Dalva Maria de Resende** pelas análises técnicas laboratoriais feitas com tanta precisão e prontidão;

Todas as **pacientes**, sem as quais este trabalho não seria possível;

A professora e amiga da família, **Maria José Carvalho**, pela grande contribuição nas orientações ortográficas e gramaticais deste trabalho;

A **Flávia Komastsuzaki** pela orientação quanto à análise estatística realizada no estudo;

Leonardo, meu esposo, por não permitir uma vez se quer que eu desacreditasse na minha condição de vencer as dificuldades, inclusive na distância, incentivando-me sempre no meu desempenho pessoal e acadêmico;

Aos **meus filhos**, pelo apoio constante, mesmo com toda a minha ausência nas frequentes viagens, dificultando ainda mais a estabilidade no momento de mudanças;

Agradeço mais que tudo a **Deus**, pela oportunidade de conquistar um sonho e tornar meu caminho mais leve, quando parecia impossível de continuar.

FINANCIAMENTO DA PESQUISA

A viabilização desta pesquisa contou com o apoio financeiro do Centro de Pós-Graduação, programa “Saúde da Mulher” da Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG), no que se diz respeito ao custo gerado para realização das dosagens da Troponina I cardíaca, realizadas pelo Laboratório Central do Hospital das Clínicas, UFMG.

RESUMO

Introdução: A Aloimunização materna é a principal causa de anemia fetal no Brasil e constitui importante causa de morbi-mortalidade perinatal prevenível. Os fetos gravemente anêmicos ao desenvolverem mecanismos de compensação necessitam de transfusões intrauterinas para melhorar seu prognóstico perinatal. **Objetivo:** Identificar a presença da Troponina I cardíaca em sangue de cordão de fetos de gestantes aloimunizadas pelo fator Rh, como marcador bioquímico de isquemia miocárdica fetal. **Pacientes e métodos:** Trata-se de estudo transversal prospectivo onde foram acompanhados 65 fetos supostamente anêmicos de 64 gestantes aloimunizadas pelo fator Rh no Centro de Medicina Fetal do Hospital das Clínicas da Universidade Federal de Minas Gerais, no período de 2001 a julho de 2008. Foi indicada a realização de procedimento invasivo para propedêutica e/ou terapêutica quando necessário, de acordo com o protocolo do serviço. Cada procedimento foi considerado um caso. Foram selecionados 39 fetos de 38 gestantes aloimunizadas, submetidos a procedimentos de cordocentese totalizando 54 casos sendo, 27 casos de fetos sabidamente anêmicos e 27 casos de fetos não anêmicos. Quanto a idade e paridade observou uma maior ocorrência nas gestantes com idade entre 30 e 35 anos e paridade 2 e 3 no momento da inclusão no estudo. O anticorpo anti D foi observado em 97,4% dos casos e aparecendo de forma isolada em 44,7%. Como causa provável da aloimunização, 86,8% delas, foram atribuídas a falta do uso da imunoglobulina profilática pós-parto. A idade gestacional de cada feto no momento da inclusão no estudo foi determinada pela data da última menstruação relatada na anamnese e confirmada por exame ultrassonográfico na primeira metade da gestação. A idade gestacional média (em semanas) apresentou na admissão de 28,2 semanas variando de 22 a 34 semanas. Realizada cordocentese, para determinação imediata dos níveis de hemoglobina, por meio do HEMOCUE, uma amostra de sangue fetal foi centrifugada e o plasma congelado para posterior determinação dos níveis de Troponina I cardíaca por meio do teste VIDAS® Troponin I Ultra (TNIN). As variáveis qualitativas foram analisadas utilizando-se tabelas de frequência, as variáveis quantitativas foram descritas pelas medidas de tendência central (média e mediana), medidas de dispersão (desvio-padrão, mínimo, máximo) dos gráficos histogramas e box-plots. Na comparação dos fetos anêmicos e não anêmicos utilizou-se os testes Qui-quadrado de Pearson assintótico ou exato para as variáveis qualitativas. **Resultados:** Quanto ao Déf Hb os fetos não anêmicos apresentaram uma variação de -5,11 g/dl a 1,79 g/dL caracterizando ausência de anemia. Nos fetos anêmicos apenas 1 feto apresentou anemia moderada com Déf Hb de 5,47 g/dL ($5 \text{ g/dl} \leq \text{Déf Hb} \leq 7 \text{ g/dL}$) todo o restante se encontrava com Déf Hb $> 7 \text{ g/dL}$ caracterizando anemia grave. No valor do Coombs Indireto inicial observou-se que 92,6% dos fetos anêmicos apresentaram uma titulação $\geq 1:256$. Considerando-se os fetos anêmicos, a hidropisia esteve presente quando o déficit de Hb se encontrava acima de 7g/dl, diferença estatisticamente significativa por meio do testes Qui-quadrado de Pearson com $p < 0,0001$. A dosagem da Troponina I cardíaca tanto para fetos anêmicos e não anêmicos foi $< 0,01 \mu\text{g/L}$ que de acordo com o teste VIDAS Troponin I Ultra o /L corresponderia a sua ausência na amostra avaliada. **Conclusão:** A Troponina I Cardíaca não foi identificada em sangue de cordão de fetos de gestantes aloimunizadas pelo fator Rh, sugerindo não haver lesão isquêmica miocárdica nestes fetos.

Palavras – chave: Aloimunização pelo fator Rh, Anemia fetal, Hidropisia, Insuficiência cardíaca fetal, Troponina cardíaca fetal.

ABSTRACT

Introduction: The maternal alloimmunization is the main cause of fetal anemia in Brazil and also an important cause of preventable perinatal mortality. The severely anemic fetuses need intrauterine transfusions when developing the compensation mechanisms to improve their perinatal prognostic. **Goal:** Identify the presence of cardiac Troponin I on the blood of the fetuses' umbilical cord whose mothers were alloimmunized by the Rh factor, as a biochemical marker of fetal myocardial ischemia. **Patients and methods:** It's a prospective transversal study where 65 supposedly anemic fetuses from 64 alloimmunized pregnant women were observed on the Fetal Medicine Center of the Hospital das Clinicas of the Universidade Federal de Minas Gerais, on the period from 2001 to July of 2008. The realization of the invasive procedure for propaedeutic or therapeutics was indicated when necessary, according to the service protocol. Each procedure was considered a separate case. 39 fetuses from 38 alloimmunized pregnant women were selected and submitted to cordocentesis procedures, totaling 54 cases, from which 27 are cases of fetuses who are known to be anemic and 27 are cases of non anemic fetuses. As to age and parity, was observed a greater occurrence on pregnant women with age between 30 and 35 years and parity 2 and 3 in the moment of the inclusion in the study. The antibody anti D was observed in 97,4% of the cases and appeared in isolated form in 44,7%. In 86.8% of the cases, a lack of postnatal prophylactic immunoglobulin use was the probable cause of alloimmunization. The average gestational age (in weeks) presented on admission of 28,2 weeks varying between 22 and 34 weeks. To determinate immediately the hemoglobin levels, the cordocentesis was done by means of HEMOCUE, one sample of fetus blood was centrifuged and the obtained plasma was frozen for posterior determination of cardiac Troponin I levels by means of the VIDAS® Troponin I Ultra (TNIN) test. The qualitative variables were analyzed using the frequency tables, the quantitative variables were described by the central tendency measures, the measures of dispersion (standard deviation, minimum, maximum) from graphics, histograms and box plots. The Pearson's chi-square asymptotic test was utilized for the comparison between anemic and non-anemic fetuses. The exact test was utilized for the qualitative variables. **Results:** As for the Déf Hb the non-anemic fetuses showed a variation of -5,11 g/dl a 1,79 g/dL, characterizing lack of anemia. On the anemic fetuses only one presents moderate anemia with Déf Hb of 5,47 g/dL ($5 \text{ g/dl} \leq \text{Déf Hb} \leq 7 \text{ g/dL}$) all the remained fetuses showed Déf Hb $> 7 \text{ g/dL}$ characterizing severe anemia. At the value of initial "Coombs Indireto" it was observed that 92,6% of the anemic fetuses showed an entitling of $\geq 1:256$. Considering the anemic fetuses, the hydropsy was present when the shortage of Hb was higher that 7g/dl, difference statistically significant by the means of the the Pearson's chi-square test with $p < 0,0001$. The cardiac Troponin I dosage was $< 0,01 \mu\text{g/L}$ for both anemic and non-anemic fetuses **Conclusion:** The cardiac Troponin I wasn't identified on fetuses' umbilical cords whose mothers were alloimmunized by the Rh factor, suggesting that there's no ischemic myocardic lesions on these fetuses.

Keywords: Alloimmunization by the Rh factor, Fetal anemia, hydropsy, Fetal cardiac Troponin, Fetal cardiac insufficiency.

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ACM	Artéria cerebral média
AIG	Adequado para a idade gestacional
ALO	Aloimunização
BNP	Peptídeo natriurético plasmático
CEMEFE	Centro de Medicina Fetal
CI	Coombs indireto
CIUR	Crescimento intrauterino restrito
CK	Creatinoquinase
CK-MB	Creatinoquinase, fração MB
COEP	Comissão de Ética em Pesquisa
CTG	Cardiotocografia
CV	Imprecisão total
DC	Débito cardíaco
Déf Hb	Déficit de hemoglobina
DHL	Desidrogenase láctica
DHP	Doença hemolítica perinatal
DP	Dopplerfluxometria
DP	Doppler
EDTA	Ácido etilenodiamino tetra-acético
ELFA	Técnica em fluorescência (Enzyme-Linked Fluorescent Assay)
EUA	Estados Unidos da América

Hb Enc	Concentração de hemoglobina encontrada
Hb Esp	Concentração de hemoglobina esperada
HC	Hospital das Clínicas
IAM	Infarto agudo do miocárdico
ICF	Índice cardio-femural
IM	Infarto do miocárdio
IP	Índice de pulsatilidade
MoM	Múltiplos da mediana
N	Número
PIG	Pequenos para a idade gestacional
PVS	Pico da velocidade sistólica
Rh	<i>Rhesus</i>
ROC	Receiver operating characteristic
S/D	Razão sístole/diástole
SNAP	“score for neonatal acute physiology”
TAB.	Tabela
TCLE	Termo de Consentimento Livre e Esclarecido
TIU	Transfusão intra-uterina
Tnlc	Troponina I isoforma cardíaca
Tnls	Troponina I isoforma esquelética
TnTc	Troponina T isoforma cardíaca
UFMG	Universidade Federal de Minas Gerais
US	Ultrassonografia

LISTA DE TABELAS

TABELA 1 - Caracterização das gestantes aloimunizadas de acordo com a idade (em anos) e com a paridade no momento da inclusão no estudo	43
TABELA 2 - Distribuição das gestantes aloimunizadas de acordo com a idade (em anos) no momento da inclusão no estudo	43
TABELA 3 - Distribuição das gestantes aloimunizadas de acordo com a paridade no momento da inclusão no estudo	44
TABELA 4 - Distribuição das gestantes aloimunizadas de acordo com o tipo de anticorpo detectado no painel de hemácia	44
TABELA 5 - Distribuição das gestantes aloimunizadas de acordo com as causas prováveis da aloimunização	45
TABELA 6 - Caracterização dos casos de acordo com a idade gestacional (em semanas) no momento da inclusão no estudo	45
TABELA 7 - Distribuição dos casos de acordo a idade gestacional (em semanas) no momento da inclusão no estudo	45
TABELA 8 - Caracterização dos fetos anêmicos e não anêmicos de acordo com a Hb pré (em g/dL) no momento da inclusão no estudo	54
TABELA 9 - Caracterização dos fetos anêmicos e não anêmicos de acordo com o Déf. Hb (em g/dL) no momento da inclusão no estudo	54
TABELA10 - Caracterização dos fetos anêmicos e não anêmicos de acordo com a titulação do Coombs Indireto no momento da inclusão no estudo	56
TABELA11 - Caracterização dos fetos anêmicos e não anêmicos de acordo com a titulação do Coombs Indireto inicial e final	56
TABELA 12 - Caracterização dos fetos anêmicos e não anêmicos de acordo com a idade gestacional (em semanas) no momento da inclusão no estudo	57
TABELA13 - Caracterização dos fetos anêmicos e não anêmicos de acordo com a presença ou ausência da hidropisia no momento da inclusão no estudo	58
TABELA14 - Análise de comparação dos fetos anêmicos e não anêmicos de acordo com a presença ou ausência da hidropisia	61
TABELA15 - Análise de comparação dos fetos anêmicos e não anêmicos de acordo com a dosagem da troponina I cardíaca	62

LISTA DE GRÁFICOS

GRÁFICO 1 - Distribuição dos fetos anêmicos e não anêmicos de acordo com o painel de hemácias no momento da inclusão no estudo	55
GRÁFICO 2 - Distribuição dos fetos anêmicos e não anêmicos de acordo com a causa da sensibilização no momento da inclusão no estudo	57
GRÁFICO 3 - Distribuição dos fetos anêmicos e não anêmicos de acordo com a idade gestacional no momento da inclusão no estudo	58
GRÁFICO 4 - Distribuição dos fetos anêmicos e não anêmicos de acordo com a presença ou ausência da hidropisia no momento da inclusão no estudo	59
GRÁFICO 5 - Distribuição dos fetos quanto à presença ou ausência da hidropisia de acordo com a Hb pré no momento da inclusão no estudo	60
GRÁFICO 6 - Distribuição dos fetos quanto à presença ou ausência da hidropisia de acordo com o Déf.Hb no momento da inclusão no estudo	61
GRÁFICO 7 - Distribuição dos fetos anêmicos e não anêmicos quanto à dosagem da troponina I cardíaca no momento da inclusão no estudo	62

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	17
2 REVISÃO DE LITERATURA	19
2.1 Aloimunização materna e doença hemolítica perinatal	19
2.1.1 Definições	19
2.1.2 Incidência	19
2.1.3 Fisiopatologia	20
2.2 Anemia fetal por antígenos eritrocitários	22
2.2.1 Conceito e classificações	22
2.2.2 Fisiopatologia	24
2.2.2.1 Mecanismos de adaptação hematológica	25
2.2.2.2 Mecanismos de adaptação metabólica	25
2.2.2.3 Mecanismos de adaptação hemodinâmica	27
2.2.2.4 Hidropisia fetal	29
2.3 Troponina	32
2.3.1 Generalidades	32
2.3.2 Troponina cardíaca no feto e neonato	35
3 OBJETIVO	41
4 PACIENTES E MÉTODOS	42

4.1 Pacientes	42
4.1.1 Critérios de inclusão	42
4.1.2 Critério de exclusão	42
4.1.3 Perfil das gestantes estudadas	42
4.2 Métodos	46
4.2.1 Avaliação ultrassonográfica	46
4.2.2 Coleta de sangue fetal e determinação da concentração de hemoglobina	47
4.2.3 Cálculo do déficit de hemoglobina e classificação dos fetos quanto à anemia	47
4.2.4 Técnica de processamento e armazenamento do sangue fetal para dosagem de Troponina I cardíaca	48
4.2.5 Descrição da Técnica para dosagem da Troponina I cardíaca	48
4.2.5.1 Princípio	49
4.2.5.2 Interferências Relacionadas com as Amostras	49
4.2.5.3 Resultados	50
4.2.5.4 Valores esperados	50
4.2.5.5 Comportamento funcional	51
4.2.5.6 Controle de qualidade	51
4.2.6. Análise estatística	51
4.2.6.1 Cálculo amostral	51
4.2.6.2 Tratamento estatístico	52
4.2.6.3 Aspectos éticos	52
5 RESULTADOS	54

6 DISCUSSÃO	63
6.1 Da ALO pelo fator Rh	63
6.2 Do diagnóstico da anemia fetal	63
6.3 Da resposta fisiopatológica do feto ao processo anêmico	65
6.4 Da Troponina I cardíaca	66
6.5 A troponina I cardíaca e a resposta cardíaca fetal à anemia	68
7 CONCLUSÃO	71
8 REFERÊNCIAS	72
9 ANEXO	82

1 INTRODUÇÃO

Quando conheci a Medicina Fetal observei que poderia diminuir o sofrimento daquele que não conhecemos muito bem, o Feto. Deixei-me absorver, na tentativa de desvendar um mundo que só se pode olhar de fora, onde muito se olha e pouco se vê, sentir sem saber o que se sente e, mesmo assim, buscar acima de tudo acertar sempre, por considerar o feto um indivíduo, um paciente. Este sim necessita de acompanhamento, cuidados, buscando de forma segura e eficaz, preservar o seu bem estar.

Já há vários anos, mais de duas décadas, o Centro de Medicina Fetal do Hospital das Clínicas da Universidade Federal de Minas Gerais (CEMEFE HC-UFMG) vem se empenhando na qualidade de assistência à mãe e principalmente ao feto, que é o ponto máximo do meu objetivo. Têm surgido estudos cada vez mais ousados em sincronia com o que acontece nos maiores centros de pesquisa do mundo, através de projetos que visam a melhoria dos conhecimentos a serem aplicados em benefício dos fetos.

Com as experiências acumuladas no diagnóstico e tratamento das doenças fetais, o CEMEFHC-UFMG foi-se tornando centro de referência em nível nacional de algumas patologias, sendo uma delas a Aloimunização materna pelo fator Rh.

Alguns estudos foram marcantes para o diagnóstico e tratamento dos fetos anêmicos.

Liley (1961) introduziu um método indireto de rastreamento do grau de anemia fetal por meio de espectrofotometria do líquido amniótico.

Até 1963, fetos imaturos que desenvolvessem hidropisia em virtude da aloimunização Rh estavam praticamente condenados ao óbito intra-útero. Foi quando Liley realizou, pela primeira vez, o tratamento por meio da transfusão intra-uterina.

Daffos *et al.*, (1983), descreveram a coleta de sangue do cordão umbilical por meio de agulha fina guiada por ultra-som. Esse procedimento denominado cordocentese

permitiu, desde então, a avaliação direta do grau de anemia fetal no sangue de cordão umbilical, tornando-se depois a via preferencial para o tratamento da doença.

Apesar destes procedimentos se mostrarem eficazes, eles têm seus riscos por serem métodos invasivos. Esta foi sempre uma preocupação do CEMEFE: ser criterioso na indicação de métodos invasivos propedêuticos ou terapêuticos que não tragam prejuízo ao feto.

Vários estudos foram realizados na busca de um método de diagnóstico não invasivo como propedêutica da aloimunização pelo fator Rh, como os de Lima (1986) & Melo (2000), que avaliaram a cardiotocografia, Taveira (2001) & Lopes (2001), que avaliaram a dopplerfluxometria de vasos fetais. Rodrigues (2002), Lage (2004), Hanan (2007), que fizeram avaliação cardíaca e hemodinâmica na anemia fetal pelo fator *Rhesus* (Rh).

Todos esses métodos não invasivos estudados mostraram-se eficazes, quando utilizados em conjunto, como métodos complementares no acompanhamento pré-natal do feto anêmico como demonstrou Apocalypse em 2003.

O índice cardio-femoral (ICF) passou a ser um foco de pesquisa importante, no que se refere ao diagnóstico não-invasivo e ao prognóstico de sobrevivência dos fetos anêmicos (ANDRADE, 2007; BARCELOS, 2003).

Iniciou-se a realização de estudos com marcadores bioquímicos, para avaliar o comprometimento do feto na anemia grave, da gestante aloimunizada.

Krettli, (2006) buscou a correlação do ICF com a gasometria fetal. Ferreira, (2008) avaliou a presença do peptídeo natriurético plasmático (BNP) no feto anêmico.

