

GUARACI SILVEIRA GARCIA

Elaboração de uma Curva de Marcadores
Bioquímicos para Rastreamento Pré-Natal
de Anomalias de Desenvolvimento em uma
População Brasileira

1910000970



GUARACI SILVEIRA GARCIA

**ELABORAÇÃO DE UMA CURVA DE MARCADORES
BIOQUÍMICOS PARA RASTREAMENTO PRÉ-NATAL
DE ANOMALIAS DE DESENVOLVIMENTO EM UMA
POPULAÇÃO BRASILEIRA**



T970/01

Dissertação apresentada para
obtenção do Grau de Mestre em
Ciências Biológicas-Genética

São José do Rio Preto - SP
2000

Dedicatória

Orientador : Prof^a. Dr^a. Eloiza Helena Tajara da Silva



Dedico este trabalho:

*A minha esposa, Roseana, e os meus filhos, Ricardo e Eduardo, que com
carinho souberam ser pacientes e compreensivos em todos os momentos.*

*E a minha família, Conrado (in memoriam), Luiza, Ubiratan, Ubirajara, Caio e
Araguaí pelo constante incentivo proporcionado.*

Dedicatória

Dedico este trabalho:

A minha esposa, Roselena, aos meus filhos, Ricardo e Eduardo, que com carinho souberam ser pacientes e compreensivos em todos os momentos.

E a minha família, Conrado (in memorian), Luiza, Ubiratan, Ubirajara, Caiubi e Araguaí pelo constante incentivo proporcionado.

Agradecimentos



Meus sinceros agradecimentos para

Minha orientadora, Profa. Drª. Eliza Helena Tejera da Silva, pela orientação dedicada e ensinamentos que tornaram possível este momento.

Todos os docentes do departamento de Biologia e Matemática, em especial aos das disciplinas de Genética e Estatística, que direta ou indiretamente puderam contribuir com minha inserção no trabalho científico.

Agradecimentos

Meus sinceros agradecimentos para:

*A máxima da Genética é que os papéis são iguais
pertencemos diferem uns dos outros ... não sou superior nem inferior a ninguém;
sou diferente de todos; quanto maior for a diferença entre mim e meu próximo,
mais coisas faremos e aprender um do outro.*

*Esta não é uma afirmação dada pela rival, é a lição fundamental da
Genética.*

Albert Jacquart

*Minha orientadora, Prof^ª. Dr^ª. Eloiza Helena Tajara da Silva, pela orientação
dedicada e ensinamentos que tornaram possível este momento.*

*Todos os docentes do departamento de Biologia e Matemática, em especial
aos das disciplinas de Genética e Estatística, que direta ou indiretamente puderam
contribuir com minha iniciação no trabalho científico.*

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO 01

A. Diagnóstico pré-natal 02

A1. Tipos de métodos de diagnóstico genético pré-natal 03

A2. Frequência de alterações cromossômicas em recém-nascidos 04

A3. Frequência de defeitos do tubo neural em recém-nascidos 05

"A principal lição que se pode tirar da Genética é que os grupos aos quais pertencemos diferem uns dos outros...: não sou superior nem inferior a ninguém; sou diferente de todos; quanto maior for a diferença entre mim e meu próximo, mais coisas teremos a oferecer um ao outro.

Esta não é uma afirmação ditada pela moral; é a lição fundamental da Genética..."

Albert Jacquard

C. Dados sobre a detecção de defeitos de fechamento do tubo neural 14

C1. Defeitos do fechamento do tubo neural 16

C2. Alterações cromossômicas 17

D. Fundamentos do limite inferior de idade mínima para realização de diagnóstico genético pré-natal 20

2 OBJETIVO 23

3 MATERIAL E MÉTODOS 25

3.1. Casos 26

3.2. Material e métodos 26

Alfa-fetoproteína no soro materno (AFP) 27

Desfosfo de gonadotrofina coriônica (CG) 28

Doença do tubo neural (DTN) 29

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	01
A. Diagnóstico pré-natal	02
A1. Tipos de anomalias de desenvolvimento diagnosticáveis por exame pré-natal	03
A2. Frequência de aberrações cromossômicas em recém nascidos	04
A3. Frequência de defeitos do tubo neural em recém nascidos	05
B. Métodos de rastreamento de anomalias do desenvolvimento	09
B1. Idade materna	09
B2. Marcadores sonográficos	09
B3. Marcadores bioquímicos	13
C. Dados sobre a detecção de defeitos de fechamento do tubo neural e aberrações cromossômicas	16
C1. Defeitos de fechamento do tubo neural	16
C2. Aberrações cromossômicas	17
D. Estabelecimento do limite inferior de idade materna para realização de procedimentos invasivos de diagnóstico pré-natal	20
2. OBJETIVO	23
3. MATERIAL E MÉTODOS	25
3.A. Casuística	26
3.B. Material e métodos	26
Alfa-fetoproteína no soro materno (AFP)	27
Dosagem de gonadotrofina coriônica (hCG)	28
Dosagem do estriol livre (uE3)	29



Análise estatística	30
4. RESULTADOS	31
5. DISCUSSÃO	47
6. CONCLUSÕES	55
7. RESUMO	57
8. ABSTRACT	60
9. APÊNDICE	62
10. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	81

1. Introdução



1. INTRODUÇÃO

1

A. Diagnóstico Pré-Natal

Com o recente progresso em técnicas para análise de material genético, tornou-se possível a realização de diagnósticos de doenças genéticas ainda no período intra-útero fetal, antes das manifestações clínicas, que apresentem prevalências elevadas. O primeiro relato de diagnóstico pré-natal, relacionado com doença genética, surgiu em 1966, quando Steele e Breg descreveram a constatação cromossômica de um feto por análise de células cultivadas do líquido amniótico (Steele e Breg, 1966). Atualmente, essa área de atividade tem sido considerada uma verdadeira especialidade e é respondida por um grande número de publicações científicas. A metodologia empregada é sofisticada e exige aparelhagem de ultra-sonografia, além de infraestrutura e profissionais especializados, formando um grupo multidisciplinar. Os objetivos são amplos e relacionados com a detecção de várias alterações, não se restringindo apenas às doenças genéticas. No diagnóstico pré-natal a propedêutica fetal pode ser tão invasiva como a realização de ultra-sonografia, Dopplerulodimetria, cardiotocografia, perfil biofísico, dosagem bioquímica materna e biologia molecular. Os métodos propedêuticos empregados são amniocentese, coriocentese, biópsia das vilosidades coriônicas, amniocentese, coriocentese, biópsia de pele, biópsia hepática, punção venosa do feto e punção do líquido amniótico e formação de células. O entendimento dos procedimentos realizados, bem

1. Introdução

como práticos, específicos e sensíveis, é de extrema importância. Assim, antes da aplicação de exames para diagnóstico pré-natal é necessária a identificação das condições que se justifique a realização desses procedimentos que, por ser os maiores das vezes invasivos, requerem julgamento prévio de seus custos e benefícios.

1. INTRODUÇÃO

A. Diagnóstico Pré-Natal

Com o recente progresso em técnicas para análise de material genético, tornou-se possível a realização de diagnóstico de doenças genéticas ainda no período embrio-fetal, entre elas, as cromossômicas, que apresentam prevalências elevadas. O primeiro relato de diagnóstico pré-natal, relacionado com doença genética, surgiu em 1966, quando Steele e Breg detectaram a constituição cromossômica de um feto por análise de células cultivadas do líquido amniótico (Steele e Breg, 1966). Atualmente, essa área de atividades tem sido considerada uma verdadeira especialidade e é responsável por um grande número de publicações científicas. A metodologia empregada é sofisticada e exige aparelhagem de ultra-sonografia, além de laboratórios e profissionais especializados, formando um grupo multidisciplinar. Os objetivos são amplos e relacionados com a detecção de várias anomalias, não se restringindo apenas às de etiologia genética. No diagnóstico pré-natal a propedêutica fetal pode ser não invasiva com a realização de ultra-sonografia, Dopplervelocimetria, cardiotocografia, perfil biofísico, dosagens bioquímicas maternas e biologia molecular. Os métodos propedêuticos invasivos são embrioscopia, fetoscopia, biópsia das vilosidades coriônicas, amniocentese, cordocentese, biópsia de pele, biopsia hepática, punção vesical ou renal e punção de derrames serosos e formações císticas. O entendimento dos procedimentos realizados, bem como de seus riscos, valores preditivos, especificidade e sensibilidade, é de enorme importância. Assim, antes da execução de exames para diagnóstico pré-natal é necessária a identificação dos conceitos nos quais se justifique a realização desse procedimento que, por ser na maioria das vezes invasivo, requer um julgamento prévio de seus custos e benefícios.



A1. Tipos de anomalias de desenvolvimento diagnosticáveis por exame pré-natal

As anomalias no desenvolvimento embrio-fetal são representadas por **malformações**, **perturbações**, **deformações** e **displasias** (Spranger *et al.*, 1982), grande parte delas detectáveis por um simples estudo ultra-sonográfico. As **malformações** são o resultado de processos de desenvolvimento intrinsecamente anormais. Os órgãos atingidos são anormais desde o princípio da gestação e as causas são geralmente genéticas. Exemplos bem conhecidos compreendem muitas das características morfológicas típicas da síndrome de Down. As **perturbações**, ao contrário das malformações, decorrem de agentes externos. O desenvolvimento progride normalmente até que fatores externos interfiram no processo, como é o caso das embriopatias induzidas por talidomida. De forma similar, as **deformações** resultam de forças mecânicas extrínsecas. Raramente envolvem órgãos internos, mas variam desde discretos posicionamentos anômalos dos membros até grandes comprometimentos da cabeça e do tronco. As deformações são caracteristicamente assimétricas, como aquela observada em membros inferiores e ocasionada por um grande mioma uterino submucoso materno. No caso das **displasias**, que são causadas por diferenciação anormal dos tecidos, os processos extrínsecos podem estar participando, mas fatores intrínsecos, geneticamente determinados, são os responsáveis mais frequentes. A maioria das displasias decorre de mutações genéticas isoladas, como na osteogênese imperfeita (Rezende e Carakushansky, 1998).

Entre as anomalias de desenvolvimento, as malformações merecem atenção especial dentro do diagnóstico pré-natal por estarem, muitas vezes, relacionadas a fatores genéticos. Tais fatores podem participar da etiologia de diferentes doenças e são responsáveis pela sua classificação em cromossômicas, monogênicas e multifatoriais. As aberrações cromossômicas podem ser subdivididas em numéricas e estruturais. As numéricas compreendem desde euploidias, com variação no número de lotes haplóides, até aneuploidias envolvendo



diferentes cromossomos, enquanto as estruturais abrangem deficiências, translocações, inversões e duplicações de segmentos, entre outras. As doenças monogênicas, por sua vez, incluem aquelas com padrão de herança autossômico dominante, e recessivo, ligado ao X e mitocondrial. Ao contrário desses dois grupos, que são determinados apenas por fatores genéticos, as doenças multifatoriais são desencadeadas pela interação de fatores ambientais e genéticos e são bastante heterogêneas. Como exemplos, podem ser citados os defeitos do tubo neural e as malformações cardíacas (Spranger *et al.*, 1982, Schroeder *et al.*, 1996).

A seguir serão feitas algumas considerações sobre frequência e aspectos clínicos de algumas doenças cromossômicas e multifatoriais. As condições monogênicas, por constituírem um grupo bastante extenso e diagnosticáveis por exame pré-natal com técnicas que, na maioria das vezes, levam em conta características moleculares e bioquímicas muito específicas, não serão discutidas.

A2. Frequência de aberrações cromossômicas em recém-nascidos

Admite-se que 1 a 3 % dos nascimentos apresentam alguma forma de anormalidade grave (Fanaroff *et al.*, 1989), entre elas as aberrações cromossômicas. As diferentes aberrações cromossômicas apresentam frequência (prevalência) no recém-nascido muito heterogênea, sendo esse fato relacionado com o tamanho e a constituição do cromossomo alterado. Realmente, a cromossomopatia mais prevalente é a trissomia do cromossomo 21, que é o menor do genoma humano e deve conter genes que, em triplicatas, não afetam drasticamente a viabilidade do conceito. O quadro clínico nessa trissomia inclui deficiência mental, hipotonia generalizada, braquicefalia, implantação baixa de orelhas, hipoplasia da falange média do quinto dedo, prega simiesca e anomalias cardíacas, entre outras. Ao contrário, trissomias dos demais autossomos são detectadas, na maioria das vezes, em material de aborto, como as dos cromossomos 16 e 22 (Eiben *et al.*, 1990), enquanto outras são muito raramente observadas, provavelmente porque levam à perda do embrião nas



primeiras semanas do desenvolvimento (Boué *et al.*, 1985). As monossomias, do mesmo modo, são as aberrações cromossômicas mais encontradas em abortos. Entre essas, a mais prevalente é a monossomia do cromossomo X, presente em 18% dos abortos espontâneos que exibem cariótipos anormais (Boué *et al.*, 1985). No caso das aberrações estruturais, todos os cromossomos podem ser igualmente envolvidos, uma vez que são desencadeadas por quebras em pontos aleatórios do genoma levando a translocações, deleções, duplicações e inversões (Connor e Ferguson, 1993). De qualquer modo, a prevalência dessas aberrações depende do segmento envolvido e da viabilidade do fenótipo resultante.

A Tabela 1 mostra a frequência de aberrações cromossômicas numéricas e estruturais em recém-nascidos (Hook e Hamerton, 1977).

A3. Frequência de defeitos do tubo neural em recém-nascidos

Um grupo de anomalias com prevalência importante na população de recém-nascidos compreende os defeitos de fechamento do tubo neural (DFTN). Na espécie humana, a formação do tubo neural começa no 21º dia após a concepção com a junção da dobra neural do tecido ectodérmico. Essa junção ocorre inicialmente na porção média do embrião e, nos 26º e 28º dias, na porção anterior (neuróporo rostral) e na posterior (neuróporo caudal), respectivamente. Quando esse processo de fechamento não se realiza adequadamente, surgem malformações com diferentes gravidades (Moore *et al.*, 1993). O exemplo mais grave recebe o nome de crâniorraquisque, uma anomalia letal com ausência de fechamento de toda a extensão do tubo (Csabay *et al.*, 1998). Segue-se a anencefalia, na qual o defeito ocorre na porção anterior do tubo neural, estendendo-se através do forâmen magno (holocraniana) ou não (merocraniana). Em consequência ou acompanhando a malformação primária, costumam ocorrer várias alterações, como anomalias cardiovasculares e da parede abdominal, hérnias diafragmáticas, entre outras. Muitos fetos afetados são abortados espontaneamente, alguns



Tabela 1. Frequência de aberrações cromossômicas numéricas e estruturais ao nascimento segundo dados de Hook e Hamerton (1977). (RN = recém-nascidos)

Tipos	Frequência	
Aberrações cromossômicas numéricas		
Autossomos		
47,+21	1:800	
47,+18	1:8140	
47,+13	1:19000	
Cromossomos sexuais		
47,XYY	1:1080	RN do sexo masculinos
47,XXY	1:1080	RN do sexo masculinos
45,X	1:9600	RN do sexo feminino
47,XXX	1:960	RN do sexo feminino
Aberrações cromossômicas estruturais		
Rearranjos balanceados Robertsonianos	1:1120	
Outros rearranjos balanceados	1:965	
Rearranjos não balanceados	1:1675	

têm morte fetal tardia e outros nascem e vivem por algumas horas ou mesmo dias (Stumpf *et al.*, 1990).