Houve, portanto a motivação de estudarmos mais um marcador bioquímico, a Troponina I Cardíaca, no feto com anemia grave, buscando estabelecer associações com a fisiopatologia da doença.

Que este trabalho possa acrescentar aos conhecimentos já adquiridos, contribuindo principalmente para o melhor exercício da Medicina Fetal, beneficiando, mais uma vez, o feto.

2 LITERATURA

2.1 Aloimunização materna e doença hemolítica perinatal

2.1.1 Definições

A Aloimunização (ALO) materna é caracterizada pela presença, no sangue da gestante, de anticorpos contra antígenos eritrocitários fetais herdados geneticamente e que estão ausentes nas hemácias maternas (MOISE JR., 2005).

A incompatibilidade sanguínea materno-fetal pode provocar resposta imunológica materna com a produção de anticorpos capazes de atravessar a barreira placentária e atingir a circulação fetal. Esses anticorpos aderem-se à superfície das hemácias fetais, ocasionando redução do tempo de vida dessas células e a sua destruição no sistema retículo endotelial. O resultado desse processo hemolítico imunomediado é a anemia do feto ou do recém-nascido, denominada doença hemolítica perinatal (DHP) ou anemia hemolítica perinatal (BOWMAN, 2004; MANNING, 2000). A destruição acelerada das hemácias fetais estimula o aumento da eritropoiese, podendo ser observadas células nucleadas em sua circulação, os eritroblastos (BOWMAN, 2004; NICOLAIDES *et al.*, 1985).

2.1.2 Incidência

Desde as descrições iniciais da DHP até o final da década de 60, a sua incidência manteve-se inalterada, sendo relatada uma para cada 100 das segundas gestações. (CONTRERAS; SILVA, 1994).

A partir do advento da imunoglobulina anti-D, da comprovação de sua eficácia preventiva, da liberação de seu uso pela Food Drug Administration e de sua utilização rotineira, houve sensível diminuição na incidência da doença nos países em que esse recurso é utilizado. No entanto, mesmo em países como os Estados Unidos da América (EUA), a ALO materna por antígenos eritrocitários ainda é a causa mais frequente de anemia fetal (MARTIN *et al.*, 2002).

Mari (2000) relata que nos EUA a proporção de fetos de risco para anemia devido a ALO materna por antígenos eritrocitários tem sido estimada em 35 por 10.000 nascidos vivos.

De acordo com Moise Jr. (2008), a incidência de DHP nos EUA, de acordo com certidões de nascimento em 2003, mostrou 6,8 casos de ALO materna por antígenos eritrocitários para cada 1.000 nascidos vivos.

Para Santos *et al.*, (1998), a DHP acometeria três em cada 1.000 nascimentos no Brasil.

No entanto, Cabral (2005) afirma que, apesar de não existirem dados estatísticos exatos, mas considerando-se a prevalência de mulheres aloimunizadas, estima-se que o número de casos da doença nos países em desenvolvimento, incluindo o Brasil, seja muito mais alto que os até hoje relatados.

2.1.3 Fisiopatologia

Para ocorrer sensibilização materna, é necessário que o feto seja antigenicamente positivo e a gestante seja Rh negativo e tenha capacidade imunológica de responder ao estímulo antigênico. O locus do grupo Rh fica no braço curto do cromossomo 1, sendo composto por dois genes, o RhD e o RhCE, existindo homologia de 96% entre eles (CHERIF-ZAHAR *et al.*, 1991). Esses genes são os responsáveis por 80 a 90% dos casos de ALO e têm transmissão autossômica dominante. A presença do gen RhD caracteriza o indivíduo Rh positivo e a sua ausência o Rh negativo. Além de ter importância única pelo seu grande potencial imunogênico, o antígeno D é a causa principal da ALO materna.

É denominado antígeno típico por ter sido o primeiro a ser reconhecido como causa da ALO (BOWMAN, 2004).

Entretanto, existem mais de 50 antígenos implicados na DHP, como o Rhc e o Rhe, além de outros antígenos atípicos, cuja ocorrência não é normalmente esperada (antígeno K do sistema Kell, Jka e Jkb do sistema Kidd, Fya e Fyb do sistema Duffy e Lea e Leb do sistema Lewis, principalmente). Causam ALO geralmente através de transfusões incompatíveis e continuam a ser um problema, porque o sangue é

normalmente testado apenas para o sistema ABO e para o antígeno D do sistema Rh.

Além disso, não estão disponíveis imunoglobulinas profiláticas contra esses antígenos (BOWMAN, 2004).

Spong, Porter, Queenan (2001) relataram que a presença de outros anticorpos associados ao antiD aumenta significativamente o risco de transfusão intrauterina (TIU). Observaram também resultados fetais desfavoráveis em gravidezes com anticorpos antiD e antiC, com ou sem antiE. A presença de antiD, porém, parece ser fator mais importante no curso das gestações aloimunizadas com múltiplos anticorpos.

Quando existe ALO materna por mais de um antígeno, a hemólise tende a ser mais intensa. Como os antígenos estão presentes na superfície das hemácias, a exposição às células sanguíneas é necessária para que ocorra a sensibilização do sistema imunológico. Isso ocorre quando o organismo da mulher do grupo Rh negativo entra em contato com hemácias Rh positivo.

A causa principal de sensibilização são as hemorragias feto-maternas podendo também ocorrer devido as transfusões de sangue e derivados incompatíveis utilizados em terapêutica e o compartilhamento de agulhas e seringas entre usuários de drogas.

A hemorragia feto-materna espontânea ocorre com aumento da frequência e volume ao avançar da idade gestacional (BOWMAN 2004).

Bowman *et al.*, (1986) utilizando o teste de Kleihauer, constataram a presença de 0,01 ml de células fetais em 3%, 12% e 46% do sangue das mulheres em cada um dos três sucessivos trimestres da gestação, respectivamente.

As chances de ocorrência das hemorragias feto-maternas aumentam nas intercorrências hemorrágicas gestacionais (principalmente gravidez ectópica), se são realizados procedimentos obstétricos invasivos (biópsia de vilo corial, amniocentese, cordocentese, etc.), na extração manual da placenta e na versão cefálica externa. Podem ocorrer durante o parto, cesariana ou curetagem uterina e nos traumatismos abdominais. A ruptura traumática da placenta no momento do parto associa-se à

hemorragia transplacentária em quase dois terços (64%) dos casos (MANNING, 2000).

A resposta imunológica primária aos antígenos eritrocitários é mediada pela imunoglobulina M, com peso molecular elevado (900.000 daltons), por isso não atravessa a placenta. Ocorre de forma lenta, geralmente entre oito e nove semanas, podendo aparecer até seis meses após esse primeiro contato (BOWMAN, 2004).

A quantidade de sangue incompatível suficiente para provocar a sensibilização em indivíduo imunocompetente é de 0,1 ml de hemácias Rh positivo. Cerca de um terço das mães expostas ao antígeno antiD não desenvolve resposta imune (MANNING, 2000).

Em seguida à resposta primária, ao haver novo contato com o antígeno eritrocitário, ocorre a resposta secundária. Em geral, esta é rápida, entre dois a sete dias após a exposição a pelo menos 0,01 ml de hemácias Rh positivo.

Há, então, produção de imunoglobulinas maternas do tipo G pelos linfócitos B de memória. Por possuírem baixo peso molecular (160.000 daltons), atravessam livremente a barreira placentária e se ligam às hemácias fetais. Essas células são sequestradas pelos macrófagos no baço e no fígado e são hemolisadas, resultando em anemia de graus variáveis (BOWMAN, 2004; MOISE JR., 2002).

2.2 Anemia fetal por antígenos eritrocitários

2.2.1 Conceito e classificações

O termo anemia define-se clinicamente como sendo a diminuição de eritrócitos, que têm como função principal o transporte de hemoglobina que conduz o oxigênio. Logo, a quantidade de oxigênio transportada está diretamente relacionada à concentração de hemoglobina (FORESTIER *et al.*, 1991).

Um dos mecanismos responsáveis pelo desencadeamento da anemia fetal é a hemólise, sendo a ALO pelo fator Rh a causa mais comum. (BOWMAN 2004).

Inicialmente, alguns autores classificaram a anemia fetal independente da idade gestacional. Cabral *et al.*, (1998) e Nicolaidis *et al.*, (1985) consideraram anemia

fetal grave a presença de níveis de hemoglobina abaixo de 7g%, anemia moderada foi determinada por valores de hemoglobina entre 7 e 10 g%. Valores acima de 10g% e abaixo do valor de normalidade eram considerados como tendo anemia leve.

Posteriormente, para o diagnóstico de anemia fetal passou a considerar a dosagem de hemoglobina abaixo de valores esperados para determinada idade gestacional.

Nicolaides *et al.*, (1988a) estabeleceram uma média de referência de concentração da hemoglobina em sangue de cordão umbilical de 210 fetos normais. Observaram que nas gravidezes normais a hemoglobina fetal média aumenta linearmente de 11 g/dl na 17ª semana de gestação para 15g/dl na 40ª semana, com desvio-padrão de 1g/dl.

Formularam a seguinte equação de regressão para cálculo da concentração normal de hemoglobina fetal esperada (Hb Esp) de acordo com a idade gestacional:

$$\text{Hb Esp} = (0,19 \times \text{Idade gestacional em semanas}) + 7,9$$

No mesmo estudo, os autores também avaliaram a concentração de hemoglobina no sangue fetal de 154 gestantes com ALO entre 17 e 36 semanas.

Nos 48 fetos com sinais de hidropisia ao ultrassom (US), apesar do aumento linear da concentração de hemoglobina com o avançar da gestação, esta foi de 7 a 10 g/dl abaixo da média da concentração de hemoglobina esperada em uma gravidez normal.

Assim, concluíram que, nas gestantes com ALO o grau da doença fetal pode ser avaliado e tratado com base no desvio da média da concentração de hemoglobina fetal do valor normal. O déficit de hemoglobina (Déf Hb) foi então definido como a diferença entre a Hb Esp (no percentil 50) e a concentração de (Hb Enc).

$$\text{Déf Hb} = \text{Hb Esp} - \text{Hb Enc}$$

A anemia fetal foi assim classificada, de acordo com esses autores, nesse mesmo estudo, em:

- Anemia leve: Déf Hb < 2g/dl.
- Anemia moderada: 2g/dl ≤ Déf Hb ≤ 7 g/dl.
- Anemia grave: Déf Hb > 7g/dl.

Nicolaides *et al.*, (1988b) demonstraram que a contagem de reticulócitos, fator que reflete a eritropoiese medular como resposta à anemia, só ultrapassava os dois desvios-padrão dos valores dos fetos normais a partir de um Déf Hb de 2 g/dl.

Nicolaides, Bilardo e Campbell (1990) observaram, ainda, que o percentil 2,5 da curva de normalidade de Nicolaides correspondia a um Déf Hb de 2 g/dl. Baseado nesses estudos, estabeleceram que se poderia classificar um feto como anêmico sempre que o Déf Hb fosse igual ou maior que 2g/dl, independentemente da idade gestacional.

Harrington, Fayad e Nicolaides (2004), descrevem que a presença de anemia significativa deve ser diagnosticada quando Hb Enc dois ou mais desvios-padrão abaixo da média da Hb Esp para a idade gestacional, de acordo com curva de Nicolaides já proposta anteriormente.

Para Bahado-Singh *et al.*, (1998; 1999; 2000), a classificação da anemia no feto se baseou nesse déficit de hemoglobina, sendo definida como anemia grave quando o déf Hb era maior que 5 g/dl e anemia leve quando o déf Hb era inferior a 5g/dl. Fetos não anêmicos encontravam-se com déficit abaixo de 2g/dl.

Duckler *et al.*, (2003) utilizaram como ponto de corte o valor do Déf Hb ≥ 5g/dl quando, anemia fetal grave.

2.2.2 Fisiopatologia

Na ALO, o mecanismo básico que determina a anemia é a destruição (hemólise) das hemácias do feto levando a hipóxia tecidual. (RIZZO, ARDUINI; ROMANINI, 1995).

O feto é submetido a complexos mecanismos de adaptação que vão ocorrer de acordo com o momento e com a intensidade do processo anêmico. Didaticamente, os mecanismos de adaptação podem ser apresentados como sendo de natureza hematológica, metabólica e hemodinâmica (NICOLAIDES, 1989).

2.2.2.1 Mecanismos de adaptação hematológica

A hemólise extravascular fetal produz anemia e conseqüentemente estimulação da produção de eritropoetina (VINTZILEOS *et al.*, 1986).

É possível que o recrutamento da eritropoiese extramedular ocorra em altas concentrações de eritropoetina, enquanto a medula é sensível a elevações menores dessa substância (NICOLAIDES, 1989). Quando a capacidade da medula óssea de produzir células sanguíneas é ultrapassada, há estimulação de sítios extramedulares primários de eritropoiese, como o fígado e o baço; mas também de outros, como rins, adrenais e mucosas intestinais (BOWMAN, 2004).

Nicolaidés *et al.*, (1988b), analisando amostras de sangue de 126 fetos entre 17 e 36 semanas com anemia devido à ALO materna, constataram que a contagem de reticulócitos aumenta linearmente com a anemia fetal. A contagem de eritroblastos aumenta exponencialmente e eritroblastose significativa é observada apenas quando o Déf Hb é maior que 7g/dl.

Quando o Déf Hb situa-se entre 2 e 7 g/dl com reticulocitose sem eritroblastose, o feto está respondendo à anemia leve ou moderada, estimulando a eritropoiese intramedular. Na anemia grave (Déf Hb \geq 7 g/dl), há recrutamento da eritropoiese extramedular resultando em eritroblastose e conseqüentemente hidropisia. Quando a hipóxia atinge graus mais intensos, ocorre a falência de todo o sistema hematopoiético (NICOLAIDES *et al.*, 1985).

2.2.2.2 Mecanismos de adaptação metabólica

Com o agravamento da anemia fetal, há redução da oxigenação tecidual e os órgãos periféricos começam a utilizar o metabolismo anaeróbio, promovendo elevação da

concentração de ácido láctico na circulação. Além disso, ocorre aumento na concentração de 2,3-difosfoglicerato no sangue fetal. Conseqüentemente, há diminuição da afinidade da hemoglobina pelo oxigênio, o que favorece sua liberação para os tecidos.

Soothill *et al.*, (1987) constataram a existência de correlação inversa entre a concentração de lactato e a de hemoglobina na veia e nas artérias umbilicais por meio de 54 fetoscopias, em 32 fetos de gestantes com ALO. As concentrações de lactato foram normais nos dois vasos quando a concentração de hemoglobina estava acima de 8g/dl e anormalmente elevadas nas amostras de sangue da artéria umbilical quando a concentração de hemoglobina estava abaixo de 8g/dl. No entanto, as concentrações de lactato só se elevaram na veia umbilical quando a concentração de hemoglobina estava abaixo de 4g/dl e foram, nessa situação, muito mais elevadas nas artérias que na veia umbilical. A concentração de oxigênio no momento da ascensão das concentrações de lactato nos dois vasos foi de 2 mmol/l.

Nicolaides *et al.*, (1989) também considerou que esse valor de concentração de oxigênio - de 2 mmol/l - é crítico e que quando reduz ainda mais as alterações cardiovasculares compensatórias não conseguem mais evitar a acidose metabólica.

Notam-se, ainda, queda dos níveis de vasopressina nos fetos anêmicos e aumento do fator atrial natriurético (ROBILLARD; WEINER, 1988; WEINER; SMITH; ROBILLARD, 1989).

Ferreira (2008) demonstrou que o peptídeo natriurético BNP plasmático mostrou-se associado à acidose metabólica fetal.

Nessa situação, o Déf Hb é maior que 8g/dl e o pH se reduz. À medida que o processo anêmico evolui, os mecanismos de compensação fetal esgotam-se ou tornam-se ineficazes. Ocorre insuficiência cardíaca de alto débito com aumento secundário da pressão hidrostática capilar. Seguem-se o comprometimento da oxigenação tissular e a dilatação hipóxica arteriolar com aumento da permeabilidade capilar. O volume intravascular reduz-se à medida que se acentua a perda de líquido para o compartimento extravascular nas cavidades peritoneal, pleural, pericárdica e intersticial, resultando em quadro característico de hidropisia fetal. (MANNING, 2000).

2.2.2.3. Mecanismos de adaptação hemodinâmica

Vários estudos foram feitos em fetos de animais na tentativa de reproduzir as alterações hemodinâmicas que ocorrem durante a anemia fetal. Embora esses modelos possam não refletir diretamente as situações humanas, todos indicam que a anemia induz a um significativo aumento do débito cardíaco (DC) proporcional a diminuição do hematócrito fetal. O aumento do DC ocorre provavelmente para manter o nível adequado de oxigenação do organismo.

Embora os mecanismos causadores do aumento do DC ainda não estejam totalmente elucidados, são sugeridos como fatores primordiais, a diminuição da viscosidade sanguínea e a vasodilatação periférica (FUMIA; EDELSTONE; HOLZMAN, 1984; KIRSCHBAUM; BRINKMAN; ASSALI, 1971).

Peeters *et al.*, (1979), estudando fetos de ovelhas, constataram que a redução da concentração de oxigênio no sangue leva ao aumento do fluxo sanguíneo para órgãos vitais como o cérebro, o coração e as adrenais.

Fan *et al.*, (1980) e Fumia, Edelstone e Holzman (1984), em estudos semelhantes realizados em fetos de cachorros e de ovelhas, respectivamente, também observaram que a redução do hematócrito conduz à elevação do fluxo nesses órgãos. Por outro lado, o fluxo se manteve constante no trato intestinal, baço, rins, placenta e pele, com conseqüente hipoxigenação desses tecidos.

Esses autores concluíram que na anemia de fetos de animais ocorre a centralização, fenômeno semelhante àquele presente na hipoxemia, e que como a pressão de perfusão não se altera, a resistência vascular periférica diminui nessa situação.

À partir da década de 80 se tornou possível o estudo do compartimento artério-venoso do feto devido a aparelhos mais sofisticados, incluindo Dopplerfluxometria. Só então os fenômenos adaptativos desenvolvidos pelo feto anêmico puderam ser demonstrados com maior acurácia (HARRINGTON, K.; HECHER, K.; CAMPBELL, S, 1995).

Uma das consequências mais importantes da diminuição do hematócrito é a redução da viscosidade do sangue. Essa alteração conduz ao aumento do retorno venoso, o que causa a elevação da pré-carga, culminando com o aumento do DC. (FUMIA; EDELSTONE; HOLZMAN, 1984).

Portanto o principal mecanismo compensatório para manter o aporte de oxigênio tecidual em resposta à anemia crônica é o aumento do débito cardíaco (COPEL, J.A. *et al.*, 1989; DAVIS *et al.*, 1996).

Copel e colaboradores em 1989 estudaram 13 fetos com anemia grave e 37 fetos normais como grupo controle e enfatizaram aumento significativo do débito cardíaco nos fetos anêmicos quando comparados ao grupo controle, comparando a existência de um estado hiperdinâmico de fluxo como resposta compensatória à anemia fetal.

Ainda buscando demonstrar que a anemia fetal em humanos conduz ao aumento do débito cardíaco, foi realizado estudo por Moise e colaboradores em 1990, onde verificaram diminuição do débito cardíaco após correção aguda da anemia com TIU.

Mari *et al.*, (1990) também constataram diminuição do débito cardíaco após correção aguda da anemia com TIUs combinadas. Concluíram, portanto que, como não há alteração da frequência cardíaca nem aumento da pós-carga, o aumento do débito cardíaco observado nos fetos anêmicos resulta principalmente do aumento do retorno venoso (pré-carga) e da contratilidade miocárdica.

Em fetos humanos, os índices de DP relacionados à impedância do fluxo, como o índice de pulsatilidade (IP) ou a razão sístole/diástole (S/D), medidos nas artérias umbilicais, aorta descendente, carótida interna, cerebral média e em outros vasos periféricos, não se modificam na anemia, isto é, as áreas das secções transversas dos vasos não se alteram (BILARDO; NICOLAIDES; CAMPBELL, 1989; VYAS; NICOLAIDES; CAMPBELL, 1990).

Esses resultados apóiam a hipótese de que a resistência vascular periférica não se altera em fetos anêmicos, não confirmando a premissa de que a vasodilatação periférica seletiva da centralização seja a responsável pelo aumento do débito cardíaco.

Como reflexo do alto débito cardíaco, ocorre aumento da velocidade de fluxo em vários segmentos arteriais, proporcional à diminuição do hematócrito fetal e que conduz o feto ao estado de circulação hiperdinâmica (BAHADOSINGH *et al.*, 1999; BILARDO; CAMPBELL; NICOLAIDES, 1988; MARI *et al.*, 1990; RIGHTMIRE *et al.*, 1986; VYAS; NICOLAIDES; CAMPBELL, 1990).

Quanto aos fluxos venosos sanguíneos, os valores estão aumentados à altura da veia umbilical (KIRKINEN; JOUPPILA; EIK-NES, 1981; 1983), do duto venoso (OEPKES *et al.*, 1993b) e da veia cava inferior (RIGHTMIRE *et al.*, 1986), reforçando o conceito de aumento do retorno venoso e da pré-carga.

Lysikiewicz, Bracero e Telani (1993) avaliaram a pré-carga através da DP da veia cava inferior, encontrando correlação inversa com os valores do hematócrito. Observaram, ainda, redução da porcentagem de fluxo reverso durante a contração atrial, o que sugere aumento da pressão no átrio, secundário ao aumento da contratilidade miocárdica ou à redução da viscosidade sanguínea.

Com o auxílio desses mecanismos de ajustes hematológicos e hemodinâmicos e com a concentração de hemoglobina ainda situada acima de 4g/dl ou em 1/3 do valor normal, o feto consegue manter a oxigenação dos tecidos (NICOLAIDES *et al.*, 1985).

2.2.2.4 Hidropisia fetal

A hidropisia é caracterizada pelo acúmulo de líquido no abdômen fetal (ascite), nas cavidades pericárdica e pleural (derrames) e na pele (DE GROOT *et al.*, 2000 ; WEINER; BOLOGNESE; LIBRIZZI, 1981). O diagnóstico ultrassonográfico de hidropisia fetal é firmado quando há visibilização de acúmulo anormal de líquido em mais de um espaço ou cavidade potencial (HUHTA; WEILCHALTER; PAGOTTO, 2000; PLATT; DE VORE, 1982).

A hidropisia constitui o sinal máximo da descompensação cardíaca. O feto compensa os graus moderados de anemia através de ajustes hemodinâmicos. No entanto, quando o déficit da concentração de hemoglobina excede 7 g/dl, a reserva cardiovascular se esgota, ocorre hipóxia tecidual - evidenciada por eritroblastose e

lactoacidose sistêmica - e a hidropisia fetal se desenvolve (NICOLAIDES *et al.*, 1988b; NICOLAIDES, 1989).

De acordo com Weiner *et al.*, (1981) a hidropisia é o sinal máximo de descompensação fetal e se caracteriza por edema de pele, ascite, derrames pericárdico e pleural.

Nicolaidés, Warenski e Rodeck (1985) relatam a ocorrência de hidropisia quando a concentração de hemoglobina está abaixo de 4g/dl e Moise Jr. (2002) considera que nessa situação a hemoglobina fetal encontra-se em valores correspondentes a um terço ou abaixo dos valores normais.

Nicolaidés *et al.*, (1988a) analisando vários parâmetros ao US em casos de anemia fetal, concluíram que na ausência de hidropisia, nenhum deles pode distinguir com confiança a anemia fetal leve da grave.

Mari (2000) também descreveu que a hidropisia é rara quando a concentração de hemoglobina é maior que 5g/dl.

Van Kamp *et al.*, (2001) constataram que quando existe hidropisia grave, os resultados perinatais, com a correção da anemia através da TIU, são piores, indicando a presença de alto comprometimento fetal nesses casos. Cabral *et al.*, (2001) observaram sobrevida fetal após TIU de 84% e de 46%, sem e com hidropisia, respectivamente.

Para Nicolaidés, Warenski e Rodeck (1985), as teorias existentes para explicar a fisiopatologia da hidropisia na anemia fetal incluem:

- Hipóxia tissular crônica levando à lesão endotelial, com aumento da permeabilidade capilar e extravasamento de líquido para o espaço extravascular;
- Aumento da eritropoiese hepática levando à distorção do parênquima do fígado, com consequente hipertensão venosa portal e umbilical. Essa situação conduz à disfunção hepática e/ou diminuição da transferência

placentária de precursores das proteínas com hipoproteinemia e diminuição da pressão coloidosmótica plasmática;

- Insuficiência cardíaca secundária ao déficit de oxigênio.

Esses autores, estudando a fisiopatologia da hidropisia na anemia fetal, encontraram valores consistentemente mais baixos nas concentrações de albumina e de proteínas totais nos fetos hidróticos. Verificaram, ainda, níveis mais altos de proteínas no líquido ascítico dos fetos hidróticos avaliados. Esses achados são consistentes com o papel desempenhado pela perda extravascular de proteínas através da alteração endotelial por hipóxia, com conseqüente hipoproteinemia na fisiopatologia da hidropisia fetal na ALO. Nesse estudo a presença de hipoproteinemia em seis dos 10 fetos não hidróticos apóia a hipótese de que, além da perda, há também diminuição da síntese de proteínas. O achado uniforme desse sinal em todos os fetos avaliados com níveis de hemoglobina abaixo de 4 g/dl é consistente com a teoria do dano endotelial pela hipóxia na etiologia da hidropisia (NICOLAIDES; WARENSKI; RODECK, 1985).

De Groot *et al.*, (2000), estudando marcadores bioquímicos da função endotelial em gestantes com ALO, encontraram concentrações mais baixas de monofosfato de guanosina cíclica no plasma de fetos hidróticos na comparação com as dos não hidróticos. Esse achado concorda com a hipótese de diminuição da produção de óxido nítrico devido à lesão das células endoteliais nos fetos gravemente comprometidos e sugere que a hidropisia fetal é uma síndrome sistêmica com ativação generalizada das células endoteliais vasculares fetais.

Pasman *et al.*, (2006), ressaltam que a hipoalbuminemia torna-se mais frequente com o agravamento da hidropisia, logo, esta seria uma consequência do agravamento da anemia e não a sua causa.

Tongsong e colaboradores, em 2011, realizaram estudo buscando avaliar a contratilidade cardíaca fetal em fetos com hidropisia devido alto débito cardíaco na anemia fetal e baixo débito no defeito congênito através da fração de encurtamento do ventrículo fetal. Eles observaram uma diferença no comprometimento dos padrões da fração de encurtamento entre os 2 grupos de fetos hidróticos:

- Baixo débito cardíaco nos fetos com defeito cardíaco onde demonstraram contratilidade prejudicada.
- Alto débito cardíaco nos fetos anêmicos onde se observou a contratilidade cardíaca minimamente prejudicada devido à circulação hiperdinâmica sugerindo que a hidropisia fetal se desenvolve antes da descompensação cardíaca.

Observou-se que na anemia, o feto na fase inicial da hidropisia compensa com aumento das dimensões cardíacas e contratilidade efetiva para manter a perfusão periférica. Portanto, a insuficiência cardíaca não se desenvolve na maioria dos fetos hidrópicos com alto débito cardíaco, caso não estejam em estágio final. Esses achados vêm contrapor aos conceitos anteriores onde se achava que a hidropisia fetal secundária a anemia grave era consequência da insuficiência cardíaca congestiva não se mostrando dessa forma o ponto máximo da descompensação cardíaca e sim mecanismo de defesa que o feto realiza para poder evitá-la.

Com avançar da hidropisia ocorre o declínio efetivo do débito cardíaco. No estágio terminal da doença, o feto apresentará dilatação das câmaras cardíacas e ineficiência do mecanismo contrátil do miocárdio, em magnitude e em rapidez (LINGMAN *et al.*, 1991). Instala-se quadro de franca insuficiência cardíaca descompensada, caracterizando o estágio terminal da doença.

2.3 Troponina

2.3.1 Generalidades

A isquemia miocárdica grave, que ocorre nos casos de infarto agudo do miocárdio ou em algumas pacientes com angina instável, resulta em injúria seguida pela liberação de constituintes celulares na corrente sanguínea. Assim sendo, na prática clínica, elevação das taxas da isoforma miocárdica da creatinoquinase (CK-MB) e da desidrogenase láctica (DHL) são interpretadas como marcadores de dano celular miocárdico. A avaliação da atividade dessas enzimas pode ser feita rapidamente e a baixo custo e em situações de rotina são parâmetros satisfatórios para confirmar o diagnóstico, monitorar a evolução e estimar o tamanho do infarto do miocárdio (IM).

Porém, existem limitações, uma vez que a especificidade fica comprometida nos casos de acometimento muscular esquelético associado e, além disso, a sensibilidade é baixa nas primeiras horas de evolução devido ao aparecimento retardado desses marcadores no sangue. Outro fator importante é que a sensibilidade da CK-MB não é suficientemente alta para detectar pequeno dano miocárdio, face à imprecisão analítica das medidas de atividade e à ampla faixa de normalidade (CUMMINS, 1987; HAMM, KATUS, 1995).

Isso levou à procura de outros métodos ou novos marcadores diagnósticos de lesão celular miocárdica, tentando superar as limitações (CUMMINS, 1987; GODOY, 1998).

Desde a década de 70, 80 e principalmente na década de 90 as troponinas têm recebido crescente atenção como marcadores altamente específicos de injúria celular miocárdica (KATUS *et al.*, 1989; CUMMINS, MCURK, LITTER, 1979).

As troponinas formam um complexo que regula a interação cálcio-dependente da miosina com a actina. Esse complexo é formado por três componentes nomeados conforme sua propriedade funcional: “T” (TnT) para ligação do complexo das troponina com tropomiosina, “I” (TnI) para inibição das interações entre actina e “C” (TnC) para proteína de ligação com o cálcio (GREASER, M.L; GERGELY, J. 1973).

Esse complexo age como mediador do efeito do cálcio citosólico na interação entre a actina e miosina, principais proteínas contidas no sarcômero, unidade contrátil fundamental de todos os tipos de músculo estriado (de contração rápida, lenta e cardíaca). A Troponina I é uma proteína inibidora da ATPase da actina-miosina existindo três isoformas : duas esqueléticas e uma cardíaca. Essas isoformas são liberadas na corrente sanguínea quando ocorrem sítios de necrose podendo ser detectadas por métodos imunoquímicos. A troponina I cardíaca contém uma cadeia de aminoácidos N-terminais que a distingue imunologicamente e que não é expressa nas formas esqueléticas possibilitando dessa forma que anticorpos monoclonais de reatividade cruzada extremamente baixa pudessem ser desenvolvidos facilitando diagnóstico de patologias como o infarto agudo do miocárdico (IAM) (CUMMINS, 1987; GODOY, 1998; SARKO, POLLACK, 2002).

Alan e colaboradores (1998) analisando a relação entre as isoformas cardíacas das troponinas T (TnTc) e I (TnIc) em pacientes pós IAM mostraram que ambas são úteis em detectar a injúria miocárdica. Essas isoformas foram reconhecidas como indicadores séricos de lesão do miocárdio sendo consideradas como marcadores preferenciais, devido à grande especificidade tecidual e à elevada sensibilidade, detectando lesões microscópicas como zonas de necrose miocárdica focal (ALPERT *et al.*, 2000; MORROW, D.A. *et al.*, 2000; VITTORINI, S.; CLEICO, A. 2008).

Em adultos, a TnIc leva de 4 a 8 horas para se elevar acima do limite de referência após o início do infarto. O pico acontece entre 12 e 48 horas a partir do início dos sintomas e a elevação permanece, em média, cinco dias, com variação entre três e dez dias ou mais, dependendo da duração da isquemia e da reperfusão (ALPERT *et al.*, 2000, CUMMINS, B; AUCKLAND, M.L.; CUMMINS P.1987, WU, A.H. *et al.*,1999, COLLINSON, P.O.; BOA, F.G.; GAZE, D.C. 2001).

Há controvérsias sobre os valores mínimos a serem considerados de importância clínica e variações nos limites de detecção da TnIc a depender do equipamento utilizado (CLERICO *et al.*, 2008). Desde 2001 já se buscavam padronizar os meios de detecção da TnIc e seus valores de normalidade onde um comitê formado pela “Internation Federation of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine” estabeleceu recomendações específicas de qualidade para ensaios de troponina cardíaca. O objetivo foi a tentativa de estabelecer critérios uniformes para que todos os ensaios objetivamente pudessem ser avaliados para suas qualidades analíticas e desempenho clínico. Em particular, essas orientações recomendam que um aumento da concentração de troponina cardíaca deve ser definido como uma medida superior ao percentil 99 da distribuição das concentrações de troponina cardíaca no grupo de referência, que é um limite muito baixo. Recomenda-se uma imprecisão total (CV) com limite de decisão $\leq 10\%$ (ou seja, sensibilidade funcional) (ALPERT, THYGESEN, 2000). Portanto, para uso clínico da troponina, até que os limites de detecção e normalidade sejam padronizados, deve-se conhecer qual ensaio está sendo utilizado e os seus valores de referência (SARKO, POLLACK, 2002).

2.3.2 Troponina cardíaca no feto e neonato

A Troponina cardíaca I (cTnI) ou T (cTnT) são consideradas atualmente o marcador bioquímico mais sensível e específico de necrose do miocárdio no adulto (TREVISANUTO *et al.*, 2006; CLERICO, A. *et al.*, 2008).

A TnI é encontrada em humanos da nona semana de gestação até o nono mês pós-natal sendo observada tanto a isoforma TnIc quanto a isoforma TnIs porém com predomínio da isoforma esquelética (TnIs) durante todo o estágio fetal e pós-natal e que a transição da isoforma TnIs para a isoforma TnIc ocorre após o nascimento (SASSE *et al.*, 1993).

Bhavsar *et al.* em 1991, observaram no coração fetal a isoforma esquelética (TnIs) que por algum estímulo passaria para a isoforma cardíaca (TnIc) e observou em estudo animal que a TnIc foi detectada apenas logo após o nascimento.

Ainda não existe um consenso na literatura sobre os valores de referência considerados normais na vida intrauterina. Alguns estudos têm sido realizados com a finalidade de estabelecer valores de normalidade e sua presença em situações de injúria do miocárdio em fetos e recém-nascidos. (CLARK, 2001; TREVISANUTO, 2003; GAZE, 2006; TREVISANUTO, 2006).

Trevisanuto e colaboradores (2003) compararam as concentrações da TnIc, TnTc e fração miocárdica da creatinoquinase (CK-MB) no sangue de cordão umbilical de recém-nascidos de termo, saudáveis. Realizaram também dosagem plasmática da troponina no sangue materno com o objetivo de investigar se há alguma influência das concentrações maternas sobre as neonatais, no momento do parto. A concentração da troponina I no sangue de cordão em apenas dois casos mostrou valores superiores aos limites de detecção, enquanto todas as amostras maternas revelaram níveis indetectáveis. Concluíram que a TnIc é indetectável na maioria dos fetos de termo saudáveis e que os níveis dessa proteína reguladora cardíaca mensurados no sangue do cordão umbilical não são de origem materna.

Baum *et al.*, (2004) observaram que interpretar o real significado de concentrações elevadas das troponinas em recém-nascidos é complexo, tanto quanto, se torna difícil comparar valores de referência da TnIc, pois há grande variedade de ensaios que utilizaram diferentes pares de anticorpos e materiais para calibragem. Realizaram estudo para determinar os valores de referência da TnIc e da TnTc em

recém-nascidos saudáveis. Avaliaram também, a possível influência do sexo fetal e da via de parto sobre esses níveis e, finalmente, compararam o percentil 99 (ou seja, o limite superior da normalidade) obtido com o dos adultos. Observaram diferença estatisticamente significativa nos níveis de Tnlc quanto a via de parto onde o parto abdominal apresentou valores acima do percentil 99. Não ocorreu diferença significativa em relação ao sexo fetal. Ao compararem o percentil 99 do grupo de estudo com o do adulto constataram que o limite superior de referência em recém-nascidos é cerca de duas vezes superior àquele observado em adultos. Concluíram que neonatos de termo saudáveis têm limites de referência para Tnlc maiores comparados aos de adultos.

Feming *et al.*, (2001) investigaram as concentrações séricas da Tnlc e do peptídeo natriurético do tipo B em sangue arterial de cordão, relacionando-as às anormalidades da frequência cardíaca fetal registradas pela cardiocotografia (CTG) intraparto. O grupo de estudo foi composto por neonatos com CTG anormal e um grupo controle com CTG normal. Não se observou diferença estatisticamente significativa entre os dois grupos. Consideraram a possibilidade da dosagem da Tnlc no sangue da artéria umbilical não refletir lesão cardíaca pelo tempo insuficiente entre o possível dano e a mensuração.

Outros autores também salientaram que concentrações das troponinas cardíacas no sangue do cordão umbilical inevitavelmente refletem apenas lesões do miocárdio secundárias a agressões ocorridas na vida intrauterina, não evidenciando aquelas oriundas ao nascimento ou imediatamente após.

Engin *et al.*, (2002) avaliaram a repercussão de patologias gestacionais maternas sobre o coração fetal, monitorizando as concentrações plasmáticas da Tnlc. O grupo de estudo foi composto por um grupo de gestantes hipertensas onde, 66,6% fizeram uso do sulfato de magnésio, outro grupo de gestantes com parto prematuro e grupo controle constituído por pacientes com gestação e parto sem intercorrências. A Tnlc foi mensurada em sangue colhido na veia umbilical, imediatamente após ao nascimento e clampeamento do cordão. A idade materna e a incidência de parto abdominal foram similares entre os três grupos. A análise estatística por regressão mostrou associação significativa entre níveis elevados de Tnlc no sangue de cordão umbilical e hipertensão arterial, tabagismo e exposição materna ao sulfato de

magnésio. Não foi observado efeito da idade gestacional sobre os níveis da TnIc. Inversamente houve forte correlação entre níveis elevados de TnIc e prognóstico neonatal. Concluíram, portanto que o aumento dessa proteína cardíaca nas gestações complicadas por hipertensão, tabagismo e emprego do sulfato de magnésio pode refletir dano celular miocárdico, sendo necessário outros estudos para identificar a sensibilidade e especificidade desse importante indicador de lesão cardíaca.