A encefalocele é um tipo não muito freqüente de DFTN e caracteriza-se por protrusão do cérebro ou de suas membranas de cobertura através de aberturas no crânio, mais comumente na região occipital (75%). Pode estar ligada a uma síndrome complexa e um quadro de hidrocefalia está muitas vezes presente. Embora haja possibilidade de tratamento cirúrgico para grande parte dos portadores, aproximadamente 50% dos sobreviventes apresentam retardo mental (Elias e Simpson, 1992).

A espinha bífida ocorre com prevalência idêntica à anencefalia e é resultado da ausência de fechamento das regiões média e caudal do tubo neural. Afeta mais comumente a região lombar (50%) e a freqüência dos outros tipos divide-se equitativamente entre as regiões torácica e sacral. A mielocoele é a espinha bífida em que o tecido neural está exposto, mas não ocorre herniação enquanto, na meningocele, as meninges estão envolvidas e, na mielomeningocoele, a espinha e as raízes nervosas estão exteriorizadas. Essa última condição está relacionada, usualmente, com deslocamento da medula e do cerebelo, resultando em hidrocefalia, e é conhecida como malformação de Arnold-Chiari (Van den Hof *et al.*, 1990).

É muito importante diferenciar os defeitos abertos do tubo neural dos fechados. Aproximadamente 99% das anencefalias e 85 a 90% das espinhas bífidas são defeitos abertos, o que facilita sua investigação pré-natal por meio de substâncias eliminadas no líquido amniótico pelo tecido nervoso. Os defeitos fechados, por outro lado, são cobertos por pele, membrana ou tecido cicatricial e impedem um contato direto do tecido nervoso com o ambiente. Um dos exemplos é a espinha bífida fechada, que é freqüentemente diagnosticada pela presença de tufo de cabelo ou lipoma subcutâneo cobrindo a área lesada ou consiste de achado casual durante a realização de raios-X em crianças assintomáticas. Essa anomalia pode desaparecer com a maturidade, porém há a possibilidade de causar problemas neurológicos



severos em 70% dos afetados. Tais casos, em decorrência das características anatômicas, não exibem resultados positivos no rastreamento feito por marcadores bioquímicos em líquido amniótico (Phillips *et al.*, 1993; Csabay *et al.*, 1998).

Os defeitos do tubo neural não têm causa conhecida, porém características ambientais e poligênicas têm sido consideradas em sua etiologia. O ácido fólico demonstrou ser eficaz na diminuição de sua recorrência e, por esse motivo, sua administração tem sido proposta no período pré-conceitual, pelo menos em gestantes com antecedentes (Vitamin Study Research Group, 1991).

Os estudos epidemiológicos mostram a relação desse grupo de malformações com fatores geográficos, étnicos, idade materna, paridade e sexo. A população da Irlanda do Norte e Escócia, por exemplo, têm uma prevalência de 7-8 casos por 1.000 nascimentos enquanto, nos Estados Unidos, é de 1-2 casos por 1.000 nascimentos. Existem relatos de que os americanos brancos apresentam número de casos maior do que os não brancos e de um maior acometimento em hispânicos. No Reino Unido, dados obtidos com base na idade materna proporcionaram um gráfico em forma de “U” (Fedrick *et al.*, 1970; Janesich *et al.*, 1978), o que indica serem as mulheres muito jovens e as mais velhas aquelas com maior risco de terem filhos com essa doença. Parece haver também uma predileção por neonatos do sexo feminino (James *et al.*, 1979) e, em certos países, tem sido citada uma relação entre estações do ano, fator sócio-econômico e número de casos. Outro dado importante e bem conhecido é o fato de que o risco aumenta em famílias com mais de um afetado. No Reino Unido, por exemplo, foi estimado que, após um filho afetado, a probabilidade de um segundo afetado é de 5% enquanto, nos Estados Unidos, está entre 1,7 e 4,6%. Como em outras doenças multifatoriais, parentes em 1º grau têm maior risco do que os de 2º grau, reforçando o papel dos fatores genéticos na etiologia dessas condições (Cowchock *et al.*, 1980).



B. Métodos de Rastreamento de Anomalias do Desenvolvimento

Alguns métodos de rastreamento de anomalias de desenvolvimento têm sido propostos e, entre eles, podem ser citados o rastreamento pela idade materna, pelos marcadores sonográficos (ultra-som) e pelos marcadores bioquímicos.

B1. Idade materna

Em 1933, já era conhecido o fato de que havia maior prevalência de trissomia 21 ou Síndrome de Down (SD) entre recém-nascidos de mulheres com idade avançada e, com o passar do tempo, ficou evidente que tal prevalência era independente de localização geográfica e raça. Em 1981, Hook e colaboradores documentaram bem a relação da idade materna com o risco dessa trissomia, que mostra um aumento lento na sua frequência até a idade materna de 35 anos e, posteriormente, um aumento abrupto e progressivo. Aos 32 anos de idade, a gestante apresenta risco igual a 1:659 enquanto, aos 35 anos, é de 1:260 no momento da amniocentese (15-18 semanas) e de 1:356 no término da gravidez (Snijder *et al.*, 1996). A Tabela 2 mostra o risco estimado de trissomia 21 durante as semanas de gestação *versus* idade materna em população estudada por Nicolaides e colaboradores em 1996. No caso de outras aberrações cromossômicas, principalmente as trissomias dos cromossomos 18 e 13, respectivamente síndrome de Edward e síndrome de Patau, os efeitos da idade materna também são bem conhecidos, como mostram as Tabelas 3 e 4 (Snijder *et al.*, 1996).

B2. Marcadores sonográficos

Um dos primeiros marcadores sonográficos utilizados no rastreamento de anomalias de desenvolvimento, como a trissomia do 21, foi o da prega cutânea occipital (*nucal fold*), que aparece no ultra-som como uma imagem anecóica na região posterior da cabeça, no corte que se visualiza o cerebelo. Sua sensibilidade é relativamente baixa (em torno de 40%) e deve ser avaliado no período gestacional de 15 a 20 semanas (Crane *et al.*, 1991; Vintzileos *et al.*,



Tabela 2. Risco estimado para trissomia do cromossomo 21 em relação às idades materna e gestacional, segundo dados de Nicolaides *et al.* (1996). (Nasc = ao nascimento)

Idade Gestacional (semanas)	Idade (anos)				
	20	25	30	35	40
10	1 / 804	1 / 712	1 / 471	1 / 187	1 / 51
12	1 / 898	1 / 795	1 / 526	1 / 210	1 / 57
14	1 / 981	1 / 868	1 / 575	1 / 229	1 / 62
16	1 / 1053	1 / 933	1 / 617	1 / 246	1 / 67
18	1 / 1117	1 / 989	1 / 655	1 / 261	1 / 71
20	1 / 1175	1 / 1040	1 / 688	1 / 274	1 / 74
25	1 / 1294	1 / 1146	1 / 758	1 / 302	1 / 82
30	1 / 1388	1 / 1229	1 / 813	1 / 324	1 / 88
35	1 / 1464	1 / 1297	1 / 858	1 / 342	1 / 93
Nasc	1 / 1527	1 / 1352	1 / 895	1 / 356	1 / 97

Tabela 3. Risco estimado para trissomia do cromossomo 18 em relação às idades materna e gestacional, segundo dados de Nicolaides *et al.* (1996). (Nasc = ao nascimento)

Idade Gestacional (semanas)	Idade (anos)				
	20	25	30	35	40
10	1 / 1993	1 / 1765	1 / 1168	1 / 465	1 / 126
12	1 / 2484	1 / 2200	1 / 1456	1 / 580	1 / 157
14	1 / 3015	1 / 2670	1 / 1766	1 / 703	1 / 191
16	1 / 3590	1 / 3179	1 / 2103	1 / 837	1 / 227
18	1 / 4215	1 / 3732	1 / 2469	1 / 983	1 / 267
20	1 / 4897	1 / 4336	1 / 2869	1 / 1142	1 / 310
25	1 / 6909	1 / 6118	1 / 4048	1 / 1612	1 / 437
30	1 / 9516	1 / 8427	1 / 5575	1 / 2220	1 / 602
35	1 / 13028	1 / 11536	1 / 7633	1 / 3039	1 / 824
Nasc	1 / 18013	1 / 15951	1 / 10554	1 / 4202	1 / 1139

Tabela 4. Risco estimado para trissomia do cromossomo 13 em relação às idades materna e gestacional, segundo dados de Nicolaidis *et al.* (1996). (Nasc = ao nascimento)

Idade Gestacional (semanas)	Idade (anos)				
	20	25	30	35	40
10	1 / 6347	1 / 5621	1 / 3719	1 / 1481	1 / 401
12	1 / 7826	1 / 6930	1 / 4585	1 / 1826	1 / 495
14	1 / 9389	1 / 8314	1 / 5501	1 / 2190	1 / 594
16	1 / 11042	1 / 9778	1 / 6470	1 / 2576	1 / 698
18	1 / 12795	1 / 11330	1 / 7496	1 / 2985	1 / 809
20	1 / 14656	1 / 12978	1 / 8587	1 / 3419	1 / 927
25	1 / 19854	1 / 17581	1 / 11632	1 / 4631	1 / 1255
30	1 / 26002	1 / 23026	1 / 15234	1 / 6065	1 / 1644
35	1 / 33387	1 / 29565	1 / 19561	1 / 7788	1 / 2111
Nasc	1 / 42423	1 / 37567	1 / 24856	1 / 9896	1 / 2683

1995). Um outro marcador sonográfico que, ao contrário do anterior, tem sensibilidade alta (80%) e mostra bons resultados, é a translucência nucal (*nucal translucency*). Esse marcador foi desenvolvido por Nicolaides *et al.* (1992) e tem a vantagem adicional da precocidade de avaliação, que se dá entre 10 e 13 semanas aproximadamente. Sua imagem no ultra-som é anecóica e representa uma coleção líquida na região posterior da nuca no corte ultrasonográfico, que é utilizado na medida do comprimento cabeça-nádega (Nicolaides *et al.*, 1992, Montenegro *et al.*, 1998).

Além desses, muitos outros marcadores sonográficos são conhecidos. Entretanto, nenhum deles isoladamente tem a repercussão e o valor preditivo dos dois referidos acima (Nicolaides *et al.*, 1992; Vintzileos *et al.*, 1995; Nyberg *et al.*, 1998; Vergani *et al.*, 2000).

B3. Marcadores bioquímicos

O pioneiro dos componentes bioquímicos que teve representatividade no diagnóstico pré-natal foi a **alfa-fetoproteína (AFP)**. O gene da AFP está mapeado no braço longo do cromossomo 4, em 4q11-13 (Connor *et al.*, 1993), seu produto é uma glicoproteína com 69 Kd que contém aproximadamente 4% de carboidratos e apresenta-se como uma banda extra localizada na região alfa 1, no gráfico da eletroforese de proteínas. Pode ser detectada em fetos humanos por volta de 29 dias após a concepção (Bergstrand *et al.*, 1956), sendo sintetizada inicialmente pelo saco vitelínico, pelo trato gastrointestinal e pelo fígado que, após o primeiro trimestre, assume quase a totalidade da produção. A primeira utilização desse marcador em diagnóstico pré-natal deu-se em 1972, quando foi constatada sua concentração elevada no líquido amniótico, em um grupo de gestantes cujos fetos apresentavam defeitos de fechamento do tubo neural (Brock *et al.*, 1972)., A publicação dos dados não provocou grande impacto e divulgação porque essa doença, na grande maioria das vezes, acomete embriões de mulheres sem antecedentes e porque a investigação da AFP exige um procedimento invasivo (amniocentese). Com o advento dos métodos de radioimunoensaio, foi possível a mensuração



de baixas quantidades desta substância e a possibilidade de sua detecção no soro materno (AFP-SM). Desde então, países como a Inglaterra, onde a prevalência dos defeitos do tubo neural é alta, iniciaram programas de rastreamento dessa doença (Phillips *et al.*, 1992).

Em 1984, Merkatz e colaboradores observaram, em um caso de trissomia do cromossomo 18 (Síndrome de Edward), níveis baixos de alfa-fetoproteína no soro materno (Merkatz *et al.*, 1984). Outros autores (Bogart *et al.*, 1987; Bogart *et al.*, 1989) também correlacionaram esse achado com a presença de aneuploidias, o que levou o grupo de Cuckle a sugerir o rastreamento de aneuploidias pela mensuração da AFP-SM (Cuckle *et al.*, 1984). Um pouco mais tarde, um estudo colaborativo (New England Regional Genetics Group Prenatal Collaborative Study of Down Syndrome Screening, 1989) propôs a associação de dois métodos de rastreamento, idade materna e AFP-SM, o que permitiria a avaliação do risco tanto para defeitos do tubo neural como para Síndrome de Down e Síndrome de Edward.

Em 1988, Wald e colaboradores estenderam a amplitude desse rastreamento de aberrações cromossômicas, principalmente Síndrome de Down, com a adição de dois outros marcadores bioquímicos, estudados pouco antes pelos grupos de Bogart e Canick, a **gonadotrofina coriônica humana (hCG)** e o **estriol livre (uE3)**, (Bogart *et al.*, 1987; Canick *et al.*, 1988; Wald *et al.*, 1988).

A **gonadotrofina coriônica humana (hCG)** é uma sialoglicoproteína de peso molecular igual a 40Kd. É composta por duas subunidades de tamanhos diferentes, denominadas subunidades alfa e beta. A subunidade alfa é virtualmente idêntica àquela dos hormônios pituitários humanos luteinizante (LH), folículo estimulante, (FSH) e tireoestimulante (TSH). A especificidade biológica desses hormônios é conferida pelas subunidades beta, que também permitem sua distinção imunológica. A hCG é produzida em grande escala pelo sinciciotrofoblasto e age no começo da gestação para substituir a função do corpo lúteo após a sua falência fisiológica. Dessa forma, a produção de estrogênios e

progesteronas necessários para a manutenção do endométrio é continuada, permitindo o prosseguimento da gravidez. Mais tarde, a placenta por si só é capaz de produzir quantidade suficiente de hormônios esteróides e a produção de hCG é reduzida. A hCG também pode ser produzida em quantidades significativas por uma variedade de tumores, especialmente os de origem trofoblásticas como o coriocarcinoma e o teratoma (Brody *et al.*, 1962).

O **estriol**, por sua vez, é um esteróide cuja síntese requer uma interação complexa entre a placenta e a glândula adrenal do feto. A adrenal fetal, através do precursor colesterol, sintetiza o androgênio sulfato de deidroepiandrosterona (DHEA-S), que é convertido em 16 α hidroxí DHEA pelo fígado fetal e transportado para a placenta, onde é convertido em estriol e liberado em seguida para a circulação materna. Uma vez que a síntese de estriol é dependente tanto da adrenal fetal como da placenta, sua secreção é atribuída à unidade feto-placentária. Após o ingresso na circulação materna, o estriol é rapidamente metabolizado, principalmente pelo fígado, para sua forma conjugada. Como resultado desse processo, a forma não conjugada ou “livre” passa a representar aproximadamente 9% do total de estriol circulante. Os estrogênios, em geral, secretados pela placenta, estimulam o crescimento do útero da mulher no período gestacional, o que é necessário para acomodação do feto em desenvolvimento. Também estimulam o crescimento da genitália externa e provocam relaxamento dos ligamentos pélvicos, com o objetivo de facilitar a passagem do feto através do canal de nascimento (Tulchinsky *et al.*, 1982)

Muitos autores apontaram **outros marcadores** bioquímicos como alternativas para o rastreamento pré-natal, tais como a **fração livre da unidade beta da gonadotrofina coriônica (F β -hCG)**, que foi testada, inicialmente, como marcador do segundo trimestre (Macri *et al.*, 1990). Posteriormente, essa substância foi avaliada como marcador do primeiro trimestre em conjunto com outra proteína, a ***pregnancy-associated plasma protein A (PAPP-A)*** (Casals *et al.*, 1988; Spencer *et al.*, 2000). Essa última, uma glicoproteína com peso



molecular de 800 Daltons, tem seu papel biológico ainda desconhecido, porém, existem estudos admitindo sua função como inibidora de proteases, imunossupressora e com efeitos anticoagulantes (McIntyre *et al.* 1981; Sinosich *et al.* 1982). Uma outra substância que tem sido recentemente citada como um bom marcador bioquímico é a **inibina A**. Essa substância vem sendo estudada em conjunto com os três marcadores convencionais, AFP, hCG e uE3, e tem se mostrado muito efetiva, melhorando a sensibilidade do método rastreador (Cuckle *et al.*, 1994; Wald *et al.*, 1996; Salomen *et al.*, 1997; Wald *et al.*, 1998). Inibinas são hormônios glicoprotéicos constituídos por duas subunidades ligadas por pontes de dissulfeto. Quando a sub-unidade α está ligada a uma sub-unidade βA , a inibina é denominada inibina A, e quando a sub-unidade α está ligada a uma sub-unidade βB é denominada inibina B. Ambas suprimem a secreção do hormônio folículo-estimulante (FSH) na glândula pituitária. A inibina A está aumentada em soro de mulheres com fetos portadores de síndrome de Down (Wald *et al.*, 1996). Sua avaliação em gestantes apresenta um fator de restrição que é o seu alto custo.

C. Dados sobre a detecção de defeitos de fechamento do tubo neural e aberrações cromossômicas por meio de diferentes marcadores

C 1. Defeitos de fechamento do tubo neural

Em 1972, alguns autores correlacionaram a AFP no soro materno com a presença no feto de espinha bífida e anencefalia (Brock *et al.*, 1972). A partir dessa época, outros trabalhos foram iniciados e, em 1977, o primeiro estudo colaborativo do Reino Unido foi publicado, definindo a sensibilidade e a especificidade dos métodos para rastreamento de DFTN (Wald e Cuckle, 1977). Com a participação de 19 centros, foram analisados soros de 18.684 gestantes



de feto único não afetado por DFTN e de 301 gestantes de feto único afetado (146 com anencefalia, 142 com espinha bífida e 13 com encefalocele). Foram utilizados múltiplos da mediana (MoM) da concentração de AFP-SM obtidas em gestantes não portadoras de fetos afetados como pontos de corte (*cut-off*) para avaliação do risco de acometimento. Quando o ponto de corte foi igual a 2 MoM, a porcentagem de resultados falsos-positivos no grupo das gestantes com feto afetado foi de 7,2% e, com isso, 85% das espinhas bífidas abertas e 91% das anencefalias foram detectadas. Com a utilização do ponto de corte igual a 2,5 MoM, a porcentagem de falsos-positivos foi de apenas 3,3%, enquanto a detecção dos casos de espinha bífida aberta e anencefalia atingiu 75% e 89%, respectivamente. Outras anomalias também puderam ser detectadas, como gastrosquise e onfalocele (Palomaki *et al.*, 1988).

O objetivo da quantificação da AFP-SM em múltiplos da mediana (MoM), e não em unidades padrões como ng/ml, é de minimizar discrepâncias entre laboratórios que, geralmente, utilizam técnicas diferentes (Wald e Cuckle, 1977). Com isso, além da comparação de dados, é possível também a elaboração de uma curva de valores normais com maior fidedignidade.

C 2. Aberrações cromossômicas

Em 1984, Irwin R. Merkatz e colaboradores publicaram um artigo no qual mostraram, com muita astúcia, a associação entre baixas concentrações de AFP-SM e anormalidades cromossômicas. Até o momento dessa publicação, o rastreamento de cromossomopatias era exclusivamente realizado com base na observação de Penrose de que mulheres com idade avançada apresentavam maior prevalência de recém-nascidos portadores de Síndrome de Down (SD). Esse antigo método rastreador, selecionando mulheres mais velhas para exames invasivos e arriscados, restringia o diagnóstico dessa aneuploidia a uma pequena faixa da população.



No estudo realizado pelo grupo de Merkatz, foi observado que a concentração da AFP estava diminuída de aproximadamente 25% no soro de gestantes de afetados pela SD (Merkatz *et al.*, 1984). Baseados nessa premissa, foram iniciados estudos para avaliar esse marcador (Cuckle *et al.*, 1984; Tabor *et al.*, 1987; Knight *et al.*, 1988). A primeira preocupação surgida foi a de que, talvez, esse nível baixo de AFP-SM estivesse relacionado também com a idade materna, ou seja, pacientes com idade avançada e fetos com SD apresentariam baixo nível de AFP-SM. Todavia, níveis de AFP-SM em gestações afetadas e não afetadas mostraram-se totalmente independentes da idade da gestante, permitindo que esses critérios pudessem ser utilizados, individualmente ou combinados, para ampliação no número de diagnósticos de fetos acometidos (Knight *et al.*, 1988).

Em 1987, Bogart e colaboradores encontraram uma concentração de gonadotrofina coriônica humana (hCG) no segundo trimestre de gravidez significativamente maior em gestantes com fetos portadores de SD (2,1 MoM) que em um grupo controle. O fato foi atribuído a uma produção maior de hCG no segundo trimestre, por atraso na ocorrência da maturidade placentária.

Em 1988, um trabalho publicado pelo grupo de Canick acrescentou um terceiro marcador bioquímico ao cenário do rastreamento de aneuploidias, o estriol não conjugado (uE3), detectado com concentração diminuída de 25% no soro materno de portadoras de fetos com SD. Nesse trabalho, foi demonstrado que esse marcador, associado à AFP e à idade materna, ampliou de 39% para 45% o número de casos diagnosticados em relação aos testes utilizando apenas a AFP e a idade materna (Canick *et al.*, 1988). Como é sabido, o uE3 é um esteróide cuja síntese tem a participação tanto do fígado materno quanto do fetal. A queda na sua concentração pode ser explicada da mesma forma que para a AFP, ou seja, quando o órgão produtor está comprometido no feto, ocorre diminuição na síntese e/ou secreção dessa substância.



Também em 1988, Wald e colaboradores, analisando os três marcadores bioquímicos, AFP-SM, hCG e uE3, constataram que os mesmos tinham concentrações independentes da idade materna e praticamente independentes entre si. Isoladamente, o hCG mostrou-se mais efetivo, com uma taxa de detecção de 40% de afetados (2,0 MoM), o que representa uma ação rastreadora maior do que a da AFP-SM, da idade materna, ou mesmo do conjunto das duas (Wald *et al.*, 1988). Nessa publicação, foi concluído que um programa utilizando AFP, uE3 e hCG permitiria o diagnóstico de 60% dos casos de SD para uma população rastreada com 5% de suspeitos. Ainda nesse trabalho, os autores consideraram positiva a avaliação do parâmetro custo-benefício e afirmaram que o método seria capaz de diminuir o número de nascimentos de portadores de SD no Reino Unido, de 900 para 350 no período de um ano (Wald *et al.*, 1988).

Uma outra aberração cromossômica que pode ser rastreada por marcadores bioquímicos é a trissomia do cromossomo 18 (Síndrome de Edward). A prevalência dessa trissomia ao nascimento é aproximadamente um décimo daquela observada na Síndrome de Down, embora seja muito mais freqüente em fases mais precoces da gestação (Nicolaidis *et al.*, 1997). Esse fato, por si só, não justifica a busca de marcadores específicos de rastreamento para essa síndrome. Entretanto, o seu diagnóstico precoce, pelos programas já existentes para outras doenças, seria muito bem-vindo, uma vez que levaria à interrupção da gravidez e evitaria grandes desgastes por parte da família no período curto da sobrevivência pós-natal, que é comum nesses casos.

Na análise dos dados obtidos na mensuração de AFP, uE3 e hCG no soro materno para o rastreamento de SD, alguns casos de trissomia do cromossomo 18, surpreendentemente, também puderam ser identificados (Canick *et al.*, 1990). Realmente, em mulheres com um feto portador dessa síndrome ocorre variação na concentração destes três marcadores.



Contudo, a concentração da hCG apresenta-se diminuída, inversamente ao que ocorre na síndrome de Down.

Em 1990, Canick e colaboradores propuseram um esquema de rastreamento para SD com os três marcadores. Quando o nível na concentração da AFP estivesse menor que 0,75 MoM, o nível do uE3 menor que 0,60 MoM e o do hCG menor que 0,55 MoM, as gestantes seriam consideradas de alto risco e submetidas à amniocentese. No seu estudo, mulheres com essas características foram detectadas na proporção de uma a cada 250 participantes. Realizando amniocentese em todas as gestantes selecionadas pelo alto risco, um feto afetado foi detectado para cada 16 procedimentos. A sensibilidade para identificação da trissomia do cromossomo 18 com esse método foi de 60% (Canick *et al.*, 1990).

Em 1994, começaram as publicações introduzindo mais um marcador bioquímico no estudo do rastreamento pré-natal, a inibina A (Canick *et al.*, 1994; Cuckle *et al.*, 1995; Wald *et al.*, 1996). Dois anos após, Cuckle e colaboradores avaliaram a associação desse novo marcador bioquímico com os três marcadores convencionais do rastreamento bioquímico (AFP, hCG e uE3) e concluíram que sua inclusão proporcionou uma melhora de 5% na sensibilidade do método (Cuckle *et al.*, 1996).

D. Estabelecimento do limite inferior de idade materna para realização de procedimentos invasivos de diagnóstico pré-natal

No Brasil, ainda não foi definido um protocolo estabelecendo o limite inferior de idade materna para a realização rotineira de procedimentos invasivos de diagnóstico pré-natal (biópsia de vilosidade coriônica e amniocentese). Nos Estados Unidos, esses procedimentos são indicados para gestantes com idade superior a 35 anos no dia provável do parto e, na Inglaterra, a idade limite é de 38 anos (Evans *et al.*, 1992). A determinação desse ponto de



corte é de suma importância porque o grupo de mães idosas é automaticamente excluído de programas de rastreamento, pois já estaria qualificado para procedimentos invasivos. Recentemente, entretanto, têm sido publicados inúmeros trabalhos sugerindo que esse grupo também deve ser avaliado por marcadores bioquímicos. O principal objetivo é a redução no número de biópsias de vilosidade coriônica e amniocenteses, minimizando o custo e as possíveis perdas fetais como consequência do procedimento (Haddow *et al.*, 1994; Rose *et al.*, 1995; Antsaklis *et al.*, 2000).

Dois estudos que abordaram o assunto foram capazes de demonstrar a efetividade e as limitações de programa de rastreamento na detecção de SD em mulheres mais velhas. O primeiro estudou 3.896 gestantes e, usando apenas a AFP-SM e adotando um ponto de corte para MoM dessa substância que corresponde ao risco de mulheres com idade de 35 anos, ou seja, 1:270, conseguiu detectar 85% da doença, submetendo 63% dessas gestantes à amniocentese (Rose *et al.*, 1995). O segundo estudo, realizado com os três marcadores (AFP, uE3 e hCG), avaliou 5.385 mulheres com idade materna avançada, com um ponto de corte para o MoM dessas três substâncias que corresponde ao risco de mulheres com idade de 38 anos, ou seja, 1:200, e detectou 89% de SD, submetendo apenas 25% das pacientes à amniocentese (Haddow *et al.*, 1994). Com esses dois trabalhos fica evidente a importância do rastreamento bioquímico também em gestantes com idade avançada.

Alguns trabalhos evidenciaram a influência da etnia na concentração dos marcadores bioquímicos no soro materno. Esse fato justifica a elaboração de uma curva própria para cada população, tendo em vista a possibilidade de inadequação na utilização de curvas de outras localidades (Crandall *et al.*, 1983; Baungarten *et al.*, 1986; Barkai *et al.*, 1996).

Por exemplo, Crandall *et al.* (1983) observaram diferenças na concentração de AFP, comparando gestantes hispânicas, negróides, caucasóides e orientais. Nesse trabalho foi evidenciado um aumento em média de 10% nos níveis dessa variável nas mulheres negróides



para cada semana de gestação estudada. Em 1996, Barkai e colaboradores observaram entre as mulheres israelitas valores bastante elevados de hCG, principalmente entre as de etnia árabe, quando comparadas às outras origens étnicas. Os demais marcadores séricos estudados (AFP e uE₃) não apresentaram mudanças importantes em relação às origens étnicas destas mulheres.

2. Objetivos

2. OBJETIVOS

O presente trabalho tem como objetivo principal analisar o papel da literatura brasileira no processo de construção da identidade nacional, com especial atenção para o período do Romantismo. Para isso, serão examinados os textos de autores como Almeida Garrett, Castro Alves e Gonçalves de Magalhães, buscando compreender como a literatura contribuiu para a formação de uma consciência coletiva e para a afirmação de valores nacionais. A metodologia utilizada será a análise crítica dos textos literários, considerando o contexto histórico e cultural em que foram produzidos. Espera-se que este estudo contribua para uma melhor compreensão da importância da literatura na construção da identidade nacional brasileira.

1. Identificar os principais autores e obras literárias do Romantismo brasileiro que contribuíram para a construção da identidade nacional.
2. Analisar o papel da literatura na formação de uma consciência coletiva e na afirmação de valores nacionais.
3. Compreender o contexto histórico e cultural em que a literatura brasileira do Romantismo foi produzida.
4. Avaliar a importância da literatura na construção da identidade nacional brasileira.