Em 2005, Turker *et.al.*, realizaram um estudo com objetivo de determinar o valor prognóstico precoce da TnIc no sangue de cordão umbilical em recém-nascidos criticamente enfermos e compará-los ao do escore “SNAP” (“score for neonatal acute physiology”). Foi colhido rotineiramente sangue de cordão umbilical para realização da gasometria arterial e dosagem da TnIc e CK-MB em amostra venosa. O grupo de estudo foi constituído de 109 neonatos criticamente doentes, sendo 64 prematuros e 45 a termo; um grupo controle com 48 saudáveis e 48 que necessitaram de cuidados neonatais nível I devido a intercorrências moderadas de gravidades. Os recém nascidos do grupo de estudo apresentaram TnIc superiores aos do grupo controle. Dentre os estudados, os que foram a óbito tiveram TnIc significativamente superior. A análise pela curva ROC revelou ser TnIc preditor de mortalidade mais sensível entre recém-nascidos criticamente doentes comparativamente ao SNAP. Não houve associação estatística entre TnIc do cordão e pré-eclampsia, eclampsia ou uso de tocolítico materno. No grupo controle, não houve correlação entre idade gestacional, sexo, peso ao nascimento e tipo de parto com níveis de TnIc. Concluíram que a TnIc tem sensibilidade suficiente para detectar distúrbios cardíacos em neonatos, condição que pode passar clinicamente despercebida. Afirmaram também que a TnIc significativamente elevada no sangue de cordão umbilical pode ser preditor de mortalidade valioso em recém- nascidos criticamente doentes.

Com objetivo de avaliar se recém-nascidos pequenos para a idade gestacional têm evidência de lesão miocárdica ao nascimento, Chaiworapongsa *et. al.*, (2004) compararam as concentrações plasmáticas da TnIc no sangue venoso do cordão umbilical, colhido no momento do parto, de um grupo de 72 neonatos pequenos para a idade gestacional (PIG) e outro grupo de 309 adequados para a idade gestacional.(AIG) A TnIc foi indetectável no grupo controle. Dentre os neonatos

observou-se a presença significativa da troponina em três casos (4,2%, $p=0,007$). Concluíram que neonatos PIG podem apresentar dano miocárdico anterior ao nascimento e que essa intercorrência eventualmente predispõe a doenças cardiovasculares e morte no adulto, em faixas etárias mais jovens.

Turker *et al.*, (2004) propuseram-se a estabelecer valores de referência para a TnIc no sangue de cordão umbilical de recém-nascidos saudáveis e seu comportamento em infantes hipóxicos. Investigara também a possível relação entre níveis séricos da TnIc com a gasometria fetal, a idade gestacional e peso ao nascimento, o índice de Apgar e as dosagens das enzimas CK e CK-MB. O grupo de estudo foi composto por 112 neonatos com hipóxia perinatal e 84 recém-nascidos sem hipóxia como grupo controle. Os níveis da TnIc no sangue de cordão umbilical foram mais elevados no grupo de neonatos com hipóxia do que no grupo controle. Não houve correlação entre TnIc com idade gestacional e o peso ao nascer. Os níveis de TnIc também foram semelhantes segundo o sexo fetal e a via de parto. Houve correlação negativa entre a TnIc e pH, bicarbonato, excesso de base e índice de Apgar. Na curva ROC a TnIc de cordão revelou ser o fator mais sensível para predição de hipóxia perinatal. Concluíram, pois, que TnIc no sangue de cordão umbilical não é afetada pela idade gestacional e peso ao nascer. Constataram também que a TnIc em conjunto à CK e CK-MB estiveram elevadas em infantes hipóxicos quando comparados a normais e que a TnIc do sangue de cordão umbilical pode ser um indicador de hipóxia perinatal.

Considerando-se que a acidose fetal está associada à disfunção orgânica progressiva, com evidentes implicações na função miocárdica tanto no conceito como no período neonatal, McAuliffe, *et.al.* (2004) analisaram o comportamento dos níveis plasmáticos da TnIc em relação ao pH na artéria umbilical e a diversos parâmetros relacionados ao parto. O estudo prospectivo incluiu a coleta e 110 amostras de sangue de artérias umbilicais, imediatamente após o delivramento. Nenhum dos recém-nascidos apresentou comprometimento cardíaco clinicamente identificável no período neonatal. Não foi observada relação entre TnIc e os seguintes parâmetros: idade gestacional, paridade, presença de trabalho de parto, de mecônio, via de parto, peso ao nascer e índice de Apgar. Concluíram que a TnIc fetal mostrou pequena variação ao nascimento e que níveis elevados dessa troponina estiveram associados ao menor pH da artéria umbilical.

Os fetos produzem predominantemente troponina I musculoesquelética (TnIs). Em neonatos com asfixia níveis elevados de troponina cardíaca (TnIc) foram encontrados. Poderia ser de causa materna a mudança na produção fetal e neonatal em resposta a asfixia. Diante dessas colocações Trevisanuto *et.al.* (2009) realizaram estudo onde compararam as concentrações de TnIc em neonatos com asfixia e suas respectivas mães. Em estudo observacional prospectivo foram selecionados 19 fetos com asfixia definida por $\text{pH} \leq 7,00$ e/ou excesso de base $\geq 16\text{mmol/L}$. Amostras de sangue materno e fetal foram obtidas para determinação da TnIc. A concentração da TnIc foi significativamente mais elevada nos neonatos em comparação com suas mães. Concluíram que o aumento na concentração da TnIc detectada nos neonatos com asfixia são de origem neonatal e não materna. A asfixia nos neonatos poderia servir como fator predisponente causando uma mudança na produção da TnIs para TnIc no miocárdio.

Alexandre *et al.*, (2008) avaliaram a associação entre a concentração da TnIc em sangue de cordão umbilical com Doppler arterial antenatal alterado (Centralização) e acidemia ao nascimento. Tratou-se de um ensaio transversal prospectivo onde foram analisadas 58 gestações únicas com idade gestacional mínima de 24 semanas. Realizou-se a dopplervelocimetria do compartimento arterial do feto, num intervalo máximo de 24 horas anteriores ao parto. Imediatamente após o nascimento colheram-se amostras sanguíneas do cordão umbilical para realização da gasometria e dosagem da concentração plasmática da TnIc. A TnIc se mostrou detectável em 8,6% dos recém-nascidos. A centralização foi observada em 12 fetos, em 4 desses, a TnIc foi detectada mostrando significância estatística quando comparada com fetos com Doppler normal ($p=0,0050$). Dos fetos com acidemia, 60% mostraram TnIc detectável. Concluíram que a centralização e a acidemia estão associadas com a presença da TnIc no sangue de cordão umbilical, levantando a possibilidade de isquemia cardíaca nesses fetos.

Vários foram os estudos realizados na tentativa de se conhecer melhor a Troponina, suas isoformas e seu comportamento nos seres humanos saudáveis ou com patologias associadas. Quanto à troponina I cardíaca sabe-se que é altamente específica para o tecido cardíaco, não é detectável no sangue de pessoas sadias, mostra um aumento proporcionalmente bem maior acima dos valores limite, nos casos de isquemia miocárdica. Já nos fetos e neonatos ainda não se definiu muito

bem a sua presença nas gestações e nascimento de curso normal ou alterado por injúrias principalmente relacionadas à hipóxia. Foi no intuito de adquirir novos conhecimentos a respeito da Tnlc e sua relação com o feto que sentimos motivados a realizar esse estudo em que, o mesmo, se encontra em situação de injúria causada pela anemia e qual seria o comprometimento em relação a sua musculatura cardíaca.

3 OBJETIVO

Identificar a presença da Troponina I cardíaca em sangue de cordão de fetos de gestantes aloimunizadas pelo fator Rh, como marcador bioquímico de isquemia miocárdica fetal.

4 PACIENTES E MÉTODOS

4.1 Pacientes

No período de setembro de 2001 a julho de 2008 foram acompanhados 65 fetos supostamente anêmicos de 64 gestantes aloimunizadas no Centro de Medicina Fetal do Hospital das Clínicas da UFMG. Para esses fetos foi indicada a realização de procedimento invasivo para propedêutica e/ou terapêutica quando necessário, de acordo com o protocolo do serviço (ANEXO A). Cada procedimento foi considerado um caso. Realizou-se, portanto estudo transversal prospectivo onde foram selecionados 39 fetos de 38 gestantes aloimunizadas que foram submetidos a procedimentos de cordocentese totalizando 54 casos sendo, 27 casos de fetos sabidamente anêmicos e 27 casos de fetos não anêmicos.

4.1.1 Critérios de inclusão

- Fetos de gestantes aloimunizadas por antígenos eritrocitários, com indicação de cordocentese para diagnóstico de anemia fetal, segundo protocolo do serviço (ANEXO A).
- Concordar com os termos do Consentimento Livre e Esclarecido (CLE) (ANEXO B).

4.1.2 Critério de exclusão

- Presença de hemólise visível na amostra de sangue de cordão.
- Demais patologias maternas e obstétricas.
- Presença de malformações e alterações no padrão de crescimento dos fetos.

4.1.3 Perfil das gestantes estudadas

As gestantes estudadas foram caracterizadas de acordo com os seguintes parâmetros:

Idade (em anos) e paridade no momento da inclusão no estudo (TAB.1) onde se observou idade média de 30,32 \pm 5,72 e paridade variando de 0 a 8 e mediana de 3,00. Nas TAB. 2 e 3 observa-se uma maior ocorrência nas pacientes com idade entre 30 e 35 anos e paridade 2 e 3 no momento da inclusão no estudo.

TABELA 1

Caracterização das gestantes aloimunizadas de acordo com a idade (em anos) e com a paridade no momento da inclusão no estudo

Características	Nº	Média	Desvio-Padrão	Mínimo	Mediana	Máximo
Idade	38	30,32	5,72	19,00	30,00	41,00
Paridade	38	2,76	1,70	0,00	3,00	8,00

TABELA 2

Distribuição das gestantes aloimunizadas de acordo com a idade (em anos) no momento da inclusão no estudo

Idade Materna (anos)	Frequência (Nº)	Percentual (%)
≤ 19	1	2,6
20 a 24	4	10,5
25 a 29	11	28,9
30 a 34	12	31,6
≥ 35	10	26,3
Total	38	100,0

TABELA 3

Distribuição das gestantes aloimunizadas de acordo com a paridade no momento da inclusão no estudo

Paridade	Frequência (Nº)	Percentual (%)
0	03	07,9
1	05	13,2
2	10	26,3
3	09	23,7
4	06	15,8,
5	03	07,9
6	01	02,6
8	01	02,6
Total	38	100,0

Foram também analisadas de acordo com o tipo de anticorpo identificado no painel de hemácias (TAB. 4) onde o anticorpo anti D foi observado em 97,4% dos casos e aparecendo de forma isolada em 44,7%

TABELA 4

Distribuição das gestantes aloimunizadas de acordo com o tipo de anticorpo detectado no painel de hemácia

Tipo de Anticorpo	Frequência (Nº)	Percentual (%)
Anti D	17	44,7
Anti D Anti C	10	26,3
Anti D c	4	10,5
Anti D c E	3	7,9
Anti D Kell	1	2,6
Anti D C Fya	1	2,6
Anti D Anti C Lea Kell	1	2,6
Anti C Fya M S Kell SKB	1	2,6
Total	38	100,0

Na TAB.5, as gestantes foram distribuídas de acordo com as causas prováveis da aloimunização. Verifica-se que em 86,8% delas, a causa é atribuída a falta do uso da imunoglobulina profilática pós parto.

TABELA 5

Distribuição das gestantes aloimunizadas de acordo com as causas prováveis da aloimunização

Causa provável da aloimunização	Frequência (Nº)	Percentual (%)
Falta de profilaxia pós-parto	33	86,8
Falha da imunoglobulina	1	02,6
Transfusão incompatível	4	10,5
Total	38	100,0

A idade gestacional de cada feto no momento da inclusão no estudo foi determinada pela data da última menstruação relatada na anamnese e confirmada por exame ultrassonográfico na primeira metade da gestação. Os casos foram caracterizados e distribuídos de acordo com a idade gestacional (em semanas) onde se observa uma idade média de admissão no nosso serviço de 28,2 semanas variando de 22 a 34 semanas (TAB. 6). Sendo que na sua maioria (55,3%), a idade gestacional esteve entre 25 e 29 semanas (TAB.7).

TABELA 6

Caracterização dos casos de acordo com a idade gestacional (em semanas) no momento da inclusão no estudo

Característica	Nº	Média	Desvio Padrão	Mínimo	Mediana	Máximo
Idade Gestacional	54	28,2	3,21	22	28	34

TABELA 7

Distribuição dos casos de acordo com a idade gestacional (em semanas) no momento da inclusão no estudo

Idade Gestacional (em semanas)	Frequência (Nº)	Percentual (%)
20 a 24	04	10,5
25 a 29	21	55,3
30 a 34	13	34,2
Total	38	100,0

4.2 MÉTODOS

As gestantes incluídas no estudo foram submetidas a ultrassonografia (US) para avaliar idade gestacional, morfologia, avaliação de outros parâmetros da vitalidade fetal e foram realizadas cordocenteses para a coleta de sangue fetal e determinação da concentração de hemoglobina.

Cada avaliação ultrassonográfica seguida de cordocentese e de análise do sangue fetal foi considerada um procedimento ou um caso.

4.2.1 Avaliação ultrassonográfica

Os exames de US foram realizados pelo mesmo examinador do CEMEFE, na Maternidade Otto Cirne do HC-UFG, utilizando-se os aparelhos de US SONOACE 8800 e 8000 (MEDSOM®) com sonda setorial de 3,5 Mhz e filtro acústico de 100 Hz.

O exame de US teve como finalidade:

- Confirmação da idade gestacional pela biometria fetal (como descrito, por HADLOCK et al., 1982)
- Avaliação da morfologia e do peso fetal
- Cálculo do volume de líquido amniótico
- Avaliação placentária
- Orientar procedimento invasivo. (ITU).
- Realização das medidas ultra-sonográficas para identificar presença de anemia grave:
 - O Índice Córdio-femural é a Relação DBVE/Fêmur. O ponto de corte para considerá-lo alterado foi $\geq 0,59$ (Cabral *et al.*, 2008).
 - Como parâmetro dopplerfluxométrico empregou-se a Velocidade de Pico Sistólico da Artéria Cerebral Média (ACM) conforme técnica e curva de normalidade descrita por Mari *et al.*, 2000.

- Verificação da presença ou não de hidropisia. Considerou-se a presença de hidropisia fetal quando se visibilizou, a US, o acúmulo anormal de líquido em mais de um espaço ou cavidade potencial (HUHTA; WEIL-CHALTER; PAGOTTO, 2000; PLATT; DE VORE, 1982).

4.2.2 Coleta de sangue fetal e determinação da concentração de hemoglobina

Foram obtidas amostras de sangue dos fetos através de cordocenteses, para a determinação da concentração da hemoglobina.

Após anti-sepsia e anestesia local (com lidocaína a 2%) da parede abdominal da gestante, realizou-se a punção do abdome materno e do cordão umbilical com agulha marca BD® 20/15 sob visão ultrassonográfica (DAFFOS, 1983).

A punção foi realizada por um segundo profissional, também membro efetivo do CEMEFE-HC/UFMG.

Puncionou-se preferencialmente a veia umbilical na inserção do cordão junto à placenta ou, quando não era possível, em alça livre. Obteve-se uma amostra de 1,0 ml de sangue fetal. Colocou-se uma gota do volume de sangue coletado em uma microcuvita para análise no sistema HEMOCUE® (B-Hemoglobin Photometer HEMOCUE AB; ANGELHOLM SWEDEN). O aparelho de HEMOCUE® foi utilizado para a rápida determinação quantitativa da concentração da hemoglobina no sangue através de fotômetro. Parte da amostra de sangue coletada foi enviada ao Laboratório Central do HC/UFMG para confirmação da presença de sangue fetal, através da avaliação do volume corpuscular médio (VCM) e da concentração de hemoglobina dosada no HEMOCUE®. Quando a diferença entre o valor da hemoglobina medido pelo HEMOCUE® e o determinado pelo laboratório era maior que 15%, optava-se pelo último valor. No caso contrário, o valor considerado seria o determinado pelo HEMOCUE®.

4.2.3 Cálculo do déficit de hemoglobina e classificação dos fetos quanto à anemia

Utilizou-se como referência para valores de concentração da hemoglobina em relação à idade gestacional a curva de normalidade de Nicolaidis *et al.*, (1988b). Calculou-se o Déf Hb de acordo com o proposto pelos mesmos autores.

Foi considerado que o feto estava gravemente anêmico quando o Déf Hb foi maior que 7g/dl (NICOLAIDES *et al.*, 1988b).

Os casos foram classificados quanto à anemia da seguinte forma:

- Fetos sem anemia: ausência de Déf Hb ou Déf Hb \leq 2g/dl.
- Fetos com anemia leve: 2 g/dl < Déf Hb < 5 g/dl.
- Fetos com anemia moderada: 5 g/dl \leq Déf Hb \leq 7 g/dl.
- Fetos com anemia grave: Déf Hb > 7g/dl

4.2.4 Técnica de processamento e armazenamento do sangue fetal para dosagem de Troponina I cardíaca

Parte do sangue fetal obtido pela cordocentese foi centrifugada por 10 minutos em centrífuga refrigerada a 4 graus centígrados, empregando-se velocidade de 4.000 rotações por minuto, para separação do plasma.

O plasma foi então pipetado, usando-se ponteiras descartáveis para tubos, tipo EPPENDORF, devidamente identificados de acordo com o registro de cada caso no banco de dados. Os tubos foram congelados em nitrogênio líquido, depois transferidos para o freezer a -80° C. Posteriormente, as amostras foram transportadas para o Laboratório Central do HC-UFMG em caixa de isopor com gelo seco, lacrada com fita adesiva para assegurar a manutenção da temperatura. No Laboratório Central do HC-UFMG eram descongeladas e submetidas à técnica VIDAS® Troponin I Ultra para dosagem da Troponina I Cardíaca

4.2.5 Descrição da Técnica para dosagem da Troponina I Cardíaca

As dosagens da Troponina I cardíaca foram realizadas por meio do teste VIDAS® Troponin I Ultra (TNIN) que é um teste quantitativo automatizado nos aparelhos VIDAS que permite a dosagem da Troponina I cardíaca humana no soro ou plasma humano pela técnica ELFA (Enzyme-Linked Fluorescent Assay)

4.2.5.1 Princípio

O princípio de dosagem associa o método imunoenzimático tipo sanduíche numa etapa com uma detecção final em fluorescência (ELFA).

Todas as etapas do teste são efetuadas automaticamente pelo aparelho.

A amostra é coletada e depois transferida para o poço que contém os anticorpos anti-troponina cardíaca marcados com fosfatase alcalina (conjugado). A mistura amostra/conjugado é aspirada e depois dispensada várias vezes no cone. Esta operação permite à troponina I ligar-se, por um lado, às imunoglobulinas fixadas no cone e por outro lado, ao conjugado, formando assim um sanduíche. Os componentes não fixados são eliminados por lavagens.

Em seguida, são efetuadas duas etapas de revelação sucessivas. Em cada etapa, o substrato (4-metil-umbeliferil fosfato) é aspirado e depois dispensado no cone. A enzima do conjugado catalisa a reação de hidrólise desse substrato num produto (4-metil-umbeliferona) cuja fluorescência emitida é medida em 450nm. O valor do sinal de fluorescência é proporcional à concentração de antígenos presentes na amostra.

Terminado o teste, os resultados são calculados automaticamente pelo aparelho em relação a duas curvas de calibração memorizadas que correspondem às duas etapas de revelação. Um sinal limiar gera uma escolha da curva de calibração a utilizar para cada amostra. Em seguida, os resultados são impressos.

4.2.5.2 Interferências Relacionadas com as Amostras

Não foi observado para essas dosagens, influência significativa de:

- Hemólise (após sobrecarga das amostras com hemoglobina até 330 μ mol/L ou 532 mg/dl.
- Lipemia (após sobrecarga das amostras com lipídios até 30 g/L de equivalente em triglicerídeos)
- Bilirrubinemia (após sobrecarga das amostras com bilirrubina até 510 μ mol/L ou 29mg/dL.