2. Objetivos

2. OBJETIVOS

O rastreamento bioquímico de anomalias congênitas já é bem estabelecido nos países do primeiro mundo. Acredita-se que esse procedimento no Brasil seria de grande valia, uma vez que se trata de país de grande extensão territorial e testes bioquímicos poderiam ser realizados sem a presença da gestante, da mesma maneira que é feito o rastreamento de fenilcetonúria em recém-nascidos. Porém, tem sido muito abordado o argumento de que faltam parâmetros locais para a utilização desse procedimento no nosso país, considerando que diferenças étnicas podem ser responsáveis por padrões bioquímicos distintos. Dessa forma, o presente estudo teve por objetivos específicos:

- 1- Elaborar uma curva, para uma população brasileira, dos níveis de AFP, hCG e uE3 no soro materno, em gestações normais, no período entre a 15ª e a 19ª semanas de gestação.
- 2- Comparar a curva da população brasileira com curvas estabelecidas a partir de gestantes normais de outras nacionalidades, no mesmo período de gestação.



3. Material e Métodos

3. MATERIAL E MÉTODOS

A. Casuística

A casuística do presente estudo compreendeu gestantes atendidas pela clínica “Centro de Avaliação Materno Fetal”, São José do Rio Preto, SP, que foram informadas sobre os objetivos da realização dos testes de rastreamento pré-natal e concordaram com a sua participação. Essas gestantes foram identificadas pelo nome, data do nascimento, idade, etnia, altura, peso atual e número de fetos na gestação estudada. Além desses dados, foram também considerados os antecedentes pessoais e familiares em relação a *diabetes mellitus* e a defeitos de fechamento do tubo neural (ver Questionário no Apêndice). As pacientes foram classificadas segundo a idade gestacional, que foi baseada na data da última menstruação (DUM) e no exame ultra-sonográfico obstétrico (US). Quando ocorreram discordâncias superiores a 14 dias entre esses dois parâmetros, o dado obtido pelo exame ultra-sonográfico prevaleceu como determinante da idade gestacional. De acordo com esse critério, foram selecionados grupos de mulheres com 15, 16, 17, 18 e 19 semanas de gravidez, cada um deles formado por, no mínimo, 61 e, no máximo, 132 gestantes, totalizando 509 casos.

Foram considerados os seguintes elementos de exclusão: colheita de sangue em idade gestacional inadequada, óbito ou malformações fetais, gestações múltiplas, doenças cromossômicas no produto da concepção e *diabetes mellitus* materno.

B. Material e Métodos

O material utilizado foi sangue venoso periférico colhido sem anticoagulante (volume total de 10 ml), do qual foram separados, aproximadamente, 2 ml de soro. Em cada amostra de soro materno, foram feitas dosagens de alfa-fetoproteína (AFP), gonadotrofina coriônica (hCG) e estriol livre (uE3) pelo método de radioimunensaio, com a utilização de *kits Double*



Antibody AFP-NTD, *hCG MAIAclone* e *Coat-A-Count Free Estriol*, manufaturados, respectivamente, por *CIS Bio International* (Paris, França), *BioChem ImmunSystems* (Bologna, Italy) e *DPC (Diagnostic Products Corporation, Califórnia, USA)*. As dosagens realizadas fazem parte do protocolo de seguimento pré-natal utilizado na clínica e os resultados são usualmente comparados com aqueles da curva fornecida por Robert Maciel Associates, Inc. Alington, Massachusetts, USA (1993).

Após a colheita, as amostras foram mantidas a 7°C e encaminhadas ao laboratório DIMEN (Diagnóstico Médico Nuclear), Campinas, SP. Os procedimentos metodológicos, descritos a seguir, obedeceram às recomendações do fabricante, sendo as medidas de radioatividade feitas em cintilador de cristal de contagem automática, específico para raios gama emitidos pelo isótopo radioativo iodo 125* (Diagnostic Products Corporation Abbot, modelo Gambyt).

Alfa-fetoproteína no soro materno (AFP)

Princípio da técnica. O método utilizado para dosagem da AFP é um radioimunoensaio de fase sólida. Dois anticorpos monoclonais são preparados contra dois sítios antigênicos diferentes da molécula de AFP. O primeiro é preso na fase sólida do tubo utilizado e o segundo é livre e marcado com iodo 125*. As moléculas de AFP presentes nas amostras de pacientes ou de controles ficam encaixadas entre os dois anticorpos e o isótopo radioativo não ligado é removido pelo processo de lavagem.

Protocolo utilizado. Foram colocados 300 µL de solução tampão fornecida pelo kit em 9 tubos (ELSA) contendo, na sua base interna, uma matriz sólida com anticorpos anti-AFP aderidos. Em sete desses tubos, foram adicionados 50 µL de soro padrão com concentrações conhecidas de AFP iguais a 0,0 ng/mL, 3,0 ng/mL, 30 ng/mL, 100 ng/mL, 250 ng/mL, 500 ng/mL e 800 ng/mL. No oitavo tubo, foram colocados 50 µL de um soro controle (sabidamente positivo) e, no último tubo, 50 µL do soro da amostra. O material foi incubado



por 30 minutos à temperatura ambiente (18-25°C) sob agitação constante, com o objetivo de permitir a ligação dos sítios antigênicos das moléculas de AFP aos anticorpos anti-AFP. Posteriormente, a fase líquida foi aspirada e os tubos lavados por duas vezes com 3 mL de água destilada. Foram, então, adicionados 300 µL de anticorpo monoclonal anti-AFP marcado com iodo radioativo ^{125}I e os tubos foram novamente incubados por 30 minutos à temperatura ambiente (18-25°C) sob agitação constante.

O processo de aspiração da fase líquida e lavagem foi realizado como descrito acima. Após aspiração total do líquido sobrenadante, os tubos foram colocados em um contador de raios gama para medida da radioatividade. Finalmente, a concentração da variável em estudo foi interpretada por meio de uma curva de calibração e dada em ng/mL.

Dosagem da Gonadotrofina Coriônica (hCG)

Princípio da técnica. O radioimunoensaio para dosagem de hCG incorpora três anticorpos de alta afinidade. Dois deles estão marcados com iodo ^{125}I e unem-se rapidamente à molécula de hCG. O terceiro é marcado com fluoresceína e liga-se a um sítio distinto da molécula. Após o período de incubação das amostras com os anticorpos, uma anti fluoresceína acoplada a uma fase sólida magnética é adicionada. Esse componente liga-se ao complexo antígeno-anticorpo e é sedimentado em campo magnético, o que elimina a necessidade de centrifugação. Uma lavagem subsequente reduz as ligações não específicas a um valor mínimo.

Protocolo utilizado. O ensaio foi realizado em 13 tubos. Foram colocados 50 µL do soro materno no primeiro deles e, nos três seguintes, foram colocados volumes iguais do soro materno diluído 1:10, 1:100 e 1:1000. Em outros sete tubos, foram colocados 50 µL de soro padrão com concentrações conhecidas de hCG e iguais a 0,0 UI/mL, 5,0 UI/mL, 10 UI/mL, 25 UI/mL, 100 UI/mL, 250 UI/mL e 500 UI/mL. Nos dois restantes, foram colocados 50 µL de soro controle, um sabidamente positivo e outro negativo para hCG.



Posteriormente, foram adicionados a todos os tubos 500 μL do anticorpo anti-hCG marcado com iodo ^{125}I , que se liga à subunidade beta do hCG. O material foi incubado por 15 minutos em banho-maria a 37°C e recebeu, então, 200 μL de reagente de separação hCG-MAIAClone. Os tubos foram levemente agitados e, em seguida, foram mantidos em repouso por 5 minutos à temperatura ambiente ($18\text{-}25^\circ\text{C}$). Após esse repouso, foram deixados por 2 minutos à temperatura ambiente ($18\text{-}25^\circ\text{C}$) em uma estante magnética com capacidade para decantar as moléculas de hCG. O sobrenadante foi desprezado por inversão e, em seguida, foram adicionados 500 μL de solução de lavagem. O material foi agitado e mantido por mais 2 minutos à temperatura ambiente ($18\text{-}25^\circ\text{C}$) na estante magnética. O sobrenadante foi novamente desprezado e, em seguida, os tubos foram colocados em um contador de raios gama para medida da radioatividade. A concentração da variável em estudo foi interpretada por uma curva de calibração dada em mUI/mL. Os valores obtidos da variável foram, então, multiplicados por 1000 e expressos em UI/mL.

Dosagem do Estriol Livre (uE3)

Princípio da técnica. O radioimunoensaio utilizado para dosagem do estriol livre é de fase sólida. Nesse ensaio, moléculas de estriol marcadas com iodo ^{125}I competem com o estriol presente na amostra da paciente pelo anticorpo, durante um período fixo de tempo. Como o anticorpo está imobilizado na parede do tubo de polipropileno, a simples decantação do sobrenadante é suficiente para finalizar a competição e para isolar a fração do estriol radioativo ligado ao anticorpo. A contagem em contador gama é convertida por meio de uma curva de calibração para a medida do estriol livre presente na amostra da paciente.

Protocolo utilizado. O ensaio foi realizado em 9 tubos contendo, na sua base interna, uma matriz sólida com anticorpos anti-estriol livre aderidos. A seis deles foram colocados 50 μL de soro padrão com concentrações conhecidas de uE3 e iguais a 0,0 ng/mL, 1,0 ng/mL, 5 ng/mL, 10 ng/mL, 25 ng/mL e 50 ng/mL. Foram também colocados 50 μL de soro controle,



um sabidamente positivo e outro negativo para hCG, em mais dois tubos. No último, foram adicionados 50 μ L do soro da amostra. A seguir, foi acrescentado 1,0 mL de estriol livre marcado com iodo 125*. O material foi incubado por 60 minutos em banho-maria a 37°C. O sobrenadante foi desprezado e os tubos foram colocados em um contador de raios gama para medida da radioatividade. Finalmente, a concentração da variável em estudo foi interpretada através de uma curva de calibração e dada em ng/mL.

Análise Estatística

O parâmetro utilizado internacionalmente no rastreamento bioquímico pré-natal de síndrome de Down ou defeito de fechamento do tubo neural é o múltiplo das medianas (MoM) das concentrações de variáveis analisadas (Wald e Cuckle, 1977). Por esse motivo, foram calculadas as medianas (M) das concentrações de AFP, hCG e uE3 obtidas para as gestantes estudadas. Por tratar-se de série com número par de elementos, a mediana dos dados foi calculada pela média aritmética dos elementos centrais. Os elementos centrais ocupam a posição $n/2$ e $n/2+1$, sendo “n” o número de amostras estudadas. Foram também calculados os respectivos múltiplos de medianas, multiplicando-se o valor de M por 2^{-10} , 2, 2.5 e 3, para obtenção do limite inferior e dos três limites superiores, respectivamente, empregados em programas de rastreamento.

Para o estudo da correlação entre as dosagens obtidas e o peso materno utilizou-se o coeficiente de correlação de Pearson. O teste t de Student foi também utilizado para avaliação da relação entre os valores dos marcadores séricos e o peso e idade das gestantes estudadas. O nível de significância considerado neste estudo foi de 0,05 (ou 5%). Todos os cálculos estatísticos foram realizados no Microsoft Excel 97.



4. RESULTADOS

Os dados foram analisados por meio de testes de hipóteses, considerando-se o nível de significância de 5%. Os resultados dos testes de hipóteses são apresentados na Tabela 1. Os resultados dos testes de hipóteses são apresentados na Tabela 1.

Os dados foram analisados por meio de testes de hipóteses, considerando-se o nível de significância de 5%. Os resultados dos testes de hipóteses são apresentados na Tabela 1. Os resultados dos testes de hipóteses são apresentados na Tabela 1.

Os dados foram analisados por meio de testes de hipóteses, considerando-se o nível de significância de 5%. Os resultados dos testes de hipóteses são apresentados na Tabela 1. Os resultados dos testes de hipóteses são apresentados na Tabela 1.

4. Resultados

Os dados foram analisados por meio de testes de hipóteses, considerando-se o nível de significância de 5%. Os resultados dos testes de hipóteses são apresentados na Tabela 1. Os resultados dos testes de hipóteses são apresentados na Tabela 1.

Os dados foram analisados por meio de testes de hipóteses, considerando-se o nível de significância de 5%. Os resultados dos testes de hipóteses são apresentados na Tabela 1. Os resultados dos testes de hipóteses são apresentados na Tabela 1.

4. RESULTADOS

Nesse estudo, foram utilizadas 509 amostras de sangue de gestantes, colhidas no período de janeiro de 1994 a setembro de 1999. O número de amostras nos grupos de pacientes na 15^a, 16^a, 17^a, 18^a e 19^a semanas de gestação atingiu, respectivamente, 81, 132, 104, 80 e 61.

O desfecho da gestação foi averiguado por contato pessoal ou telefônico com o médico obstetra ou com a própria paciente. Cinquenta e uma amostras colhidas em datas inadequadas, ou seja, fora das semanas estudadas, ou de portadoras de *diabetes mellitus* insulino-dependentes e de gestações gemelares não foram consideradas nesse estudo. Também foram analisadas separadamente 8 amostras de pacientes que, após o conhecimento do desfecho da gestação, apresentaram um dos elementos de exclusão. O principal motivo para exclusão das pacientes do estudo foi a colheita de sangue em idade gestacional inadequada (86,5%). Outros motivos incluíram gemelaridade em 3 gravidezes (5,1%), doenças cromossômicas (síndrome de Down e de Edward) ou defeitos do tubo neural em quatro casos (3,4% e 3,4%, respectivamente) e malformação de causa desconhecida em um caso (1,7%).

Assim, foram selecionadas para estudo 450 amostras, sendo 78, 132, 100, 80 e 60 procedentes de mulheres na 15^a, 16^a, 17^a, 18^a e 19^a semanas de gestação, respectivamente (Tabelas 1 a 5 do Apêndice). Sua distribuição gráfica em relação à idade gestacional pode ser visualizada na Figura 1.

A idade materna variou de 15 a 44 anos enquanto o peso variou de 35 a 111 quilos (Tabela 1). O teste t de Student foi aplicado para avaliação da relação entre os valores dos marcadores séricos e o peso e idade das gestantes estudadas. O nível de significância considerado neste estudo foi de 0,05 (ou 5%). Não houve diferença estatisticamente



significante quanto à idade materna entre os vários grupos estudados mas houve quanto ao peso materno.

As gestantes caucasóides foram as mais freqüentes entre as 450 estudadas, sendo observados apenas 2% ($n = 9$) de negróides. O método de cálculo da idade gestacional foi aquele baseado na data da última menstruação e em exame ultra-sonográfico, em 402 (89,3%) e em 48 (10,7%) pacientes, respectivamente.