É aconselhado, no entanto, não utilizar amostras visivelmente hemolisadas, lipêmicas, ou ictéricas.

4.2.5.3 Resultados

Os resultados são calculados automaticamente pelo aparelho e são expressos em μ g/L ou ng/mL

A dosagem da VIDAS Troponin I Ultra está padronizado em relação à preparação internacional de referência "Standard Reference Material 292".

4.2.5.4 Valores esperados

Esses dados são dados a título indicativo, é recomendado a cada laboratório estabelecer os seus próprios valores de referência sobre uma população rigorosamente selecionada.

Para VIDAS Troponin I Ultra o valor de 99^o percentil foi obtido a partir de 747 plasmas heparinados provenientes de pessoas que não apresentavam sintomas cardíacos. Esse valor é <0,01 μ g/L.

O Comitê de consenso da Sociedade Européia de cardiologia (ESC) e do American College of Cardiology (ACC) recomendou em 2000 que o diagnóstico da necrose do miocárdio fosse efetuado quando a concentração Troponina fosse superior ao 99^o percentil de uma população sã de referência com uma imprecisão \leq 10%.

O estudo da imprecisão foi efetuado com 6 pools de plasma dosados em duplicata em 20 séries diferentes com 2 lotes de reagentes em 3 locais. A menor concentração determinada da Troponina I com um coeficiente de variação inter-lotes $\leq 10\%$ é de $0,11\mu\text{g/L}$. Não foi observada diferença significativa nessa concentração entre a amostra plasmática e sérica.

4.2.5.5 Comportamento Funcional

Os estudos do teste VIDAS Troponin I Ultra deram os seguintes resultados:

- Domínio de leitura estende-se de $0,01\mu\text{g/L}$ a $30\mu\text{g/L}$.
- Limite de detecção analítico foi definido como sendo a menor concentração em troponina I cardíaca significativamente diferente da concentração zero com uma probabilidade de $95\% < 0,01\mu\text{g/L}$.
- Efeito de zona não foi observado até concentrações em Troponina I cardíaca de $1000\mu\text{g/L}$.

4.2.5.6 Controle de qualidade

Estão incluídos dois controles em cada embalagem VIDAS Troponin I Ultra. Esses controles são utilizados na abertura de cada nova embalagem para verificar a ausência de alteração dos reagentes. Cada calibração deve também ser verificada utilizando esses controles

Para a calibração utilizam-se os dois calibradores fornecidos na embalagem e será efetuada na recepção de cada lote todos os 28 dias.

4.2.6 Análise estatística

4.2.6.1 Cálculo amostral

Para a estimativa amostral, utilizou-se a função Statcalc do programa EPI-INFO® versão 6.0d 2001, para estudos transversais. Considerou-se poder do estudo de

80% (erro beta de 20%) e erro alfa (duas caudas) de 5%. Com base nos achados de GODOY, M.F. (1998) observamos:

1 - Frequência esperada da elevação da Troponina I cardíaca em fetos não anêmicos: 2,7%

2 - Frequência esperada da elevação da troponina I cardíaca em fetos com lesão miocárdica: 64%

A partir desses achados mostrou- nos a necessidade de 54 amostras.

4.2.6.2 Tratamento estatístico

As variáveis qualitativas em estudo foram analisadas utilizando-se tabelas de frequência. As variáveis quantitativas foram descritas pelas medidas de tendência central (média e mediana), medidas de dispersão (desvio-padrão, mínimo, máximo) dos gráficos histogramas e box-plots.

Na comparação dos fetos anêmicos e não anêmicos utilizou-se os testes Qui-quadrado de Pearson assintótico (80% das caselas tiveram valores esperados maiores ou iguais a cinco) ou (menos de 80% das caselas tiveram valores esperados maiores ou iguais a cinco) exato para as variáveis qualitativas e os testes T (distribuição normal) ou Teste de Mann Whitney (distribuição não normal). Na comparação inicial e final do Coombs entre os grupos anêmicos e não anêmicos foi utilizado o Teste de Wilcoxon.

O teste de normalidade utilizado foi o Shapiro Wilks.

4.2.7 Aspectos éticos

Este estudo foi aprovado pela Câmara do Departamento de Ginecologia e Obstetrícia da Faculdade de Medicina da Universidade Federal de Minas Gerais, pela Comissão de Ética em Pesquisa da UFMG (COEP) e pela Diretoria de Ensino e Pesquisa do Hospital das Clínicas da UFMG. Todas as pacientes participaram voluntariamente, tendo sido respeitados os princípios para pesquisa em seres humanos. As participantes foram informadas sobre os objetivos, a segurança e os

tipos de exames propostos para a pesquisa e assinaram Termo de Consentimento Livre e Esclarecido, seguindo os termos da Resolução 196, de 10 de outubro de 1996, do Conselho Nacional de Saúde.

5 RESULTADOS

Dos 54 casos selecionados, 27 eram sabidamente anêmicos e 27 não anêmicos segundo os critérios de déficit de Hb descritos. A tabela 8 mostra a concentração de hemoglobina em sangue fetal, comparando-se os fetos anêmicos e não anêmicos. Houve uma variação de 2,30 g/dl a 8,70 g/dl, com média de 4,75g/dl e mediana de 4,80 g/dl entre os fetos anêmicos. Já os fetos não anêmicos apresentaram uma variação de 11,30 g/dl a 18,90 g/dl com média de 13,47g/dl e a mediana de 13,32 g/dl.

TABELA – 8

Caracterização dos fetos anêmicos e não anêmicos de acordo com a Hb pré (em g/dL) no momento da inclusão no estudo

Hb Pré	Média	Desvio-Padrão	Mínimo	Mediana	Máximo
Feto Anêmico	4,75	1,42	2,30	4,80	8,70
Feto Não Anêmico	13,47	1,74	11,30	13,32	18,90

Quanto ao Déf Hb os fetos não anêmicos apresentaram uma variação de -5,11 g/dl a 1,79 g/dL caracterizando ausência de anemia. Nos fetos anêmicos apenas 1 feto apresentou anemia moderada com Déf Hb de 5,47 g/dL ($5 \text{ g/dl} \leq \text{Déf Hb} \leq 7 \text{ g/dL}$) todo o restante se encontrava com Déf Hb $> 7\text{g/dL}$ caracterizando anemia grave (TAB. 9)

TABELA - 9

Caracterização dos fetos anêmicos e não anêmicos de acordo com o Déf. Hb (em g/dL) no momento da inclusão no estudo

Déf Hb	Média	Desvio-Padrão	Mínimo	Mediana	Máximo
Déf Hb Feto Anêmico	8,68	1,24	5,47	8,67	11,68
Déf Hb Feto Não Anêmico	-0,16	1,59	-5,11	0,55	1,79

Quanto ao painel de hemácias destacou nos fetos anêmicos a presença dos anticorpos anti-D e anti-C. Já nos não anêmicos o anti-D, de forma isolada, foi o mais prevalente (GRAF. 3).

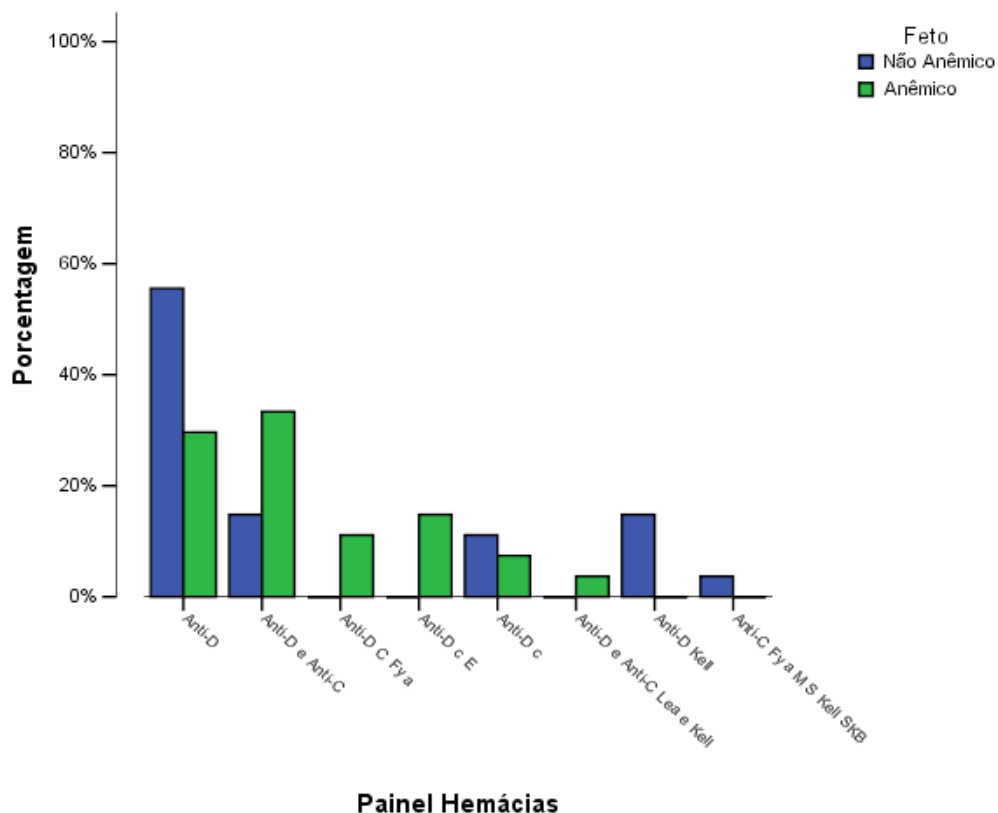


GRÁFICO 1- Distribuição dos fetos anêmicos e não anêmicos de acordo com o painel de hemácias no momento da inclusão no estudo

Quanto ao valor do Coombs Indireto inicial podemos observar que 92,6% dos fetos anêmicos apresentaram uma titulação $\geq 1:256$ (TAB.10). Quando se comparou titulação do Coombs inicial com final observou-se um aumento estatisticamente significativo tanto nos fetos anêmicos quanto nos não anêmicos. Porém, quando a comparação de deu entre os fetos não observou significância porque o aumento do Coombs final em relação ao inicial ocorreu nos fetos anêmicos e não anêmicos. (TAB.11)

TABELA - 10

Caracterização dos fetos anêmicos e não anêmicos de acordo com a titulação do Coombs Indireto no momento da inclusão no estudo

Titulação do Coombs Indireto	Feto não Anêmico Nº (%)	Feto Anêmico Nº (%)	Total Nº (%)
≤ 1:8	1(3,7)	0 (0,0)	1 (1,9)
1:16	1(3,7)	0 (0,0)	1 (1,9)
1:32	5 (18,5)	1 (3,7)	6 (11,1)
1:64	3 (11,1)	1 (3,7)	4 (7,4)
1:128	5 (18,5)	0 (0,0)	5 (9,3)
≥1:256	12 (44,4)	25 (92,6)	37 (68,5)
Total	27 (100,0)	27 (100,0)	54 (100,0)

TABELA - 11

Caracterização dos fetos anêmicos e não anêmicos de acordo com a titulação do Coombs Indireto inicial e final

Variáveis	Anêmico	Não Anêmico	Valor-p2
Coombs Inicial	256±768	128±224	0,001
Coombs Final	2048±7680	1024±1792	0,093
Valor-p1	0,000	0,000	

Mediana±intervalo interquartil /1 Teste de Wilcoxon - 2 Teste de Mann Whitney

Como causa da sensibilização, tanto fetos anêmicos quanto não anêmicos, a principal causa está relacionada com a não realização da imunoglobulina pós-parto (GRAF. 4).

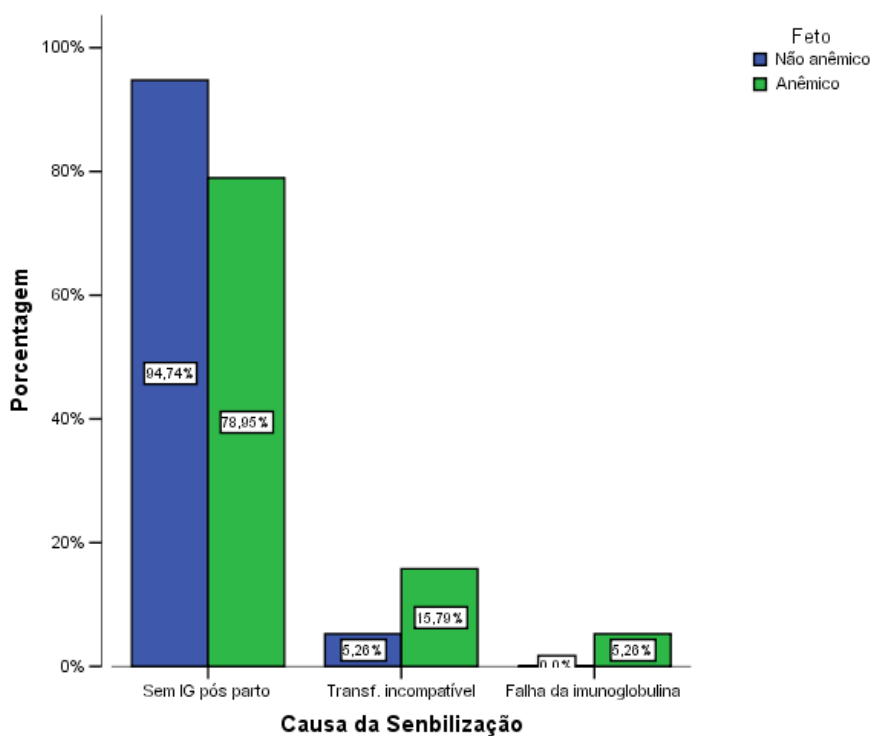


GRÁFICO 2- Distribuição dos fetos anêmicos e não anêmicos de acordo com a causa da sensibilização no momento da inclusão no estudo

Em relação à idade gestacional dos fetos no momento da inclusão no estudo, não se observou diferença significativa entre os fetos anêmicos e não anêmicos o que se pode observar na TAB.12.e GRAF.5.

TABELA - 12

Caracterização dos fetos anêmicos e não anêmicos de acordo com a idade gestacional (em semanas) no momento da inclusão no estudo

Idade Gestacional (em semanas)	Anêmico Nº (%)	Não anêmico Nº (%)	Total Nº (%)
20 a 24	2 (7,4)	2 (7,4)	4 (7,4)
25 a 29	14 (51,9)	16 (59,3)	30 (55,6)
30 a 34	11 (40,7)	9 (33,3)	20 (37,0)
Total	27 (100,0)	27 (100,0)	54 (100,0)

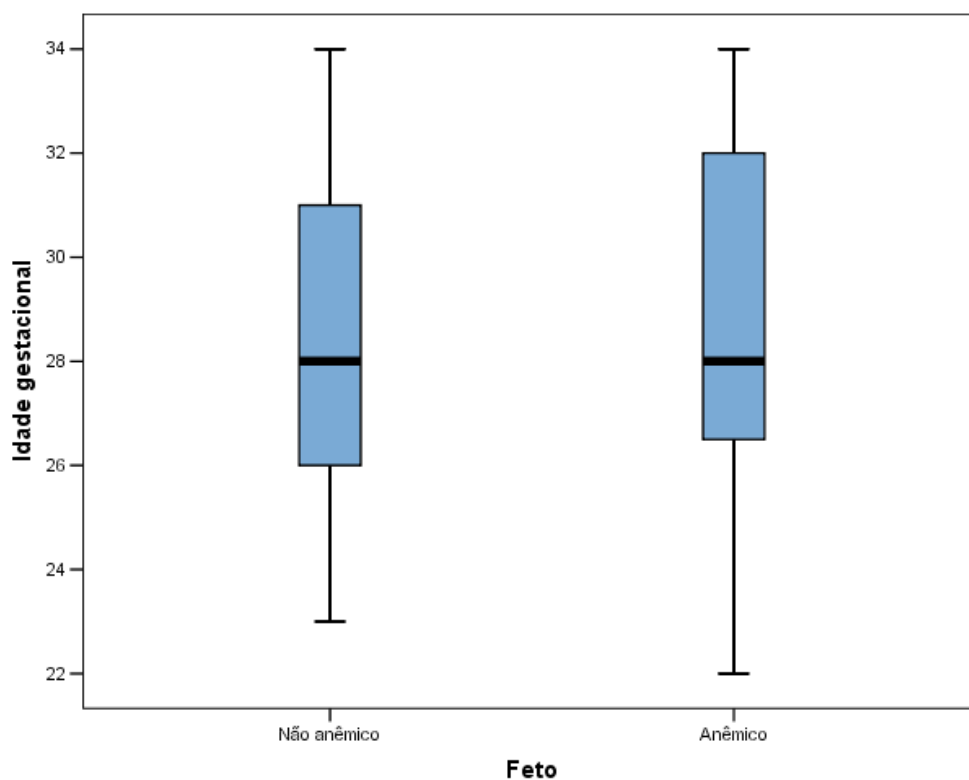


GRÁFICO 3- Distribuição dos fetos anêmicos e não anêmicos de acordo com a idade gestacional no momento da inclusão no estudo

A hidropsia esteve presente em 63,0% dos fetos anêmicos, não comprometendo os fetos não anêmicos (TAB.13 e GRAF. 6)

TABELA - 13

Caracterização dos fetos anêmicos e não anêmicos de acordo com a presença ou ausência da hidropsia no momento da inclusão no estudo

Hidropsia	Não anêmico Nº (%)	Anêmico Nº (%)	Total Nº (%)
Ausente	27 (100,0)	10 (37,0)	37 (68,5)
Presente	0 (0,0)	17 (63,0)	17 (31,5)
Total	27 (100,0)	27 (100,0)	54 (100,0)

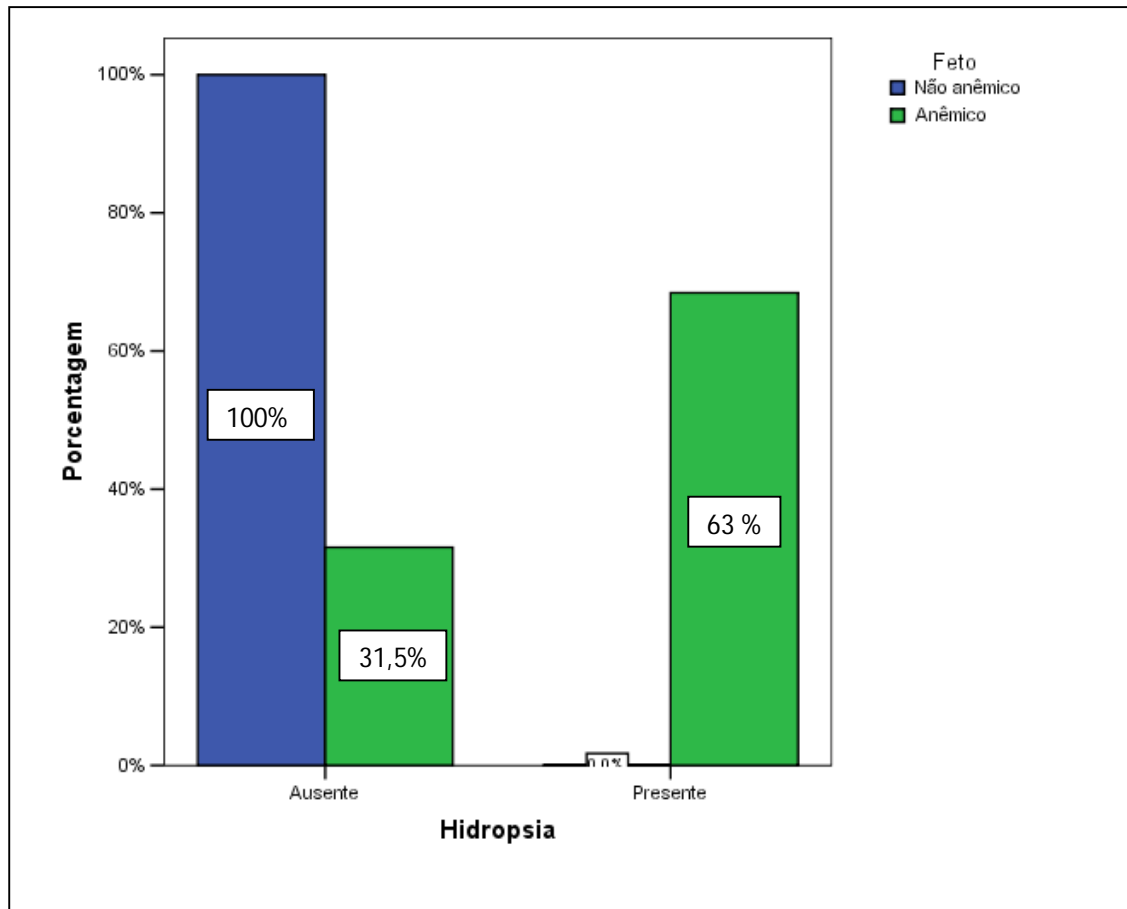


GRÁFICO 4- Distribuição dos fetos anêmicos e não anêmicos de acordo com a presença ou ausência da hidropsia no momento da inclusão no estudo

Da mesma forma, observa-se no GRAF. 7 que a hidropsia esteve presente somente nos fetos com Hb pré abaixo de 7g/dL.