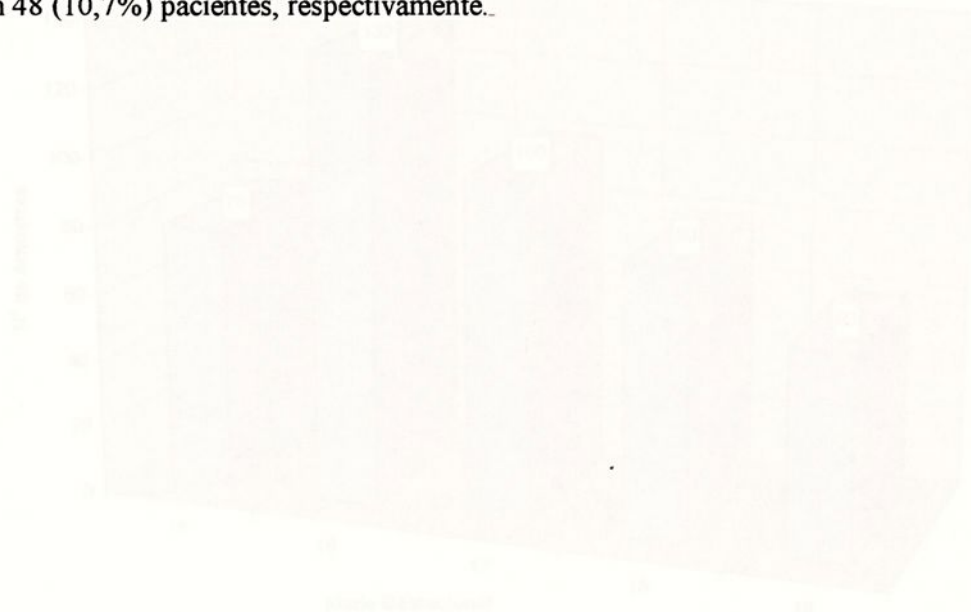


Figura 1 — Distribuição da idade gestacional das gestantes em relação à idade gestacional por semana.

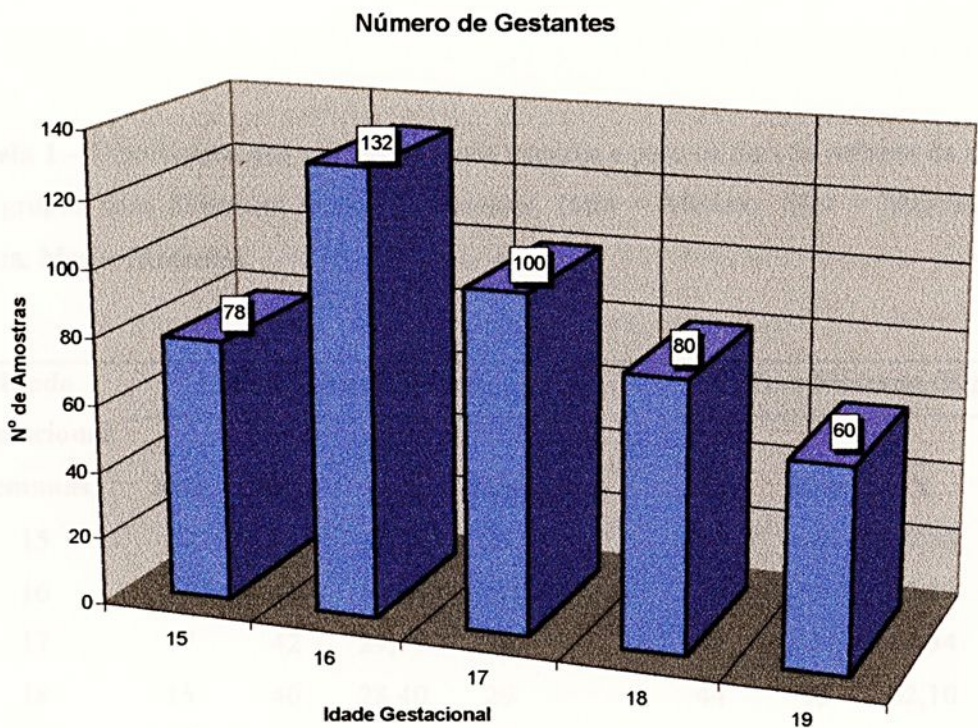


Figura 1 – Distribuição do número de gestantes em relação à idade gestacional em semanas.

Tabela 1 – Distribuição dos valores de idade materna e peso na data da colheita da amostra nos grupos com diferentes idades gestacionais. (Mín = Mínimo; Máx = Máximo; $\bar{X}$ = Média; Med = Mediana)

Idade Gestacional (semanas)	Idade Materna (anos)				Peso Materno (Kg)			
	Mín	Máx	$\bar{X}$	Med	Mín	Máx	$\bar{X}$	Med
15	23	44	31,56	31	35	97	60,53	59,50
16	15	41	30,33	30	39	99	62,25	60,00
17	17	42	29,79	30	43	111	64,34	62,00
18	15	40	28,40	29	44	95	62,10	61,00
19	19	43	28,40	28	48	102	63,22	61,50

Os valores de médias e medianas obtidos para a concentração da AFP nos diferentes grupos atingiram de 32,93 a 47,61 ng/mL e 30,44 a 43,25 ng/mL, respectivamente (Tabela 2), enquanto aqueles para a concentração da hCG nos diferentes grupos atingiram de 26,50 a 47,98 UI/mL e 22,07 a 43,66 UI/mL, respectivamente (Tabela 3), e para a concentração do uE3 nos diferentes grupos atingiram de 1,26 a 5,26 ng/mL e 0,80 a 2,85 ng/mL (Tabela 4).

As curvas com as medianas e os múltiplos da mediana para essas variáveis estão apresentadas nas Figuras 2 a 7.

Os valores de AFP, hCG e uE3 não utilizados na elaboração das três curvas, obtidos de pacientes com gestações gemelares e que deram à luz crianças com aberrações cromossômicas, defeito do tubo neural ou malformação de causa desconhecida estão apresentados na Tabela 5.

Nos casos das pacientes com colheita de sangue em data gestacional inadequada, os valores de mediana obtidos estão apresentados na Tabela 6 do Apêndice.

Nas Figuras 8, 9 e 10 são evidenciados os valores de mediana, respectivamente para AFP, hCG e uE3 obtidos em duas pacientes que portavam fetos com defeito de fechamento do tubo neural, uma paciente portadora de feto com síndrome de Down e outra com síndrome de Edward e, portanto, foram analisadas separadamente sem fazer parte da curva. Esses valores podem ser comparados com os valores de mediana das pacientes normais.

Tabela 2 – Variação da concentração e valores de médias e medianas obtidas para AFP nos diferentes grupos de pacientes classificados segundo a idade gestacional.

Idade				
Gestacional (semanas)	Nº Amostras	Concentração da AFP (ng/mL) Variação	Médias	Medianas
15	78	7,50 a 109,99	32,93	30,44
16	132	11,59 a 95,89	34,27	32,69
17	100	11,80 a 73,89	37,52	36,20
18	80	19,51 a 101,00	46,05	42,13
19	60	18,89 a 80,49	47,61	43,25

Tabela 3 – Variação da concentração e valores de médias e medianas obtidas para hCG nos diferentes grupos de pacientes classificados segundo a idade gestacional.

Idade				
Gestacional	Nº Amostras	Concentração da hCG (UI/mL)	Médias	Medianas
(semanas)		Variação		
15	78	14,91 a 152,00	47,98	43,66
16	132	5,50 a 107,00	37,86	32,73
17	100	5,77 a 271,00	31,94	28,05
18	80	5,69 a 77,00	26,50	25,73
19	60	5,50 a 79,80	27,07	22,07

Tabela 4 – Variação da concentração e valores de médias e medianas obtidas para uE3 nos diferentes grupos de pacientes classificados segundo a idade gestacional.

Idade				
Gestacional	Nº Amostras	Concentração da uE3 (ng/mL)	Médias	Medianas
(semanas)		Variação		
15	78	0,10 a 9,40	1,26	0,80
16	132	0,10 a 30,00	1,82	1,20
17	100	0,10 a 22,70	2,72	2,15
18	80	0,10 a 12,60	2,78	2,60
19	60	0,10 a 80,00	5,26	2,85

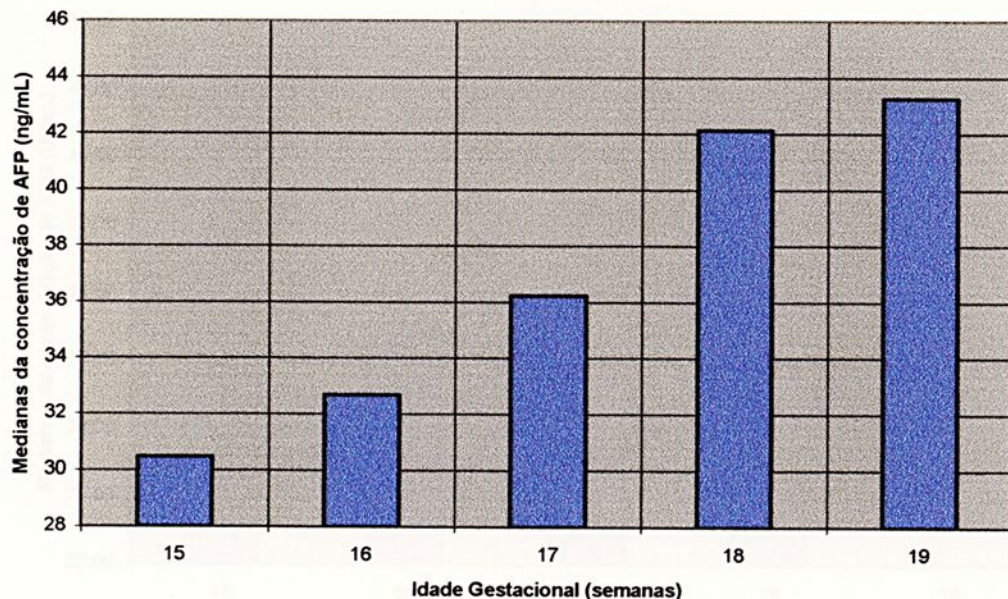


Figura 2 – Representação gráfica dos valores de mediana obtidos para a concentração de AFP nos diferentes grupos de pacientes classificados segundo a idade gestacional.

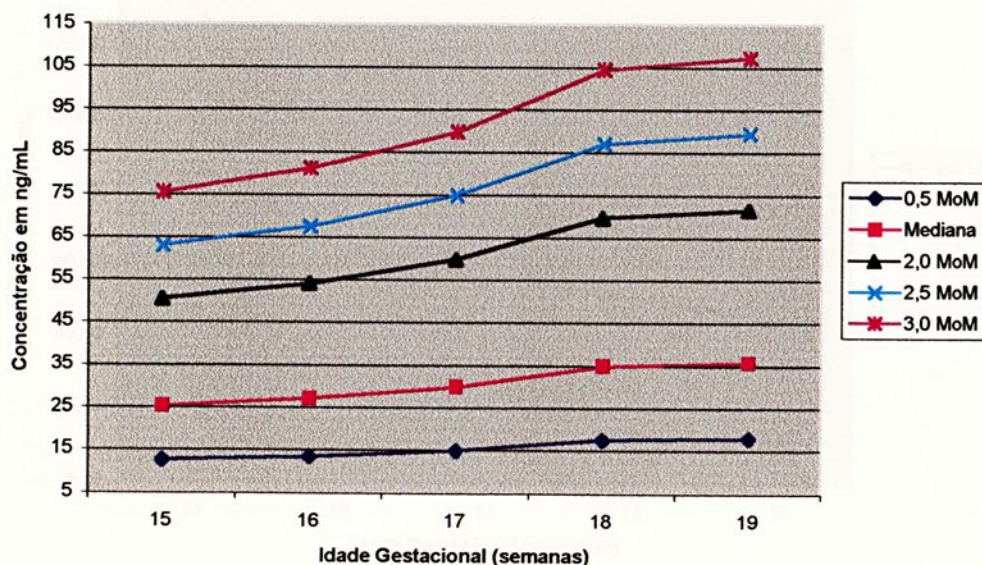


Figura 3 – Representação gráfica dos valores de mediana e múltiplos de mediana obtidos para a concentração de AFP nos diferentes grupos de pacientes classificados segundo a idade gestacional.

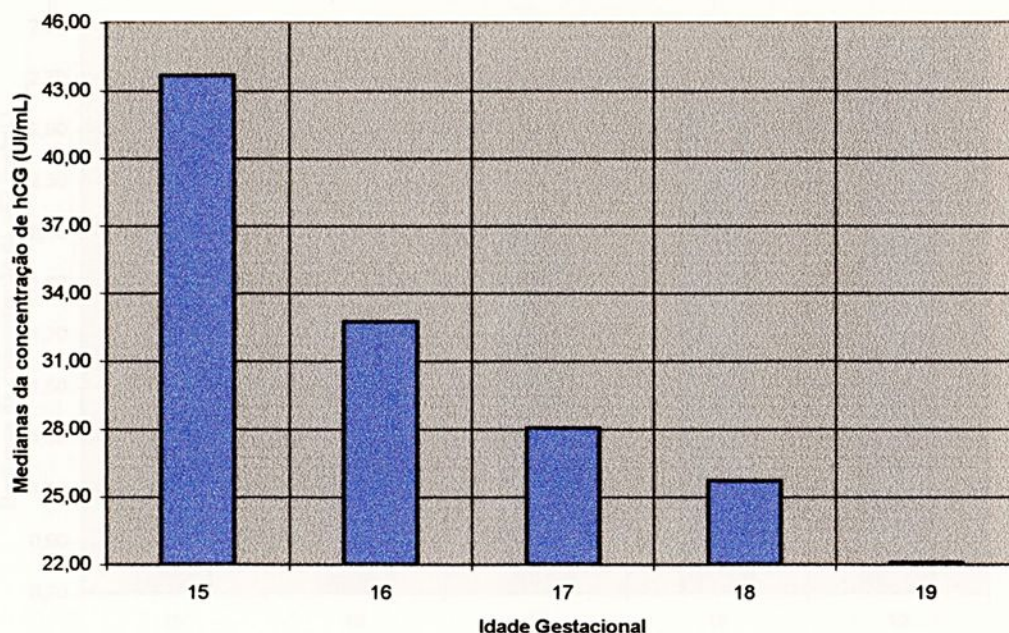


Figura 4 – Representação gráfica dos valores de medianas obtidas para a concentração de hCG nos diferentes grupos de pacientes classificados segundo a idade gestacional.

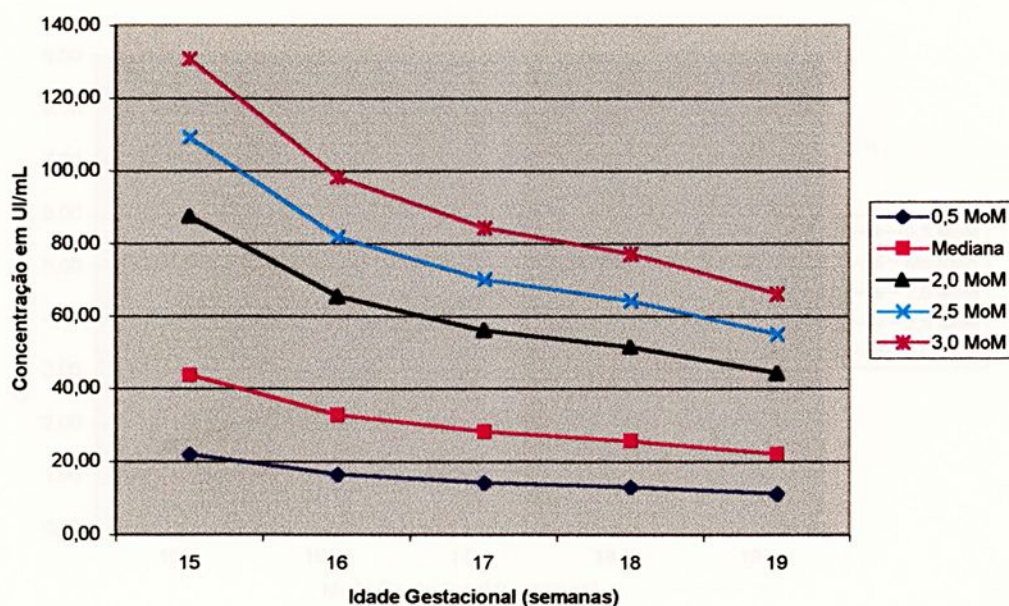


Figura 5 – Representação gráfica dos valores de mediana e múltiplos de mediana obtidos para a concentração de hCG nos diferentes grupos de pacientes classificados segundo a idade gestacional.

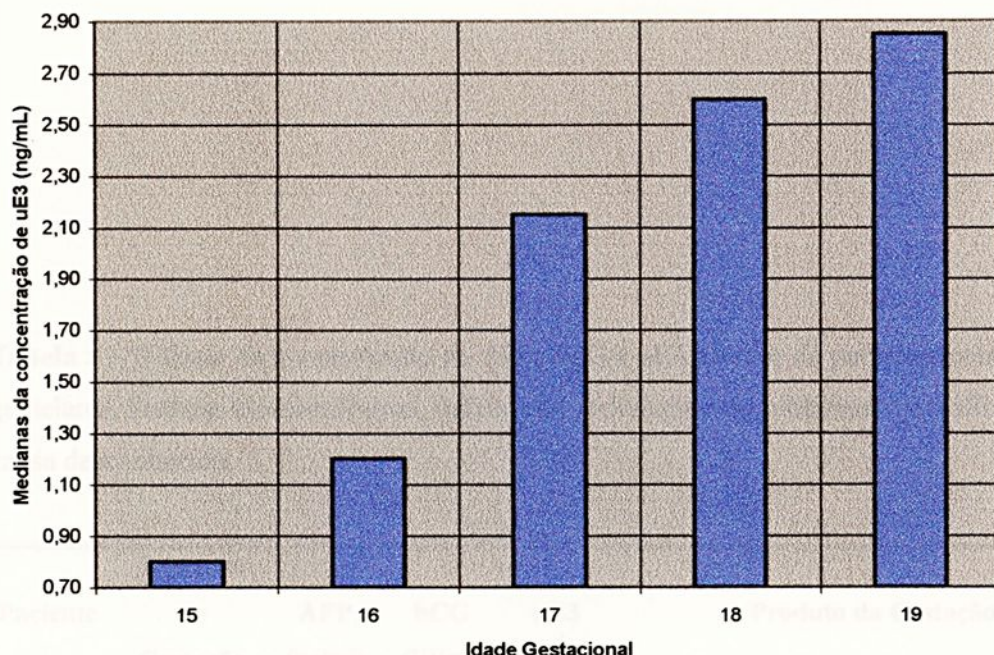


Figura 6 – Representação gráfica dos valores de mediana obtidos para a concentração de uE3 nos diferentes grupos de pacientes classificados segundo a idade gestacional.

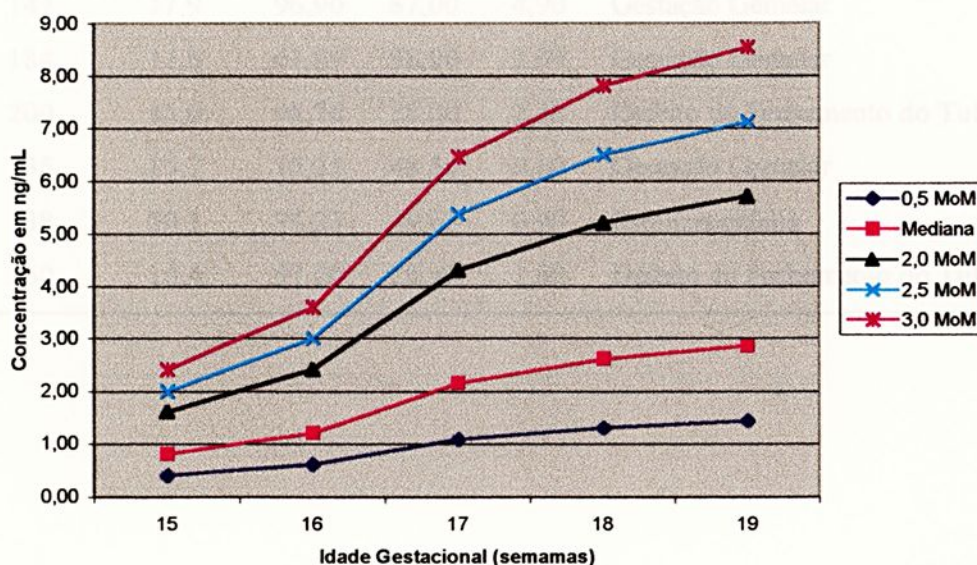
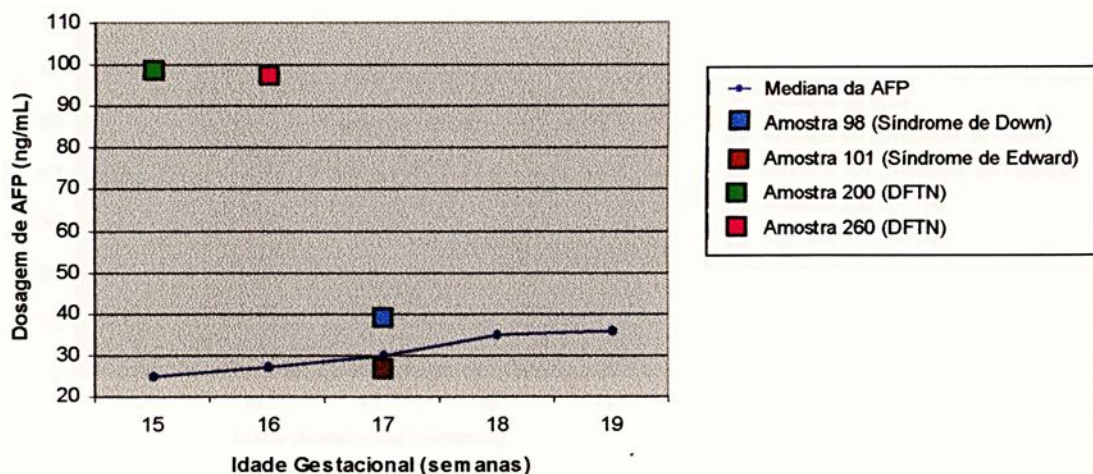


Figura 7 – Representação gráfica dos valores de mediana e múltiplos de mediana obtidos para a concentração de uE3 nos diferentes grupos de pacientes classificados segundo a idade gestacional.

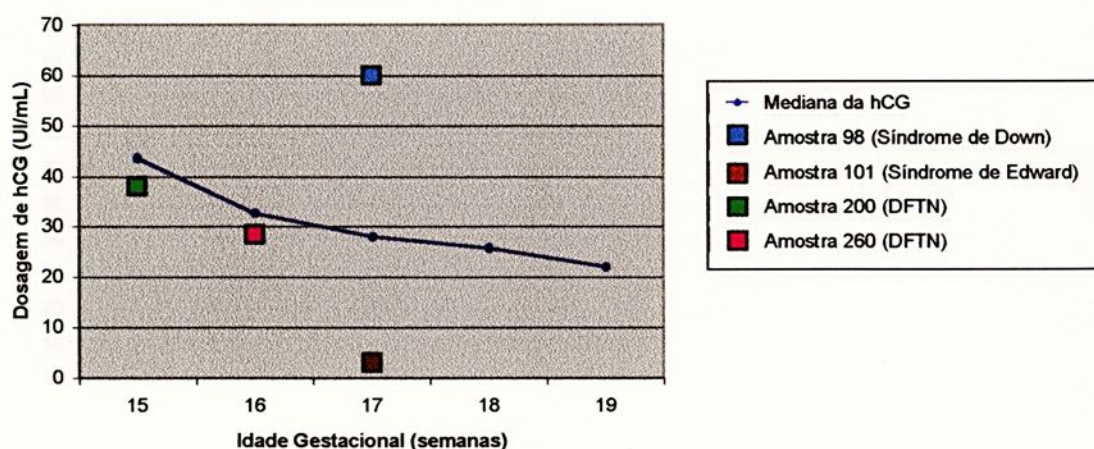
Tabela 5 – Valores da concentração de AFP, hCG e uE3 obtidos de pacientes com gestações gemelares, doenças cromossômicas, defeitos de fechamento do tubo neural e malformação de causa desconhecida.

Paciente	Semanas		AFP (ng/ml)	hCG (UI/ml)	uE3 (ng/ml)	Produto da Gestação
	de	Gestação				
98	17,1		39,00	60,00	1,20	Síndrome de Down (citogenética)
101	17,6		27,00	3,10	0,50	Síndrome de Edward (dados clínicos)
147	17,9		96,90	87,00	4,90	Gestação Gemelar
184	17,6		61,09	58,00	2,00	Gestação Gemelar
200	15,0		98,70	38,00	2,20	Defeito de Fechamento do Tubo Neural
235	15,7		15,25	48,50	0,60	Gestação Gemelar
238	20,1		76,23	49,63	0,90	Esquizencefalia
260	16,4		97,20	28,40	1,80	Defeito de Fechamento do Tubo Neural



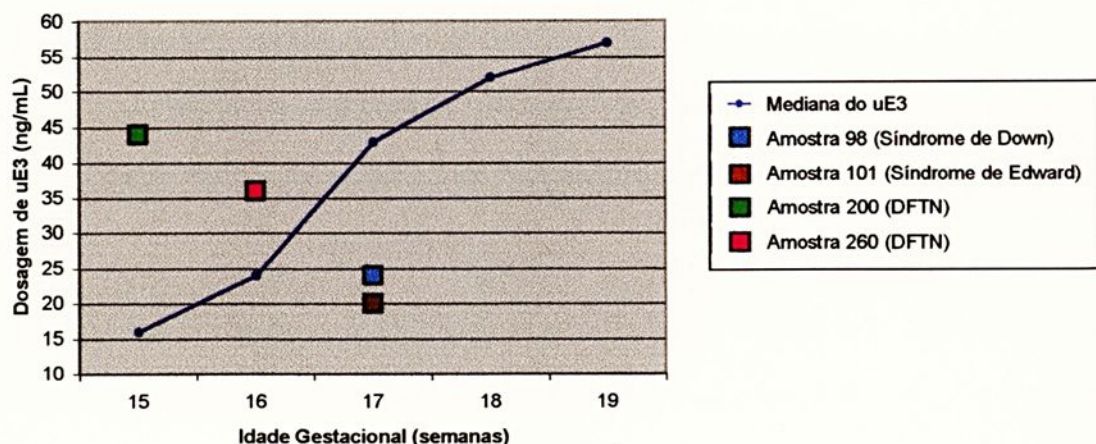
DFTN = Defeito de Fechamento do Tubo Neural

Figura 8 – Representação gráfica dos valores de mediana obtidos para a concentração de AFP nos diferentes grupos de pacientes classificados segundo a idade gestacional. Evidenciam-se graficamente valores de mediana, dessa substância, obtidos de quatro amostras que foram excluídas por apresentarem fetos com doenças.



DFTN = Defeito de Fechamento do Tubo Neural

Figura 9 – Representação gráfica dos valores de mediana obtidos para a concentração de hCG nos diferentes grupos de pacientes classificados segundo a idade gestacional. Evidenciam-se graficamente valores de mediana, dessa substância, obtidos de quatro amostras que foram excluídas por apresentarem fetos com doenças.



DFTN = Defeito de Fechamento do Tubo Neural

Figura 10 – Representação gráfica dos valores de mediana obtidos para a concentração de uE3 nos diferentes grupos de pacientes classificados segundo a idade gestacional. Evidenciam-se graficamente valores de mediana, dessa substância, obtidos de quatro amostras que foram excluídas por apresentarem fetos com doenças.

3 Discussão

5. DISCUSSÃO

É conhecido o fato de que aproximadamente 2% das crianças nascem com doença congênita grave (Hickey et al., 1976). Entre elas, destaca-se a síndrome de Down, não só pela alta prevalência que apresenta, mas também pela grande elevação de incidência que causa (Kline e Simpson, 1992). O diagnóstico pré-natal de muitas dessas anomalias tornou-se possível há algumas décadas, porém os métodos utilizados até agora e, portanto, com potencial considerável de complicações, são aqueles de período gestacional. Em função desse fato, a indicação desse procedimento de diagnóstico foi restrita aos grupos considerados de alto risco.

No caso das doenças de fechamento do tubo neural, o risco de ocorrência era uma variável que dependia de fatores ambientais (Corwin et al., 1984), enquanto, no caso da síndrome de Down, era calculado pela idade materna, apresentando uma elevação crítica acima de 35 anos (National Institute for Child Health and Development, 1975). Com o advento da tecnologia, foi possível aumentar a sensibilidade e a especificidade de métodos de diagnóstico pré-natal e, a partir de 1972 e 1984, foram realizados estudos com marcadores bioquímicos para os defeitos de fechamento do tubo neural e para a síndrome de Down, respectivamente (Ruck et al., 1972; Merz et al., 1984). Mais recentemente, surgiram os marcadores ultra-sonográficos (Cann et al., 1991; Nicolaides et al., 1992; Vaidyanathan et al., 1995) que têm recebido atenção especial de muitos autores, inclusive no Brasil (1998).

5. Discussão

A primeira referência estruturada como marcador bioquímico com o papel marcador foi o AFP (Merkley et al., 1964) e, subsequentemente, a HCG (Bogart et al., 1967) e o α -fetoproteína (Chen et al., 1988). Em muitos países, principalmente nos mais desenvolvidos, estes marcadores são utilizados no protocolo de rastreamento pré-natal de os defeitos do tubo neural.