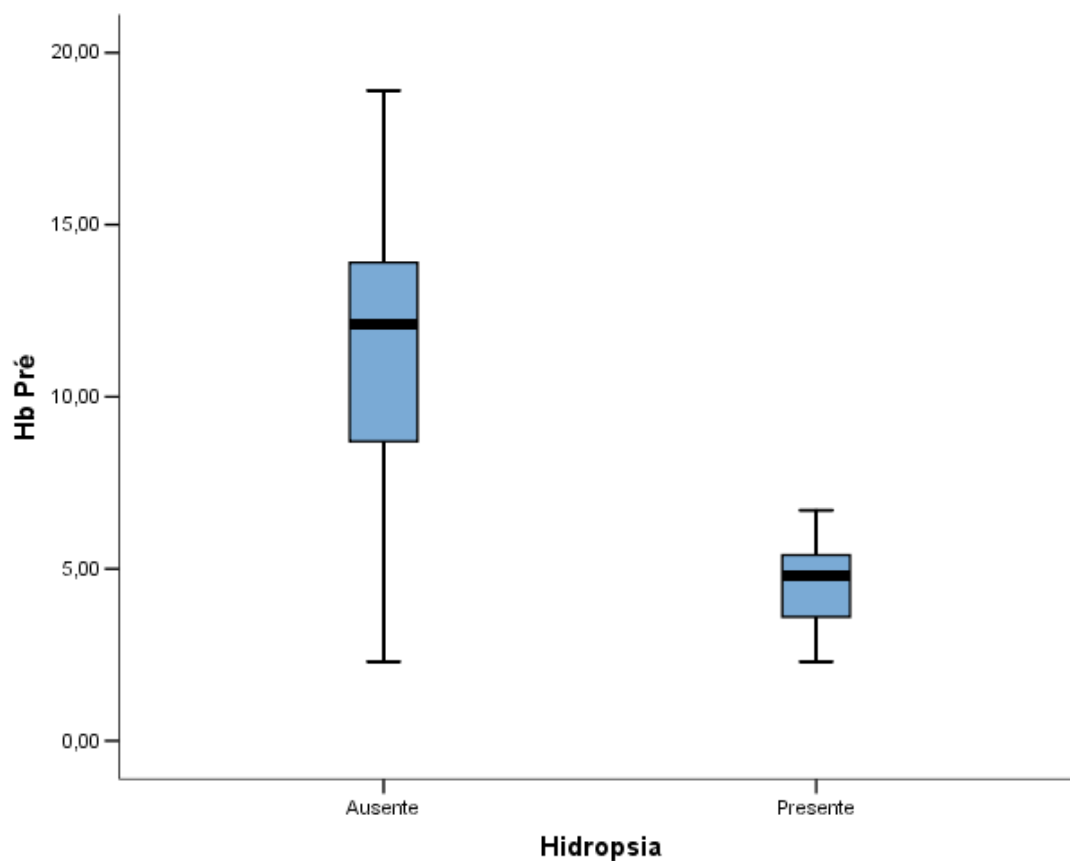


GRÁFICO 5- Distribuição dos fetos quanto à presença ou ausência da hidropsia de acordo com a Hb pré no momento da inclusão no estudo

Conforme apresentado no gráfico 8 e na tabela 14, considerando-se os fetos anêmicos, a hidropsia esteve presente quando o déficit de Hb se encontrava acima de 7g/dl, diferença estatisticamente significativa por meio do testes Qui-quadrado de Pearson com $p < 0,0001$.

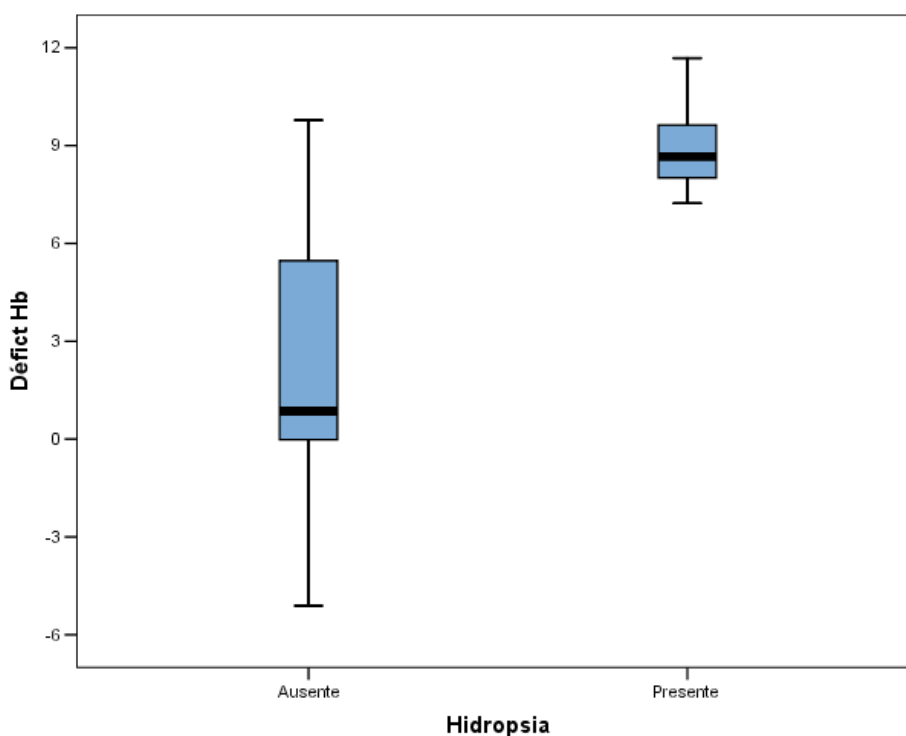


GRÁFICO 6- Distribuição dos fetos quanto à presença ou ausência da hidropsia de acordo com o Déf.Hb no momento da inclusão no estudo

TABELA - 14

Análise de comparação dos fetos anêmicos e não anêmicos de acordo com a presença ou ausência da hidropsia

Hidropsia	Não anêmico Nº (%)	Anêmico Nº (%)	Total Nº (%)	Valor do P
Ausente	27 (73,0)	10 (27,0)	37 (68,5)	0,000
Presente	0 (0,0)	17 (63,0)	17 (31,5)	
Total	27 (100,0)	27 (100,0)	54 (100,0)	

A dosagem da Troponina I cardíaca tanto para fetos anêmicos e não anêmicos foi $<0,01 \mu\text{g/L}$ que de acordo com o teste VIDAS Troponin I Ultra o valor de $0,01 \mu\text{g/L}$ a $30\mu\text{g/L}$ corresponderia a sua presença na amostra avaliada como demonstrado na TAB. 15 e GRAF. 7.

TABELA - 15

Análise de comparação dos fetos anêmicos e não anêmicos de acordo com a dosagem da troponina I cardíaca

Troponina I Cardíaca	Não anêmico Nº (%)	Anêmico Nº (%)	Total Nº (%)
Ausente <0,01	27 (100,0)	27 (100,0)	54 (100,0)
Presente >0,01	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)
Total	27 (100,0)	27 (100,0)	54 (100,0)

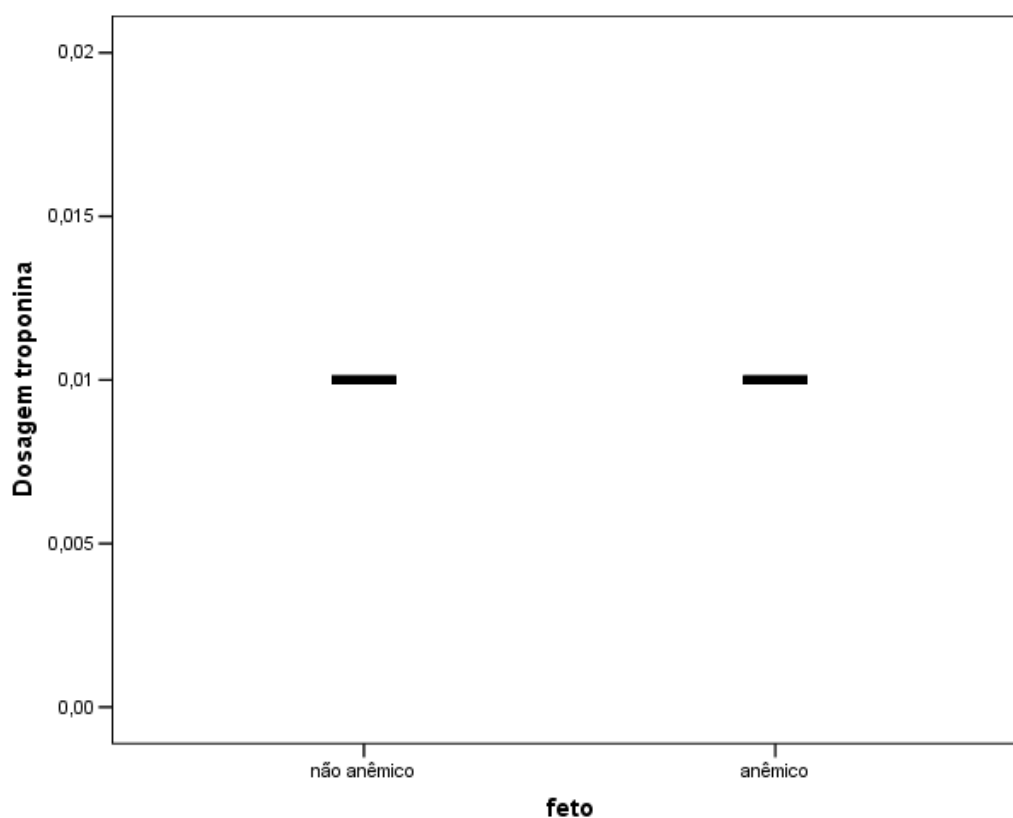


GRÁFICO 7- Distribuição dos fetos anêmicos e não anêmicos quanto à dosagem da troponina I cardíaca no momento da inclusão no estudo

6 DISCUSSÃO

6.1 Da ALO pelo fator Rh

Passado décadas do desenvolvimento da imunoglobulina anti Rh, solução quase definitiva para a ALO, ainda nos deparamos com um número inaceitável de gestantes portadoras dessa alteração e fetos comprometidos severamente pela doença (Cabral, 1993).

No nosso estudo identificamos que 86,8 % das gestantes a causa atribuída a ALO é o não uso da imunoglobulina pós-parto mostrando que a falta da profilaxia ainda é um fator preponderante na ALO dessas pacientes.

Sabemos que mais de 95% das aloimunizações ocorrem pelo antígeno D do complexo Rh (BOWMAN, 2004; MOISE, 2008). Observamos, portanto o anticorpo anti D em 97,4% das gestantes estudadas.

Para identificar as gestantes aloimunizadas é utilizado o teste de Coombs Indireto (CI) que detecta e quantifica os anticorpos anti Rh porventura presentes na circulação materna. Trata-se de uma reação sorológica, cuja leitura de diluição possui grande variabilidade interobservador. Este fato dificulta o acompanhamento do comprometimento fetal apenas pela avaliação do CI (BOWMAN, 2004; MOISE, 2008).

Observamos que 92,6% dos fetos com anemia apresentaram titulação $\geq 1:256$, porém 44,4% dos fetos sem anemia também apresentaram titulação $\geq 1:256$ mostrando que são necessários outros parâmetros para identificar o real comprometimento do feto da gestante aloimunizada.

6.2 Do diagnóstico da anemia fetal

A definição do nível de comprometimento do feto será obtida pelo grau de hemólise ocorrida em seu sangue podendo ser utilizado métodos invasivos indireto e direto ou métodos não invasivos indiretos. Por mais de 50 anos as gestações complicadas pela aloimunização eram acompanhadas pela espectrofotometria do líquido amniótico (DDO450). Este exame revela a concentração de bilirrubina no líquido

amniótico através do desvio de densidade óptica detectado no espectrofotômetro sendo um indicador indireto invasivo do grau de hemólise fetal. Os resultados obtidos na espectrofotometria do líquido amniótico eram cotejados com os valores na curva original de Liley, que era dividida em três zonas de acordo com a gravidade da provável anemia fetal em relação à idade gestacional. O método invasivo direto consiste na análise do sangue fetal obtido por cordocentese. A dosagem de Hemoglobina irá fornecer o grau de anemia no feto (Moise, 2008 ; Cabral, 1998). À vantagem de se conhecer diretamente a gravidade da doença no feto contrapõe-se o risco do procedimento invasivo, particularmente o agravamento da sensibilização materna. A racionalização destes procedimentos é a principal motivação para a investigação de métodos não invasivos de diagnóstico da anemia fetal.

Alguns parâmetros ultrassonográficos visam identificar a resposta hemodinâmica do feto ao processo anêmico. Hepato-esplenomegalia, polidrâmnio e hidropisia, são pouco utilizados, pois são sinais tardios. Em 2008, Cabral *et al.*, propuseram outro método não invasivo de destaque, o índice cardiofemoral (ICF) que já vinha sendo aprimorado há alguns anos no CEMEFE-HC-UFMG (CABRAL, *et.al.*, 2008, CABRAL, 2009b; ANDRADE, 2007). O ICF é obtido dividindo-se o diâmetro biventricular externo pelo comprimento do fêmur. Seu valor é considerado alterado quando o resultado for $\geq 0,59$. Este marcador foi desenvolvido com o intuito de complementar a predição não invasiva da anemia fetal grave. O ICF apresenta sensibilidade de 87,2% e valor preditivo negativo de 88,7% para fetos não transfundidos (CABRAL *et.al.*, 2008). O ICF tem algumas vantagens a serem destacadas: é exame de simples execução, portanto pode ser feito por qualquer ultrassonografista; é também marcador fidedigno de anemia fetal em situações especiais, tais como; nos casos de fetos politransfundidos e nos fetos com idade gestacional acima de 35 semanas (CABRAL *et.al.*, 2008). O ICF alterado ainda parece associar-se com alterações gasométricas (KRETTLI, 2006) e com o aumento do risco de hidropisia e mortalidade perinatal (RODRIGUES, *et. al.*, 2007).

A avaliação de velocidade de fluxo ao Doppler também tem sido alvo de investigações. Mari *et.al.*, (2000) foram os primeiros a preconizar que o pico da velocidade sistólica da artéria cerebral média poderia determinar com boa acurácia a anemia em fetos humanos. Mostraram que a sensibilidade do PVS da ACM para a

predição da anemia fetal moderada e grave foi de 100% independentemente da existência ou não de hidropisia.

A combinação destes métodos, associados à história obstétrica tem permitido racionalizar os métodos invasivos, indicados quando os métodos não invasivos mostrarem risco de anemia moderada ou grave (Moise, 2008).

Realmente, constatou-se neste estudo a elevação significativa da dosagem de Coombs indireto, em mais de 4 títulos, antes e após a realização da cordocentese, tanto em fetos anêmicos quanto em não anêmicos, sugerindo aumento no processo de hemólise por sensibilização materna. Reforça-se a necessidade de realizar a cordocentese apenas quando os métodos não invasivos venham sugerir anemia grave.

Ozanan, (2010) mostrou em sua tese de mestrado que o principal fator determinante na mortalidade perinatal nos fetos anêmicos pela ALO é a prematuridade representada pela idade gestacional ao nascimento. Isso nos mostra a necessidade do diagnóstico precoce para através do acompanhamento, identificar o melhor momento de se realizar o tratamento evitando o agravar da anemia fetal. As nossas gestantes, no momento da inclusão no estudo, 34,2% se encontravam entre 30 e 34 semanas de gestação. Número importante de gestantes cujo diagnóstico deveria ter sido realizado antecipadamente, para diminuir os riscos sob o feto.

6.3 Da resposta fisiopatológica do feto ao processo anêmico

A anemia fetal decorrente da hemólise provocada pelos anticorpos maternos contra os antígenos eritrocitários fetais nos mostra alguns aspectos da fisiologia cardíaca fetal. No qual, a partir do conhecimento de que o feto como mecanismos de compensação desenvolve alterações hematológicas, hemodinâmicas e metabólicas. Estas alterações foram descritas por vários autores na tentativa de elucidar os mecanismos de defesa que o feto desenvolve nos graus avançados da anemia.

Ocorre, portanto recrutamento da eritropoiese extramedular em sítios primários como baço e fígado, dentre outros como rins, adrenais e as mucosas intestinais, após esgotamento da medular (NICOLAIDES, 1989). Elevação do débito cardíaco

secundário ao aumento da fração de ejeção, devido principalmente à redução da viscosidade sanguínea (BAHADO-SINGH *et al.*, 1999; BILARDO; CAMPEBLL; NICOLAIDES, 1988; MARI *et al.*, 1990; RIGHTMIRE *et. al.*, 1986; RIZZO *et al.*, 1990). Com a redução da viscosidade sanguínea ocorre o aumento do retorno venoso, aumento da pré-carga, aumento da contratilidade cardíaca que leva a melhora do aporte sanguíneo tecidual, conseqüentemente instala-se um estado hiperdinâmico.

Rodrigues, (2002) mostrou correlação inversa, independente da idade gestacional, entre a concentração da hemoglobina fetal e a medida do diâmetro biventricular externo (DBVE). Este achado indica que o coração fetal responde ao estado hiperdinâmico decorrente da anemia com o aumento de suas câmaras cardíacas, particularmente as câmaras ventriculares, que podem ser medidas pelo DBVE e pelo ICF.

À medida que o processo anêmico evolui, ocorre insuficiência cardíaca de alto débito com aumento secundário da pressão hidrostática capilar. Seguem-se o comprometimento da oxigenação tissular e a dilatação hipóxica arteriolar com aumento da permeabilidade capilar. O volume intravascular reduz-se à medida que se acentua a perda de líquido para o compartimento extravascular nas cavidades peritoneal, pleural, pericárdica e intersticial, resultando no quadro característico de hidropisia fetal. (MANNING, 2000).