5. DISCUSSÃO

É conhecido o fato de que aproximadamente 2% das crianças nascem com doenças congênitas graves (Holmes *et al.*, 1976). Entre elas, destaca-se a síndrome de Down, não só pela alta prevalência que apresenta, mas também pelo grau elevado de incapacidade que causa (Elias e Simpson, 1992). O diagnóstico pré-natal de muitas dessas anomalias tornou-se possível há algumas décadas, porém os métodos utilizados são invasivos e, portanto, com potencial considerável de complicações, até mesmo de perdas gestacionais. Em função desse fato, a indicação desses procedimentos de diagnóstico fica restrita aos grupos considerados de alto risco.

No caso dos defeitos de fechamento do tubo neural, o risco de ocorrência em uma irmandade era determinado pelos antecedentes familiares (Cowchock *et al.*, 1980), enquanto na síndrome de Down, era calculado pela idade materna, mostrando uma elevação crítica acima de 35 anos (National Institute for Child Health and Development, 1975). Com o evoluir da tecnologia, foi possível aumentar a sensibilidade das metodologias de rastreamento dessas e de outras doenças e, a partir de 1972 e 1984, foram iniciados estudos com marcadores bioquímicos para os defeitos de fechamento do tubo neural e para a síndrome de Down, respectivamente (Brock *et al.*, 1972; Merkatz *et al.*, 1984). Mais recentemente, surgiram os marcadores ultra-sonográficos (Crane *et al.*, 1991; Nicolaides *et al.*, 1992; Vintzileos *et al.*, 1995) que têm merecido atenção especial de muitos autores, inclusive no Brasil (Montenegro *et al.*, 1998).

A primeira substância introduzida como marcador bioquímico com o papel rastreador foi a AFP (Merkatz *et al.*, 1984) e, subsequente, a hCG (Bogart *et al.*, 1987) e o uE3 (Canick *et al.*, 1988). Em muitos países, principalmente nos mais desenvolvidos, esses compostos são mantidos no protocolo de rastreamento pré-natal até os dias de hoje. No Brasil,

o rastreamento pré-natal ainda encontra-se em fase inicial. Em função das dimensões continentais do país a maioria dos estudiosos na área de medicina fetal acredita que os marcadores bioquímicos seriam uma ótima proposta, considerando que não exigem a presença da gestante no momento da avaliação, ao contrário do que acontece com a ultra-sonografia. Esses mesmos especialistas, porém, criticam esse método porque não são utilizadas curvas de normalidade para a população brasileira, que possam servir de base para o cálculo de riscos com maior fidedignidade (Montenegro *et al.*, 1998).

O presente estudo foi realizado com objetivo de elaborar, pelo método de radioimunoensaio, uma curva com valores de concentração de alfa-fetoproteína, estriol livre e gonadotrofina coriônica humana presentes no soro de gestantes brasileiras consideradas normais, entre a 15ª e 19ª semanas de gravidez. De maneira geral, os resultados mostraram elevação dos níveis de **AFP** e **estriol livre** com o aumento da idade gestacional e decréscimo nos níveis de **beta hCG**.

A variação dos valores de **AFP** encontrada nessas gestantes foi de 25,16 a 35,74 UI/mL, enquanto a variação dos valores de **hCG** foi de 22,07 a 43,66 UI/mL e de **uE3** foi de 0,80 a 2,85 ng/mL. Esses marcadores bioquímicos mudam com o evoluir da gestação sendo, portanto, necessário levar em consideração a idade gestacional correta no dia da colheita para interpretação dos dados.

Das 509 gestantes que participaram do estudo, foram selecionadas 450 que apresentavam todos os critérios de inclusão, ou seja, estarem no período gestacional compatível com o estudo, não portarem conceptos com anomalias e não apresentarem doenças, como *diabetes mellitus*, ou não terem antecedentes gestacionais de defeito de fechamento do tubo neural.

Refletindo as características da população estudada, que é procedente do centro-oeste do estado de São Paulo e de nível sócio econômico elevado, observou-se que 98% das

gestantes eram caucasóides, concordante com a população que realiza outros tipos de exames na clínica onde foram obtidas as amostras. As idades variaram de 15 a 44 anos, sendo a média de 29,82 anos e a mediana de 30 anos, e os pesos variaram de 35 a 111 Kg com média de 62,52 Kg e mediana de 60 Kg.

Os marcadores séricos utilizados no rastreamento de anomalias fetais, durante o segundo trimestre da gravidez, são de origem fetal ou placentária e tendem a ser mais diluídos em mulheres mais pesadas, nas quais o volume sangüíneo é maior (Wald *et al*, 1981; Haddow *et al*, 1981). Em consequência, muitos centros de diagnóstico pré-natal, quando emitem seus laudos, têm realizado ajustamentos nos níveis de **AFP, beta hCG e estriol livre**, baseados no peso materno, uma vez que o nível dessas variáveis, como citado acima, decresce com o ganho ponderal das gestantes (Polomaki *et al*. 1990).

Para correção desse parâmetro no caso da AFP, depois do cálculo de seu múltiplo (MoM), o valor obtido deve ser submetido a um ajustamento, sendo dividido por um fator fornecido pela seguinte fórmula: $10^{(0,2658 - 0,00188 * 2,2046 * P)}$, onde **P** é o peso materno em kg (Knight *et al*, 1988). Com este procedimento, elimina-se a interferência ocasionada pela massa corpórea materna na interpretação dos dados. O mesmo ajustamento acima deve ser realizado com hCG e eE3 utilizando as fórmulas de correção, respectivamente: $10^{(0,251 - 0,00169 * 2,2046 * P)}$, e $10^{(0,103 - 0,0071 * 2,2046 * P)}$, onde **P** é o peso materno em kg (Palomaki *et al*, 1990). Recentemente, outra forma de ajustamento de peso materno tem sido sugerida, baseada numa relação linear entre os níveis dos marcadores séricos (em MoM) e o recíproco peso materno (Neveux *et al*, 1996). Porém, tanto os relatos de Neveux (1996) como de Watt & Wald (1998) concluíram que os dois métodos de ajustamento para o peso materno produzem resultados semelhantes.

Em 1997, Van Der Veen e colaboradores estudaram a performance do rastreamento para síndrome de Down usando dados de 15 países da Europa, considerando dois tipos de



rastreamento, o primeiro baseado apenas na idade materna e o segundo, na combinação da idade materna com marcadores bioquímicos. Os autores constataram que a taxa de detecção para a síndrome de Down com base na combinação de dados foi o dobro da primeira. Entretanto, para o mesmo tipo de rastreamento, foi encontrada uma taxa de sensibilidade um pouco diferente para cada país, provavelmente em função de variações populacionais e indicando a necessidade de padronizações regionais.

No presente estudo, os valores observados de mediana do peso materno, bem como os valores de mediana dos marcadores bioquímicos, são muito semelhantes àqueles encontrados por outros autores, tanto na literatura internacional (Robert Maciel Associates, 1993; Onda *et al.*, 1996; Neveux *et al.*, 1996; Watt e Wald, 1998), como na nacional (Moron *et al.*, 1994; Vieira Neto *et al.*, 1996; Patta *et al.*, 1999). No caso da população brasileira, os dados sobre marcadores bioquímicos utilizados no rastreamento pré-natal são bastante escassos. Por exemplo, Moron e colaboradores, em 1994, estabeleceram valores normais apenas para a alfa-fetoproteína em 874 gestantes da cidade de São Paulo, utilizando técnica fornecida pelo laboratório Abbott, e os valores medianos observados entre a 14^a e a 20^a semana de gestação variaram de 30,0 a 85,0 ng/mL; mais elevados, portanto, que os determinados no presente trabalho, em função da utilização de metodologia diferente.

Vieira Neto *et al.* (1996), por outro lado, determinaram os valores de normalidade para AFP, fração livre da subunidade beta da hCG e uE3 em 1639 gestantes avaliadas no laboratório do Centro de Diagnóstico e Pesquisa Dr. Raimundo Brito da cidade do Rio de Janeiro e as medianas citadas foram similares àquelas observadas neste estudo, embora as características étnicas das duas populações sejam provavelmente diferentes.

O estudo de Patta (1999), recentemente finalizado, na Universidade de São Paulo, estabeleceu valores normais para AFP, hCG e uE3 em 283 gestantes da região de Ribeirão Preto, SP, selecionadas entre a 14^a e a 19^a semana de gestação, utilizando duas metodologias,



radioimunoensaio para as três substâncias e técnica baseada em quimioluminescência apenas para AFP e uE3. Os valores foram semelhantes aos obtidos neste trabalho, refletindo provavelmente populações com características próximas.

A comparação dos dados de alguns trabalhos da literatura internacional e nacional com os do presente trabalho (Tabela 6) mostrou correlação positiva entre eles, após utilização do método de correlação de Pearson. Esse resultado indica que, embora tenham sido publicados dados enfatizando a influência das diferenças étnicas na determinação das variáveis aqui estudadas (Crandall *et.al.*, 1993; Muller *et.al.*, 1994; Watt *et.al.*, 1996), provavelmente apenas diferenças determinadas por técnicas ou kits distintos devem ser levadas em consideração, ou seja, o laboratório que se propõe a realizar tais dosagens deve padronizar sua metodologia.

O objetivo do presente trabalho foi elaborar curvas de marcadores bioquímicos em pacientes normais e, durante seu desenvolvimento, foram analisadas quatro pacientes, posteriormente excluídas por gestações de fetos com malformações. Duas dessas pacientes (casos 200 e 260, Tabela 5), que apresentaram fetos com defeito de fechamento do tubo neural, exibiram múltiplos de mediana (MoM) da variável AFP compatíveis com risco elevado segundo Wald *et al.* (1977), ou seja, superiores a 2,5 e esses dados podem ser visualizados graficamente na Figura 8. Com relação à amostra 98, que se tratava de uma portadora de feto com síndrome de Down, os valores de mediana das três variáveis, em conjunto, alteraram-se suficientemente para incluí-la como uma gestante com risco elevado para essa doença. Embora a sensibilidade do método de rastreamento baseado nos múltiplos de mediana de marcadores bioquímicos no segundo trimestre de gravidez ser de aproximadamente 60% (Wald *et al.*, 1988), os resultados desse caso teriam permitido a sua inclusão no grupo de alto risco. O quarto caso, que se tratou de uma gestante portadora de feto com síndrome de Edward, apresentou nível das três variáveis bioquímicas compatível com risco elevado para essa síndrome (Canick *et. al.*, 1990; Haddow *et. al.*, 1992), confirmando a



sensibilidade do método rastreador em relação à trissomia do cromossomo 18 (Canick *et. al.*, 1990).

Os valores de medianas das variáveis aqui estudadas poderão ser utilizados como padrão de normalidade no rastreamento de anomalias congênitas, entre elas, síndrome de Down e defeitos de fechamento do tubo neural. Com a determinação, em estudos futuros, dos níveis dessas variáveis em gestantes brasileiras portadoras de fetos com tais anomalias, será possível estabelecer, com maior precisão, o nível de corte que justifique procedimentos invasivos para diagnóstico dessas doenças.

Tab. 8 - Comparação dos valores de medianas de marcadores bioquímicos relacionados com a trissomia normal em 13ª e 18ª semanas de gravidez.

	Mediana de 100 gestantes									
	10	15	17	18	19	20	21	22	23	24
Acetilcolina	24,00	27,00	34,00	38,00	41,00	39,00	37,00	35,00	33,00	31,00
Albúmina, 1989*										
Meyer <i>et al.</i> , 1984	38,00	42,00	50,00	55,00	60,00					
Cordani <i>et al.</i> , 1985*	32,00	35,00	40,00	45,00	50,00	55,00	60,00	65,00	70,00	75,00
Vieira Neto <i>et al.</i> , 1989*	30,00	34,25	39,00	44,00	50,00	55,00	60,00	65,00	70,00	75,00
Pinto, 1989*	25,00	28,00	32,00	36,00	40,00	45,00	50,00	55,00	60,00	65,00
Proença <i>et al.</i> , 1989*	30,00	32,00	35,00	38,00	42,00	45,00	50,00	55,00	60,00	65,00

* dados obtidos por autorizações
 e dados obtidos por autorizações
 e dados obtidos por autorizações

Tabela 8 – Comparação dos valores de mediana de marcadores bioquímicos referidos pela literatura e pelo presente trabalho em gestantes normais nas 15^a a 19^a semanas de gravidez.

Referências	Medianas da AFP (ng/mL)					Medianas do hCG (UI/mL)					Medianas do uE3 (ng/mL)				
	15	16	17	18	19	15	16	17	18	19	15	16	17	18	19
Maciel, 1993 *	24,00	27,00	31,00	36,00	41,00	39,10	28,30	23,70	21,70	20,90	0,69	0,86	1,08	1,35	1,69
Moron <i>et al.</i> , 1994 @	38,00	45,00	50,00	55,00	70,00										
Onda <i>et al.</i> , 1996 *	32,00	38,00	45,00	55,00	66,00	56,00	40,00	34,00	32,00	31,00	0,74	1,03	1,33	1,62	1,91
Vieira Neto <i>et al.</i> , 1996 ▢	30,10	34,28	39,02	44,40	50,56	16,44	13,38	11,29	9,88	8,91	2,12	2,64	3,28	4,08	5,08
Patta, 1999 *	25,35	34,40	33,85	48,30	48,90	31,98	18,69	12,84	10,34	7,02	1,20	1,76	2,30	2,63	3,30
Presente trabalho *	30,44	32,69	36,20	42,13	43,25	43,66	32,73	28,05	25,73	22,07	0,80	1,20	2,15	2,60	2,85

* dados obtidos por radioimunoensaio

@ dados obtidos por enzimoimunoensaio

▢ dados obtidos por fluoroimunoensaio



6. CONCLUSÕES

As conclusões obtidas no presente trabalho são resumidas a seguir:

1. A idade materna ao término do parto materno, não mostrou variação significativa entre os vários grupos de mulheres selecionados quanto a idade gestacional.
2. Os valores de AFP mostraram elevação nos níveis séricos maternos a medida que a idade gestacional progredia de 15ª semana a 19 semana.
3. Os valores de hCG mostraram decréscimo nos níveis séricos maternos a medida que a idade gestacional progredia de 15ª semana a 19 semana.
4. Os valores de uE3 mostraram elevação nos níveis séricos maternos a medida que a idade gestacional progredia de 15ª semana a 19 semana.
5. Os valores de mediana de peso materno, bem como os valores de mediana dos marcadores bioquímicos AFP, hCG e uE3 foram correspondentes àquelas encontradas por outros autores na literatura internacional como na nacional.
6. As variáveis analisadas são de importância para caracterização dos dados das populações.