No nosso estudo a hidropisia esteve presente em 63% dos fetos anêmicos que apresentaram Déf. de Hb acima de 7g/dL. Portanto a presença da hidropisia em fetos anêmicos graves se mostrou estatisticamente significativa por meio do teste de Qui-quadrado de Pearson com $p < 0,0001$.

6.4 Da Troponina I cardíaca

A Troponina cardíaca I cardíaca (TnIc) é considerada atualmente o marcador bioquímico mais sensível e específico de necrose do miocárdio no adulto (TREVISANUTO *et al.*, 2006; CLERICO *et.al.*, 2008). Já na vida intrauterina ainda não existe um consenso na literatura sobre os valores de referência considerados normais. Estudos têm sido realizados com a finalidade de estabelecer valores de

normalidade e sua presença em situações de injúria do miocárdio em fetos e recém nascidos.

Estudos mostraram que a Tnlc detectada no feto, não é de origem materna (TREVISANUTO *et al.*, 2003 e 2009). Outros mostraram a presença da Tnlc em fetos expostos a algum tipo de injúria, principalmente nos casos de asfixia, levando a hipóxia tecidual e por sua vez comprometendo a musculatura cardíaca (ALEXANDRE *et al.*, 2008; TRAVISANUTO *et al.*, 2008; TURKER *et al.*, 2004).

Fetos e neonatos com asfixia onde a Tnlc se mostrou presente, apresentavam grave comprometimento da circulação útero-placentária, os mecanismos hemodinâmicos e metabólicos compensatórios alcançaram seus limites e a oxigenação do miocárdio tornou-se insuficiente para proporcionar adequada contratilidade e efetiva ejeção do sangue. Ocorreu uma miocardiopatia hipoxêmica, com disfunção ventricular e subsequente queda do DC (BASCHAT *et al.* 2000). O que difere dos fetos com anemia grave que elevam o DC para manter adequada a contratilidade e efetiva ejeção do sangue melhorando o aporte sanguíneo tecidual (TONGSONG *et al.* 2011).

Apesar da ALO pelo fator Rh levar o feto a um quadro de injúria cardíaca através da anemia, a troponina I cardíaca não se mostrou presente nos fetos avaliados neste estudo.

As dosagens da Troponina I cardíaca foram realizadas por meio do teste VIDAS® Troponin I Ultra (TNIN) que é um teste quantitativo automatizado nos aparelhos VIDAS que permite a dosagem da Troponina I cardíaca humana no soro ou plasma humano pela técnica ELFA (Enzyme-Linked Fluorescent Assay). Este teste abrange todas as recomendações feitas pelo Comitê de Consenso da Sociedade Européia de cardiologia (ESC) e do American College of Cardiology (ACC) em 2000 que o diagnóstico da necrose do miocárdio fosse efetuado quando a concentração da Troponina fosse superior ao 99º percentil de uma população sã de referência com uma imprecisão $\leq 10\%$.

O meio de coleta ideal para a dosagem da Tnlc através do teste VIDAS® seria a heparina de Lítio. Portanto, de acordo com o laboratório, não inviabiliza os resultados devendo correlacionar com a clínica apresentada pelo paciente.

Alan, et.al. (1998) onde compararam as subunidades da Troponina cardíaca (TnIc e TnTc), em sangue de pacientes após infarto agudo do miocárdio, utilizando os meios EDTA e heparina de lítio. Observaram que o EDTA, interrompe o complexo troponina diminuindo a afinidade do complexo pelo cálcio quelato. Portanto, concluíram que todas as amostras foram úteis em detectar a injúria do músculo cardíaco.

Foram avaliadas com o mesmo teste, amostras de sangue de cordão em 5 fetos com anemia grave pela ALO (Déf. Hb > 7g/dL), com a coleta realizada em tubo contendo EDTA e outro contendo heparina de lítio, encaminhadas ao laboratório logo após a coleta. Os resultados mostram-se semelhantes, fortalecendo a ausência da TnIc nestes fetos.

6.5 A troponina I cardíaca e a resposta cardíaca fetal à anemia

Devemos, portanto nos ater à fisiopatologia do feto anêmico na ALO buscando entender melhor como e porque, neste estudo, a Troponina I cardíaca não foi identificada no sangue destes fetos. Uma hipótese inicial é: a isquemia cardíaca ocorre apenas no momento precedente ao óbito fetal?

Tongsong e colaboradores em 2011 realizaram estudo buscando avaliar a contratilidade cardíaca em fetos hidróticos, devido alto débito cardíaco na anemia grave, por meio da fração de encurtamento do ventrículo fetal. Observaram que fetos hidróticos com DC aumentado apresentaram prejuízo mínimo na contratilidade cardíaca mantendo a fração de encurtamento dentro dos padrões de normalidade. Isso significou uma contratilidade ventricular efetiva e boa resposta adaptativa com o desenvolvimento da hidropisia antecedendo a falência cardíaca. A fração de encurtamento circunferencial é um dos métodos mais tradicionais para quantificar a contratilidade dos ventrículos (GOLDINFELD *et al.*, 2000).

Brigas *et al.*, (2008) avaliaram o impacto cardiovascular sobre o feto anêmico devido a ALO pelo Rh. Foram selecionados 15 casos de fetos com anemia severa e 38 casos com anemia leve. Dentre outros parâmetros foi analisada a fração de encurtamento dos ventrículos que não apresentou significância entre os dois grupos.

A fração de encurtamento dos ventrículos mostrou-se desta forma, útil como marcador de prognóstico do feto hidrópico (TONGSONG *et al.*, 2011).

Kikinen; Jouppila, (1983) já demonstraram, investigando mudanças em fetos de gestantes complicadas pela ALO, que a descompensação cardíaca precede a ascite, se mostrando um fenômeno tardio sugerindo assim, ser a ascite, um mecanismo de compensação na tentativa de evitar a insuficiência cardíaca.

Com a elevação do DC ocorre a dilatação das câmaras cardíacas onde se percebe a alteração do DBVE. Ao mesmo tempo ocorre um hiperfluxo que é percebido pelo aumento no PVS na ACM. Para tentar compensar o aumento do DC, ocorre aumento da pressão hidrostática capilar com aumento da permeabilidade capilar. Consequentemente, sobrevém a redução do volume intravascular à medida que se acentua a perda de líquido para o compartimento extravascular nas cavidades peritoneal, pleural, pericárdica. Instala-se, portanto a hidropisia. Este processo é ainda, um mecanismo de compensação. Não intervindo até este momento, esgotam-se todos os mecanismos de compensação e aí sim, o feto entra em insuficiência cardíaca.

Persistem ainda algumas dúvidas: No momento em que instala a hidropisia, há a redução do débito cardíaco. Desta forma, os índices ecográficos e dopplerfluxométricos (DBVE, ICF e PVS da ACM) deveriam retornar aos valores de normalidade. Depois desta “falsa normalidade”, com a falência destes mecanismos de compensação, culminaria com o óbito fetal. Semelhantemente ao que ocorre nos casos de crescimento intrauterino restrito (CIUR) grave onde o feto após centralização de fluxo, os valores do Doppler da ACM retornam aos valores anteriores de alta resistência, não significando melhora da gravidade e sim, falência nos mecanismos de compensação levando o feto ao óbito (ARDUINI, RIZZO, ROMANINI, 1995).

Poderíamos buscar após o óbito fetal em avaliação anatomopatológica, a presença de lesão isquêmica miocárdica mostrando que seria um processo vinculado ao óbito e não advindo dos mecanismos de compensação pela anemia grave.

É importante considerar, entretanto, que outros processos metabólicos e hemodinâmicos na anemia fetal crônica podem estar envolvidos na gênese da

hidropisia, mecanismos estes, que podem falsear os métodos de diagnóstico, tanto não invasivos quanto bioquímicos. São necessários, entretanto outros estudos para melhor compreensão dos mecanismos fisiopatológicos desenvolvidos pelo feto anêmico, como forma de sinalizar seu comprometimento, diante dos sofrimentos intraútero.

7 CONCLUSÃO

A Troponina I Cardíaca não foi identificada nas nossas amostras de fetos de gestantes aloimunizadas pelo fator Rh sugerindo não haver lesão miocárdica isquêmica nos fetos analisados.

8 REFERÊNCIAS

ALAN, H.B. WU. *et al.*, Characterization of cardiac troponin subunit release into serum after acute myocardial infarction and comparison of assays for troponin T and I. **Clinical Chemistry**, v.44, n. 6, p. 1198-1208, Jun. 1998.

ALEXANDRE, S.M. *et al.*, Cord blood cardiac troponin I, fetal Doppler velocimetry, and acid base status at birth. **Int J Gynaecol Obstet.**, v.100, n.2, p.136-140, Feb. 2008.

ALPERT, J.; THYGESEN, K. for the Joint European Society of Cardiology/ American College of Cardiology Committee. Myocardial infarction redefined - a consensus document of the Joint European Society of Cardiology/ American College of Cardiology Committee for the Redefinition of Myocardial Infarction. **J Am Coll Cardiol**, v.36, p.959 – 969, 2000.

ALPERT, J.S. *et al.*, Myocardial Infarction Redefined – A Consensus Document of The Joint European Society of Cardiology/ American College of Cardiology Committee for the Redefinition of Myocardial Infarction. **J Am Coll Cardiol**, v. 36, n. 3, p. 959-969, Sept. 2000.

ANDRADE, T. S. **Correlação entre índice cardiofemural e o déficit de hemoglobina em fetos de gestantes isoimunizadas**. 2007. Tese de mestrado em ginecologia e obstetrícia Universidade Federal de Minas Gerais, 2007. 68f.

APOCALYPSE, I.G.M. **Desenvolvimento de um escore de exames não invasivos para predição da anemia fetal**. 2003. Tese (Doutorado em Ginecologia e Obstetrícia). Faculdade de Medicina da Universidade Federal de Minas Gerais. Belo Horizonte, 2003.141f.

BAHADO-SINGH, R. *et al.*, A new splenic artery Doppler velocimetric index for prediction of severe fetal anaemia associated with Rh alloimmunization. **American Journal of Obstetrics and Gynecology**, St. Louis, v. 180, n. 1, p. 49-54, Jan. 1999.

BAHADO-SINGH, R. *et al.*, Fetal splenic size in anaemia due to Rh-alloimmunized pregnancies. **Obstetrics & Gynecology**, New York, v. 92, n. 5, p. 828-832, Nov.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. **American Journal of Obstetrics and Gynecology**, St. Louis, v.183,n.3, p. 746-751, Sep. 2000b.

BAHADO-SINGH, R.O. *et al.*, Splenic artery doppler peak systolic velocity predicts severe fetal anemia in Rhesus disease. **American Journal of Obstetrics and Gynecology**, St. Louis, v. 182, n. 5, p. 1222-1226, May 2000a.

BARCELOS, T.B. **Avaliação do índice ecográfico do diâmetro externo biventricular sobre o comprimento do fêmur (DBVE/CF) na predição da anemia fetal em gestantes isoimunizadas.** 2003. Dissertação (Mestrado em Ginecologia e Obstetrícia) _ Faculdade de Medicina, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2003.

BASCHAT A.A. *et al.* Coronary art blood flow visualization signifies hemodynamic deterioration in growth-restricted fetuses. **Ultrasound Obstet Gynecol**, v.16, n.5, p.425-431, 2000.

BAUM, H. *et al.*, Reference values for cardiac troponins T and I in healthy neonates. **Clin Biochem**, v.37, p.1079-1082, 2004.

BHAVSAR, P.K. *et al.*, Developmental expression of troponina I isoformas in fetal human heart. **FEBS Lett**, v. 292, p.5-8, 1991.

BIGRAS, J.L. *et al.*, Cardiovascular Evaluation of fetal anemia due to Alloimmunization. **Fetal Diagn Ther**, v.24, p. 197-202, Aug. 2008.

BILARDO, C.M.; CAMPBELL, S; NICOLAIDES, K.H. Mean blood velocities and flow impedance in the fetal descending aorta and common carotid artery in normal pregnancy. **Early Human Development**, Amsterdam, v. 18, n. 2-3, p. 213-221, Dec. 1989.

BOWMAN, J.M. Hemolytic disease. *In*: CREASY R.K.; RESNIK, R. editors. **Maternal-fetal Medicine: principles and practice**. 5ed. Philadelphia: W.B.Saunders; p. 537-576, 2004.

BOWMAN, J.M.; POLLOCK, J.M.; PENSTON, L.E. Fetomaternal transplacental hemorrhage during pregnancy and after delivery. **Vox Sanguinis**, Basel, v. 51, n.2, p. 117-121, Feb. 1986.

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

CABRAL, A.C.V. *et al.*, Índice cárdio-femoral para avaliação da anemia de fetos de gestantes isoimunizadas. **Revista Brasileira de Ginecologia e Obstetrícia**, Rio de Janeiro, v. 27, n. 8, p. 450-455, Ago. 2005.

CABRAL, A.C.V. *et al.*, Isoimunização materna e doença hemolítica perinatal: realidade e perspectivas. **J Bras Ginecol**, Rio de Janeiro, v. 108, n.6, p.181-185, Jun 1998.

CABRAL, A.C.V. Isoimunização materno-fetal. *In*: _____. **Medicina Fetal. O feto como paciente**. (1ed.) Belo Horizonte: Coopmed Editora Médica, cap. 22, p.153-162, 2005.

CABRAL, A.C.V; PEREIRA A.K. Isoimunização materna pelo fator Rh. *In* _____. **Fundamentos e prática em Obstetrícia**. São Paulo: Ed.Atheneu, 2009b. p.367-372.

CHAIWORAPONGSA, T. *et al.*, Subclinical myocardial injury in small-for-gestational-age neonates. **J Mater Fetal Neonatal Med**, v.11, n.6, p.385-390, 2004.

CHERIF-ZAHAR, B. *et al.*, Localization of the human Rh blood group gene structure to chromosome region 1p34.3-1p36.1 by in situ hybridization. **Human Genetics**, New York, v. 86, n. 4, p. 398-400, Feb. 1991.

CLARK, S.J. *et.al.*, Cardiac troponina T in cord blood. **Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed**, v.84, n.1, p. F34-F7, 2001.

CLERICO, A. *et al.*, Distribution of plasma cardiac troponina I values in healthy subjects: pathophysiological considerations. **Clin Chem Lab Med**, v.46, n.6, p.804-808, Mar. 2008.

COLLINSON, P.O.; BOA, F.G.; GAZE, D.C. Measurement of cardiac troponins. **Ann Clin Biochem**, v. 38, p.423-449, May. 2001.

CONTRERAS, M.; SILVA, M. The prevention and management of hemolytic disease of the newborn. **Journal of the Royal Society of Medicine**, London, v.87, p. 256-258, May 1994.

COPEL, J.A. *et al.*, Fetal cardiac output in the isoimmunized pregnancy; a pulsed Doppler-echocardiography study of patients undergoing intra-vascular transfusion. **American Journal of Obstetrics and Gynecology**, St. Louis, v. 161, n. 2, p. 361-5, Aug. 1989.

CUMMINS, B; AUCKLAND, M.L.; CUMMINS P. Cardiac – specific troponina-I radioimmunoassay in the diagnosis of acute myocardial infarction. **Am Heart J**, v.113, n.6, p. 1333-1344, Jun. 1987.

CUMMINS, P.; MCGURK, B.;LITTER,W.A. Possible diagnostic use of cardiac specific contractile proteins in assessing cardiac damage. **Clin Sci**, v.56, p.30, 1979.

DAFFOS, F.; CAPELLA-PAVLOVSKY, M.; FORESTIER, F. A new procedure for fetal blood sampling in utero: Preliminary results of fifty-three cases. **American Journal of Obstetrics and Gynecology**, St. Louis, v. 146, n. 8, p. 985-987, Aug.1983.

DAVIS, L.E. *et al.*, Right ventricular function in chronically anemic fetal lambs. **American Journal of Obstetrics Gynecology**, St. Louis, v. 174, n. 4, p. 1289-1294, Apr. 1996.

DE GROOT, C.J.M. *et al.*, Evidence of endothelium involvement in pathophysiology of hydrops fetalis? **Early Human Development**, Amsterdam, v. 57, n. 3, p. 205-209, Mar. 2000.

DE VORE, G.R. *et al.*, Hypoalbuminemia: the etiology of antenatally diagnosed pericardial effusion in rhesus-hemolytic anemia. **American Journal of Obstetrics and Gynecology**, St. Louis, v. 142, n. 8, p. 1056-1057, Apr. 1982b.

DUKLER, D. *et al.*, Noninvasive tests to predict fetal anemia: a study comparing Doppler and ultrasound parameters. **American Journal of Obstetrics and Gynecology**, St. Louis, v. 188, n. 5, p. 1310-1314, May 2003.

ENGIN, Y.; USTUN, Y.; KURTAY, G. Cardiac troponina levels in umbilical cord blood. **Int J Gynaecol Obstet**, v.77, n.3, p.239-241, 2002.

FAN, F.C. *et al.*, Effects of hematocrit variations on regional hemodynamics and oxygen transport in the dog. **Am J Physiology**, Bethesda, v.238, n.4, p.H545–H552, Apr. 1980.

FERREIRA, A. L. *et al.*, Relationship between cardiofemoral Index and the plasma concentration of brain natriuretic peptide in anemic fetuses associated with Rh alloimmunization. **Arch. Gynecol. Obstet.**, v. 279, n. 3, p. 335-339, Mar. 2009.

FERREIRA, A.L. **Relação entre a concentração plasmática do peptídeo atriurético tipo b, índice cardiofemoral e equilíbrio ácido-básico em fetos de gestantes isoimunizadas.** 2008. Tese (Doutorado em Ginecologia e Obstetrícia). Faculdade de Medicina da Universidade Federal de Minas Gerais. Belo Horizonte, 2000. 83f.

FLEMING, S.M. *et al.*, Cardiac troponina I and N-terminal pro-brain natriuretic peptide in umbilical artery blood in relation to fetal heart rate abnormalities during labor. **Pediatr Cardiol**, v.22, n.5, p.393-396, 2001.

FORESTIER, F. *et.al.*, Developmental hematopoiesis in normal human fetal blood. **Blood**, New york, v.77, n.11, p.2360-2363, Jun 1991.

FUMIA, F.D.; EDELSTONE, D.I.; HOLZMAN, I.R. Blood flow and oxygen delivery to fetal organs as functions of fetal hematocrit. **American Journal of Obstetrics and Gynecology**, St. Louis, v. 150, n. 3, p. 274–282, Oct. 1984.

GODOY, M.F. *et al.*, A troponina como Marcador de Injúria Celular Miocárdica. **Arq Bras Cardiol**, v. 71, n. 4, p. 629-633, 1998.

GOLDINFELD, M. *et al.*, Evaluation of fetal cardiac contractility by two-dimensional ultrasonography. **Prenat Diagn**, v.10, p.799-803, 2000.

GREASER M.L.; GERGELY, J. Purification and properties of the components from troponina. **J Biol Chem**, v.248, p.2125-2133, Jun. 1973.

HADLOCK, F.P. *et al.*, Fetal biparietal diameter: A critical reevaluation of the relation to menstrual age by means of real-time ultrasound. **Journal of Ultrasound Medicine**, New York, v. 1, n. 3, p. 97- 104, Ap. 1982.

HAMM, C.W.; KATUS, H.A. New biochemical markers for myocardial cell injury. **Curr Opin Cardiol**, v.10, p. 355-360, 1995.

HANAN, M.Z. **Correlações entre medidas ultra-sonográficas do coração e o deficit de hemoglobina em fetos de gestantes isoimunizadas.** 2007. Tese (Doutorado em ginecologia e obstetrícia) Universidade Federal de Minas Gerais, 2007. 157f.

HARRINGTON, K.; FAYYAD, A.; NICOLAIDES, K.H. Predicting the severity of fetal anemia using time-domain measurement of volume flow in the fetal aorta. **Ultrasound in Obstetrics & Gynecology**, Carnforth, v. 23, n. 5, p. 437-441, May 2004.

HARRINGTON, K.; HECHER, K; CAMPBELL, S. The fetal haemodynamic response to hypoxia. *In*: HARRINGTON, K.; CAMPBELL, S.(editors). **A color atlas of Doppler ultrasonography in obstetrics.** 1st ed. London: Edward Arnold; p.81-94,1995.

HUHTA, J.C.; WEIL-CHALTER, S.; PAGOTTO, L.T. Fetal congestive heart failure. *In*: ALLAN, L.; HORNBERGER, L.; SHARLAND, G. (Eds.). **Textbook of Fetal Cardiology.** (1st ed.) London: Greenwich Medical Limited, cap. 25, p. 565-575, 2000.

JUNQUEIRA, L.C; CARNEIRO, J. Tecido muscular. *In*: Junqueira LC, Carneiro J, editores. **Histologia Básica.** 9ªed. Rio de Janeiro: **Guanabara Koogan**; p. 159-191, 1999.

KATUS,H.A. *et al.*, Enzyme linked immune assay of cardiac troponin T for the detection of acute myocardial infarction in patients. **J Mol Cardiol**, v. 21, p.1349-1353, Dec.1989.

KIRKINEN, P.; JOUPPILA, P.; EIK-NES, S. Umbelical vein flow in hesusisoimmunization. **British Journal of Obstetrics and Gynaecology**, London, v.90, n. 7, p. 640-643, Jul. 1983.

KIRKINEN, P.; JOUPPILA, P.; EIK-NES, S. Umbilical venous flow as indicator of fetal anaemia. **Lancet**, London, v. 317, n. 8227, p. 1004-1005, May, 1981.

KIRSCHBAUM, T.H.; BRINKMAN, C.R.; ASSALI, N.S. Effects of maternal-fetal blood exchange transfusion in fetal lambs. **American Journal of Obstetrics Gynecology**, St. Louis, v. 110, n. 2, p. 190-202, May 1971.

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

LAGE, M. L. **Estudo das alterações hemodinâmicas dos fetos nas gestações isoimunizadas.** 2004. Tese (Doutorado em Ginecologia e Obstetrícia) - Faculdade de Medicina, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2004. 120f.

LILEY, A.W. Intrauterine transfusion of fetus with hemolytic disease. **Br Med J**, v.2 , p.1107-1109, 1963.

LILEY, A.W. Liquor amnii analysis in the management pregnancy complicated by rhesus sensitization. **American Journal of Obstetrics and Gynecology**, St.Louis, v. 82, n. 6, p. 1359-1370, Dec. 1961.

LIMA, M.I. M. **Cardiotocografia no acompanhamento de gestantes complicadas pela isoimunização materna pelo fator Rh.** 1986. Dissertação (Mestrado em Ginecologia e Obstetrícia). Faculdade de Medicina da Universidade federal de Minas Gerais. Belo Horizonte. 1986. 101f.

LINGMAN, G. *et al.*, Miocardial contractility in the anemic human fetus. **Ultrasound in Obstetrics and Gynecology**. Carnforth, v. 1, n. 4, p. 266-268, Jul. 1991.

LOPES, A. P. B.M. **Avaliação de índices dopplerfluxométricos da veia cava inferior e do ducto venoso em fetos submetidos à transfusão intravascular.** 2001. Tese (doutorado em Ginecologia e Obstetrícia). Faculdade de Medicina da Universidade federal de Minas Gerais. Belo Horizonte. 2001. 159f.

LYSIKLEWICZ, A.; BRACERO, L.A.; TELANI, N. Fetal preload index predicts fetal hematocrit. **American Journal of Obstetrics and Gynecology**, St. Louis, v. 168, n.1, SPO Abstracts, p. 356, Jan. 1993.

MANNING F.A. (Editors). **Medicina fetal: perfil biofísico-princípios e aplicabilidade clínica.** Rio de Janeiro: Revinter; p. 391-445, 2000.

MARI, G. *et al.*, Flow velocity waveforms of the vascular system in the anemic fetus before and after intravascular transfusion for severe red blood cell alloimmunization. **Am J Obstet Gynecol**, v.162, p.1060-4, 1990.

MARI, G. The Collaborative Group for Doppler Assessment of the Blood Velocity in Anemic Fetuses. Noninvasive diagnosis by Doppler ultrasonography of fetal anemia due to maternal red-cell alloimmunization. **New England Journal of Medicine**, Waltham, v. 342, n. 1, p. 9-14, Jan. 2000.

MARTIN, J.A. *et al.*, Birth: Final data for 2001. **National Vital Statistics Reports**, Hayttsville, n. 5, v. 51, p. 1-102, Feb. 2002.

MCAULIFFE, F. *et.al.*, Fetal cardiac troponin I in relation to intrapartum events and umbilical artery pH. **Am J Perinatol**, v.21, n.3, p.147-152, 2004.

MELO, I.G. **Cardiotocografia anteparto em fetos de gestantes isoimunizadas.** 2000. Dissertação (Mestrado em Ginecologia e Obstetrícia). Faculdade de Medicina da Universidade Federal de Minas Gerais. Belo Horizonte, 2000. 136f.

MOISE JR., K.J. *et al.*, Acute fetal hemodynamic alterations after intrauterine transfusion for treatment of severe red blood cell alloimmunization. **American Journal of Obstetrics and Gynecology**, St. Louis, v. 163, n. 3, p. 776-784, Sept. 1990.

MOISE JR., K.J. Management of Rhesus Alloimmunization in Pregnancy. **Obstetrics & Gynecology**, New York, v. 112, n. 1, p. 164-176, July 2008.

MOISE JR., K.J. Red Blood Cell Alloimmunization in Pregnancy. **Seminars in Hematology**, Orlando, v.42, n.3, p. 169-178, Jul. 2005.

MOISE, K. J. J. Management of rhesus alloimmunization in pregnancy. **Obstet. Gynecol.**, v. 100, n. 3, p. 600-611, set. 2002.

MORROW, D.A. *et al.*, Clinic efficacy of three assays for cardiac troponina I for risk stratification in acute coronary syndromes: A thrombolysis in myocardial infarction (TIMI) 11B substudy. **Clinical Chemistry**, v.46, n. 4, p.453-460, Apr. 2000.

NICOLAIDES, K.H. *et al.*, Erythroblastosis and reticulocytosis in anemic fetuses **American Journal of Obstetrics and Gynecology**, St. Louis, v. 159, n. 5, p.1063-1065, Nov. 1988c.

NICOLAIDES, K.H. *et al.*, Failure of ultrasonographic parameters to predict the severity of fetal anemia in rhesus isoimmunization. **American Journal of Obstetrics and Gynecology**, St. Louis, v. 158, n. 4, p. 920-926, Apr. 1988a

NICOLAIDES, K.H. *et al.*, Fetal haematology in *Rhesus* isoimmunization. **British Medical Journal**, Edinburgh, v. 290, n. 2, p. 661-671, March, 1985.

NICOLAIDES, K.H. *et al.*, Fetal haemoglobin measurement in the assessment of red cell isoimmunization. **The Lancet**, London, v. 331, n. 8594, p. 1073-1075, May 1988b.

NICOLAIDES, K.H. *et al.*, Rh disease: Intravascular fetal blood transfusion by cordocentesis. **Fetal Therapy**, Basel, v. 1, n. 4, p. 185-192, 1986a. NICOLAIDES, K.H. *et al.* Have Liley charts outlived their usefulness? **American Journal of Obstetrics and Gynecology**, St. Louis, v. 155, n. 1, p. 90-94, Jul. 1986b.

NICOLAIDES, K.H. Studies on fetal physiology and pathophysiology in Rhesus Disease. **Seminars in Perinatology**, New York, v. 13, n. 4, p. 328-337, Aug.1989.

NICOLAIDES, K.H., BILARDO, C.M.; CAMPBELL, S. Prediction of fetal anemia by measurement of the mean blood velocity in the fetal aorta. **American Journal of Obstetrics and Gynecology**, St. Louis, v. 162, n. 1, p. 209-212, Jan. 1990.

NICOLAIDES, K.H., SADOWSKY G., CETIN E. Fetal heart rate patterns in red blood cell isoimmunized pregnancies. **American Journal of Obstetrics and Gynecology**, St. Louis, v. 161, n. 2, p. 351-356, Aug. 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. **American Journal of Obstetrics and Gynecology**, St. Louis, v. 152, n. 3, p. 341-344, Jun. 1985.

OEPKES, D. *et al.*, Fetal ductus venosus blood flow velocities before and after transfusion in red-cell alloimmunized pregnancies. **Obstetrics & Gynecology**, New York, v. 82, n. 2, p. 237-241, Aug., 1993b.

OEPKES, D. *et al.*, For the Diamond Study Group. Doppler ultrasonography *versus* amniocentesis to predict fetal anemia. **New England Journal of Medicine**, Waltham, v. 355, n. 2, p. 156-164, Jul. 2006.

OEPKES, D. *et al.*, The use of ultrasonography and Doppler in the prediction of fetal haemolytic anaemia: A multivariate analysis. **British Journal of Obstetrics and Gynaecology**, London, v. 101, n. 8, p. 680-684, Aug. 1994.

OSANAN, G.C. **Análise multivariada dos fatores determinantes da mortalidade perinatal de fetos submetidos à transfusão sanguínea intraútero por anemia decorrente da isoimunização materna.** 2010. Dissertação (Mestrado em Ginecologia e Obstetrícia). Faculdade de Medicina da Universidade Federal de Minas Gerais. Belo Horizonte, 2000. 62f.

PASMAN, S.A. *et al.*, Hypoalbuminemia: A cause of fetal hydrops? **American Journal of Obstetrics and Gynecology**, St. Louis, v. 194, n. 4, p. 972-975, Apr. 2006.

PEETERS, L.L. *et al.*, Blood flow to fetal organs as a function of arterial oxygen content. **Am J Obstet Gynecol**, St. Louis, v.135, n.5, p.637-646, Nov 1979.

PLATT, L. D.; DE VORE, G. R. In utero diagnosis of hydrops fetalis: ultrasound methods. **Clinics in Perinatology**, Philadelphia, v. 9, n. 3, p. 627- 636, Oct. 1982.

RIGHTMIRE, D.A. *et al.*, Fetal blood velocities in rh isoimmunization: relationship to gestational age and to fetal hematocrit. **Obstetrics & Gynecology**, New York, v. 68, n. 2, p. 233-236, Aug. 1986.

RIZZO, G. *et al.*, Effects of intravascular fetal blood transfusion on fetal intracardiac Doppler velocity waveforms. **American Journal of Obstetrics and Gynecology**, St. Louis, v. 163, n. 4/P1, p. 1231-1238, Oct. 1990.

RIZZO, G.; ARDUINI, D.; ROMANINI, C. Fetal cardiac function in anemia. *In:_____*. ARDUINI, D.; RIZZO, G.; ROMANINI, C. (Editors). **Fetal cardiac function.** (1st ed.) New York and London: The Parthenon Publishing Group Limited, cap. 9, p. 103-108, 1995.

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]

RODRIGUES, R. L. M. *et al.*, Avaliar a correlação entre a concentração da hemoglobina e a medida ecográfica do diâmetro biventricular externo em fetos anêmicos de gestantes isoimunizadas. **Arq. Bras. Cardiol.**, v. 84, n. 5, p. 393-396, maio 2005.

RODRIGUES, R.L.M. **Correlação entre a concentração da hemoglobina e a medida ecográfica do diâmetro biventricular externo em fetos anêmicos de gestantes isoimunizadas**. 2002. Dissertação (Mestrado em Ginecologia e Obstetrícia). Faculdade de Medicina da Universidade Federal de Minas Gerais. Belo Horizonte. 2002, 77f.

SANTOS, L.C. *et al.* Doença hemolítica perinatal (DHPN). *In:_____*. **Obstetrícia – Diagnóstico e Tratamento**. Rio de Janeiro: MEDSI, cap. 37, p. 399-408, 1998.

SARKO, J.; POLLACK, Jr.C.V. Cardiac troponins **J Emerg Med**, v.23, p.57-65, Jan. 2002.

SASSE, S. *et.al.*, Troponin I gene expression during human cardiac development and in end-stage heart failure. **Cir Res**, v.72, n.5, p.932-938, 1993.

SOOTHILL, P.W. *et al.*, Relationship of fetal hemoglobin and oxygen content to lactate concentration in Rh isoimmunized pregnancies. **Obstet Gynecol**, New York, v.69, n.2, p.268-271, Feb 1987.

SPONG, C.; PORTER, A.; QUEENAN, J. Management of isoimmunization in the presence of multiple maternal antibodies. **American Journal of Obstetrics and Gynecology**, St. Louis, vol. 185, n. 2, p. 481-484, Aug. 2001.

TAVEIRA, M.R. **Correlação entre os achados do doppler da veia cava inferior e do ducto venoso e a concentração de hemoglobina de cordão em fetos de gestantes imunizadas**. 2001. Tese (doutorado em Medicina) Faculdade de Medicina, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte. 2001.108 f.

TONGSONG, T; *et al.*, Fetal Ventricular Shortening Fraction in Hydrops Fetalis. **Obstet Gynecol**, v.117, n.1, p. 84-91, Jan. 2011.

TREVISANUTO, D. *et.al.*, Cardiac troponin I at birth is of fetal-neonatal origin. **Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed.**, v.94, n.6, p.464-466, Nov 2009.

TREVISANUTO, D. *et.al.* Cardiac troponin I in asphyxiated neonates. **Biol. Neonate**, v.89, n.3, p.190-193, 2006.

TREVISANUTO, D. *et.al.*, Cardiac troponin I, cardiac troponin T and creatine Kinase MB concentrations in umbilical cord blood of healthy term neonates. **Acta Pediatr**, v.92, n.12, p.1463-1467, 2003.

- TURKER, G. *et al.*, Early prognostic significance of umbilical cord troponin I in critically ill newborns. Prospective study with a control group. **J Perinat Med**, v.33, n.1, p.54-59, 2005.
- TURKER, G. *et al.*, The effect of blood gas and Apgar score on cord blood cardiac troponin I. **J Mater Fetal Neonatal Med**, v.16, n.5, p.315-319, 2004.
- TURKER, G. *et al.*, Cord blood cardiac troponin I as an early predictor of short – term outcome in perinatal hypoxia. **Biol Neonate**, v.86, n.2, p.131-137, 2004.
- VAN KAMP, I.L. *et al.*, The severity of immune fetal hydrops is predictive of fetal outcome after intrauterine treatment. **American Journal of Obstetrics and Gynecology**, St. Louis, vol. 185, n. 3, p. 668- 673, Sept. 2001.
- VINTZILEOS, A.M. *et al.* Fetal liver ultrasound measurements in isoimmunized pregnancies. **Obstetrics & Gynecology**, New York, v. 68, n. 2, p. 162-167, Aug.1986.
- VISSER, G.H.A.; DESMEDT, M.C.H.; MEIJBOOM, E.J. Altered fetal cardiac flow patterns in pure red cell anaemia (the Blackfan-Diamond syndrome). **Prenatal Diagnosis**, Chichester, v. 8, n. 7, p. 525-529, Sept. 1988.
- VITTORINI, S.; CLERICO, A. Cardiovascular biomarkers: increasing impact of laboratory medicine in cardiology practice. **Clin Chem Lab Med**, v. 46, n.6, p. 748-763, Mar. 2008.
- VYAS, S.; NICOLAIDES, K. H.; CAMPBELL, S. Doppler examination of the middle cerebral artery in anaemic fetuses. **American Journal of Obstetrics and Gynecology**, St. Louis, v. 162, n. 4, p. 1066-1068, Apr. 1990.
- WEINER, C.P.; SMITH, F.; ROBILLARD, J.E. Arginine vasopressin (AVP) and acute, intravascular volume expansion in the human fetus. **Fetal Therapy**, Basel, v. 4, p. 69-72, 1989.
- WEINER, S.; BOLOGNESE, R. J.; LIBRIZZI, R.J. Ultrasound in the evaluation and management of the isoimmunized pregnancy. **Journal of Clinical Ultrasound**, New York, v. 9, n. 6, p. 315-323, Jul.- Aug. 1981.
- WEINER, S.; BOLOGNESE, R. J.; LIBRIZZI, R.J. Ultrasound in the evaluation and management of the isoimmunized pregnancy. **Journal of Clinical Ultrasound**, New York, v. 9, n. 6, p. 315-323, Jul.- Aug. 1981.
- WU, A.H. *et al.*, National Academy of Clinical Biochemistry Standards of Laboratory Practice: recommendations for the use of cardiac markers in coronary artery diseases. **Clin Chem**, v.45, p. 1104-1121, Jul. 1999.

9 ANEXO



ANEXO A

PROTOCOLO DE ACOMPANHAMENTO DAS GESTAÇÕES ALOIMUNIZADAS NO CEMEFE-HC-UFMG -2011.

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 /ou 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 de alto risco para 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 02 títulos, alterações no PVS-ACM e/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 PVS - ACM e/ou ICF alterados. Determinar hemoglobina e grupo sanguíneo fetal.
8. TIU realizada até 34 semanas quando o déficit de hemoglobina fetal for > 5 g/dL.
9. Interrupção da gestação dos fetos transfundidos: 34 semanas.

10. Interrupção de gestação dos fetos não transfundidos: 37-38 semanas. Se houver alteração do ICF e/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.

ANEXO B – TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO



Estudo da Troponina I cardíaca como marcador bioquímico de lesão miocárdica isquêmica em fetos de gestantes aloimunizadas pelo fator Rh

Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE)

- 1- A aloimunização materna é uma doença grave da gestação em que o feto se encontra com anemia causada pela destruição dos glóbulos vermelhos de seu sangue, colocando em risco sua sobrevivência.
- 2- O tratamento até o momento se baseia na injeção de sangue pelo cordão umbilical (transfusão intrauterina) como forma de repor o sangue destruído pelos “anticorpos” existentes no sangue da mãe.
- 3- Entretanto, alguns fetos submetidos a este tratamento não apresentam a melhora esperada. Os motivos porque isto acontece não são totalmente conhecidos.
- 4- Portanto, a Maternidade do Hospital das Clínicas da UFMG está realizando um estudo para tentar identificar os fatores relacionados com este mal resultado destes bebês.
- 5- Esta pesquisa não traz nenhum risco para a saúde da mãe ou para o seu bebê, já que não interferirá no tratamento e/ou acompanhamento dos dois. Além disso, a sua participação nesta pesquisa pode ajudar para melhorar o tratamento e o acompanhamento das gestações complicadas pela aloimunização materna.
- 6- Eu,, portadora de documento de identidade nº, expedido pela, estou ciente do que foi exposto acima e autorizo a coleta de dados sobre minha gestação e sobre meu filho para realização desta pesquisa. Assim, participo de forma voluntária deste estudo após esclarecimento satisfatório sobre como ele será realizado, não apresentando dúvidas a respeito desta pesquisa.

Belo Horizonte, de de

assinatura da paciente

Telefone para contato: 031 3409422
Maternidade Hospital das Clínicas da UFMG