6. Conclusões

6. CONCLUSÕES

As conclusões obtidas no presente trabalho são resumidas a seguir.

1. A idade materna, ao contrário do peso materno, não mostrou variação significativa entre os vários grupos de mulheres selecionadas quanto à idade gestacional.
2. Os valores de AFP mostraram elevação nos níveis séricos maternos a medida que a idade gestacional progrediu da 15ª semana à 19 semana.
3. Os valores de hCG mostraram decréscimo nos níveis séricos maternos a medida que a idade gestacional progrediu da 15ª semana à 19 semana.
4. Os valores de uE3 mostraram elevação nos níveis séricos maternos a medida que a idade gestacional progrediu da 15ª semana à 19 semana.
5. Os valores de mediana do peso materno, bem como os valores de mediana dos marcadores bioquímicos AFP, hCG e uE3 foram correspondentes àqueles encontrados por outros autores na literatura internacional como na nacional.
6. As variáveis analisadas não são influenciadas pelas características étnicas das populações.

7. Resultado



7. RESUMO

O rastreamento pré-natal de doenças congênitas pela dosagem de alfa-fetoproteína no soro materno tornou-se uma rotina na obstetrícia moderna. Originalmente, esse procedimento mostrou ser de grande valor na identificação de gestantes com risco de portarem fetos com defeito de fechamento do tubo neural e, posteriormente, revelou-se um indicador também de síndrome de Down. Mais recentemente, a avaliação de outras substâncias, particularmente a gonadotrofina coriônica humana e o estriol livre, também foi incorporada no rastreamento dessas doenças. O presente trabalho foi realizado com a proposta de determinar a distribuição normal de alfa-fetoproteína, gonadotrofina coriônica humana e estriol livre no soro materno de gestantes entre as 15ª e 19ª semanas. Com esse objetivo, foram colhidas 450 amostras de soro materno em pacientes normais atendidas no Centro de Avaliação Materno Fetal na cidade de São José do Rio Preto, SP. A idade gestacional foi calculada com base na data da última menstruação e no exame ultrassonográfico obstétrico. A história clínica foi cuidadosamente investigada e foram excluídas gestações múltiplas, doenças cromossômicas no produto da concepção e *diabetes mellitus* materno. A técnica usada na mensuração desses marcadores bioquímicos foi a de radioimunoensaio. A distribuição de mediana para todas as variáveis foi correlacionada com idade gestacional, peso materno e idade materna. A comparação dos dados do presente trabalho com outros trabalhos brasileiros e de outros países mostrou correlação positiva entre eles e não confirmou as evidências da influência de diferenças étnicas na determinação das variáveis estudadas. A avaliação dos dados de algumas pacientes excluídas por gestações de fetos com malformações sugeriu que a curva é sensível a alterações das variáveis estudadas.



Palavras chaves: alfa fetoproteína, gonadotrofina coriônica humana, estriol livre, rastreamento pelo soro materno, diagnóstico prenatal.

8. Abstract



8. ABSTRACT

The prenatal screening for congenital diseases using maternal serum alpha-fetoprotein levels has become a routine component of modern obstetric management. Originally, such screening showed to be of great value in identifying pregnancies at increased risk for fetal open neural tube defects and also for Down syndrome. More recently, the valuation of chorionic gonadotropin and unconjugated estriol was also incorporated to screening programs. The aim of the present study was to establish the distribution of alpha-fetoprotein, chorionic gonadotropin and unconjugated estriol in the maternal serum of Brazilian pregnant women at weeks 15 to 19. In order to achieve this purpose, 450 samples of maternal serum of normal women recruited in the Centro de Avaliação Materno Fetal in São José do Rio Preto, SP, were drawn. The gestational age was calculated according to the last menstrual period and ultrasound data. The clinical history was carefully obtained and patients presenting *diabetes mellitus*, multiple pregnancies and fetus with malformations were excluded. The techniques used to measure these maternal serum biochemical markers were based on radioimmunoassay. The distribution of median was correlated with gestational age, maternal weight and maternal age. Comparison of the present data with other data from Brazilian and foreign populations showed a positive correlation but did not confirm the influence of ethnic differences on the serum marker levels. The analysis of data from four patients presenting fetus with malformations suggested that the curve presently obtained is sensitive to variations in such serum markers.

Key words: alpha-fetoprotein, human chorionic gonadotropin, unconjugated estriol, maternal serum screening, prenatal diagnosis.



Tabela 1 - Valores da concentração de AFP, hCG, α FE3, idade gestacional e peso materno obtidos das 78 pacientes com idade gestacional entre 15,0 e 15,9 semanas (DUM = dados baseados na última ultrassonografia; US = dados baseados na ultra-sonografia)

Pacientes	Dosagem AFP (ng/mL)	Dosagem hCG (mIU/mL)	Dosagem α FE3 (ng/mL)	Idade Gestacional	Idade Materna	Peso Materno
11	24,87	36,99	1,10	15,7 DUM	29	55
15	16,70	78,09	1,00	15,4 DUM	29	46
18	12,09	15,89	2,09	15,7 DUM	31	28
17	23,19	29,90	1,30	15,3 DUM	29	62
20	30,90	47,90	1,70	15,1 DUM	27	63
24	23,06	152,00	0,60	15,4 DUM	27	53
25	34,50	46,00	1,10	15,7 DUM	30	59
28	109,93	21,20	5,99	15,1 DUM	29	57
31	46,96	48,70	2,20	15,7 DUM	29	51
34	7,50	20,60	6,90	15,3 US	29	60
40	17,89	23,59	0,70	15,7 DUM	29	54
42	22,19	43,10	0,70	15,9 US	29	50
47	14,00	26,79	0,09	15,7 DUM	30	63
46	31,59	52,20	0,09	15,3 DUM	37	68
50	59,90	72,00	0,09	15,7 DUM	28	52
51	25,42	63,29	0,30	15,4 DUM	30	69
55	27,09	49,40	0,40	15,9 DUM	28	65
59	33,09	65,50	0,49	15,1 DUM	30	67
69	30,09	22,40	1,40	15,3 DUM	29	64
70	30,09	46,00	0,09	15,3 US	32	58
71	18,94	48,09	0,10	15,7 DUM	32	64
74	13,39	49,59	0,20	15,3 US	28	62
78	30,09	67,70	0,89	15,1 DUM	31	67
95	30,40	46,09	1,00	15,3 DUM	33	67
100	27,00	37,40	0,40	15,9 US	24	59
116	19,90	49,10	1,30	15,1 DUM	30	54
122	36,30	116,00	1,00	15,7 DUM	26	60
123	23,39	16,20	0,60	15,9 US	24	70
167	30,43	23,59	0,69	15,8 DUM	33	47
159	24,30	43,00	0,53	15,1 DUM	28	57
162	24,09	62,09	0,30	15,7 US	37	59

9. Apêndice

Tabela 1 - Valores da concentração de AFP, hCG, uE3, idade materna e peso materno obtidos das 78 pacientes com idade gestacional entre 15,0 e 15,9 semanas. (DUM = datação baseada na última menstruação; US = datação baseada na ultra-sonografia)

Pacientes	Dosagem AFP (ng/ml)	Dosagem hCG (UI/ml)	Dosagem uE3 (ng/ml)	Idade Gestacional	Idade Materna	Peso Materno
11	21,89	36,00	1,10	15,7 DUM	29	62
15	19,70	78,00	1,80	15,4 DUM	35	46
16	20,99	15,80	2,00	15,7 DUM	31	76
17	23,99	29,90	1,30	15,3 DUM	29	62
20	36,00	47,60	1,70	15,1 DUM	27	53
24	25,00	152,00	0,60	15,4 DUM	27	53
25	34,90	46,00	1,10	15,7 DUM	36	56
26	109,99	21,00	8,60	15,1 DUM	33	57
31	65,95	45,70	2,20	15,7 DUM	28	51
34	7,50	26,80	0,90	15,3 US	29	60
40	17,99	26,50	0,70	15,7 DUM	29	54
42	22,19	43,10	0,70	15,0 US	29	56
47	14,00	35,70	0,60	15,7 DUM	39	83
48	31,99	52,20	0,90	15,9 DUM	37	68
50	59,00	72,00	0,60	15,7 DUM	26	52
51	55,42	43,20	0,10	15,4 DUM	30	69
56	27,00	49,40	0,40	15,9 DUM	26	65
68	33,00	15,50	0,40	15,1 DUM	30	57
69	30,99	22,40	1,50	15,9 DUM	29	64
70	39,99	45,00	0,90	15,0 US	32	56
71	16,54	48,00	0,10	15,7 DUM	32	64
74	33,99	48,80	0,50	15,7 US	25	52
79	39,99	67,70	0,60	15,1 DUM	37	62
95	30,40	46,00	1,00	15,3 DUM	33	57
103	27,00	37,40	0,40	15,9 US	24	63
114	15,90	49,10	1,50	15,1 DUM	30	54
122	39,80	116,00	1,00	15,7 DUM	26	66
123	23,50	16,20	0,60	15,0 US	34	76
157	30,49	33,90	0,60	15,6 DUM	35	47
159	33,30	43,00	0,50	15,1 DUM	29	57
162	33,99	82,00	0,30	15,7 US	37	59

(cont.)

166	29,90	32,80	0,50	15,9 DUM	32	51
168	32,90	22,60	0,40	15,7 DUM	34	60
173	33,99	76,50	0,70	15,4 DUM	34	35
175	30,49	48,70	0,60	15,6 US	27	71
186	22,99	36,00	0,70	15,1 DUM	32	55
197	10,64	87,00	0,90	15,1 DUM	31	55
199	22,70	81,00	0,80	15,6 DUM	35	49
203	11,59	69,00	0,80	15,9 DUM	35	53
208	24,67	22,00	1,00	15,9 DUM	39	81
213	31,19	17,90	4,60	15,7 DUM	23	61
218	22,19	20,70	0,40	15,6 DUM	34	62
222	16,19	62,00	0,30	15,4 DUM	24	50
233	26,10	68,90	0,80	15,3 DUM	27	60
237	22,99	103,00	0,70	15,3 DUM	34	66
248	31,10	49,40	0,70	15,9 US	31	97
249	26,31	33,10	0,80	15,9 DUM	31	73
256	13,10	106,00	0,80	15,1 DUM	35	49
267	25,70	36,70	1,90	15,1 DUM	35	63
289	30,70	44,40	0,70	15,1 DUM	38	51
304	18,49	96,00	0,30	15,4 DUM	38	90
314	26,39	98,00	0,60	15,4 DUM	34	51
319	23,79	44,30	0,40	15,7 DUM	26	59
322	17,99	70,00	0,60	15,7 DUM	32	71
327	54,79	34,10	0,40	15,6 DUM	30	60
330	31,19	85,00	1,00	15,1 DUM	34	62
347	45,80	38,20	0,80	15,6 DUM	29	81
357	21,79	55,51	9,40	15,9 DUM	25	61
365	21,39	29,25	0,25	15,7 DUM	30	77
381	38,70	21,40	3,20	15,1 DUM	37	54
384	77,90	70,99	1,00	15,3 DUM	36	62
385	22,30	14,91	1,10	15,6 DUM	30	54
397	39,00	32,12	0,30	15,7 DUM	36	58
401	23,00	40,80	2,90	15,7 DUM	28	61
406	14,50	36,80	1,30	15,4 DUM	29	54
416	44,79	25,30	0,40	15,1 DUM	34	64
425	52,60	38,28	0,60	15,4 US	23	62
426	62,00	47,06	1,00	15,0 DUM	39	59



(cont.)

427	36,70	47,45	1,70	15,1 DUM	37	61
431	31,99	24,33	1,30	15,0 US	30	56
437	26,39	20,87	1,00	15,7 DUM	30	62
449	67,99	19,46	2,50	15,7 US	30	60
450	62,50	33,95	1,20	15,4 DUM	27	54
456	32,60	41,14	1,80	15,0 US	37	57
462	36,99	28,43	2,50	15,0 DUM	44	56
480	67,99	47,97	4,00	15,6 US	34	54
497	58,00	44,12	1,10	15,6 DUM	36	53
505	23,30	47,40	2,60	15,4 DUM	23	69

Tabela 2 - Valores da concentração de AFP, hCG, uE3, idade materna e peso materno obtidos das 132 pacientes com idade gestacional entre 16,0 e 16,9 semanas. (DUM = datação baseada na última menstruação; US = datação baseada na ultra-sonografia)

Pacientes	Dosagem	Dosagem	Dosagem	Idade	Idade	Peso
	AFP (ng/ml)	hCG (UI/ml)	uE3 (ng/ml)	Gestacional	Materna	Materno
5	19,99	32,14	1,40	16,1 DUM	34	53
14	30,98	12,00	2,00	16,6 DUM	29	57
19	33,00	23,50	1,90	16,0 DUM	35	58
29	39,49	47,90	0,90	16,4 DUM	28	53
35	25,00	17,45	0,80	16,7 US	32	66
41	22,99	33,60	0,80	16,3 DUM	30	52
44	36,59	37,60	1,00	16,7 DUM	28	88
45	22,40	48,90	0,80	16,0 US	19	47
46	25,49	27,20	1,00	16,1 DUM	29	53
57	37,99	34,40	0,70	16,6 US	34	62
58	39,00	19,30	0,90	16,1 DUM	25	67
61	42,00	84,00	1,10	16,7 DUM	38	61
62	34,99	28,60	1,00	16,4 DUM	35	70
80	30,00	107,00	0,60	16,3 DUM	31	56
81	14,00	26,70	0,90	16,0 DUM	25	72
85	39,89	43,80	2,50	16,9 DUM	26	60
86	36,99	107,00	1,40	16,0 DUM	28	55
87	45,98	31,30	0,80	16,1 US	31	58
88	37,99	47,80	1,50	16,7 US	31	51
90	42,40	42,50	1,07	16,1 DUM	30	58
91	34,99	30,50	1,50	16,4 DUM	33	67
94	18,39	33,30	1,10	16,1 US	30	67
96	20,90	9,76	1,00	16,1 DUM	26	65
117	16,00	18,70	1,40	16,0 DUM	30	59
118	49,30	18,70	2,00	16,7 DUM	26	51
120	24,49	23,70	1,70	16,1 DUM	38	56
124	28,99	10,40	0,70	16,7 DUM	31	76
126	58,00	46,70	2,00	16,4 DUM	27	64
130	23,50	67,80	1,40	16,6 DUM	26	60
131	38,49	58,00	2,50	16,0 DUM	31	59
132	39,00	5,50	1,60	16,4 DUM	27	71

(cont.)

135	44,00	40,30	4,00	16,6 DUM	23	53
140	37,99	43,20	1,50	16,9 DUM	26	58
143	58,00	49,00	4,50	16,4 DUM	32	62
155	25,99	43,10	0,40	16,1 DUM	27	61
160	31,50	33,90	0,50	16,1 DUM	34	60
167	34,69	42,70	1,50	16,7 DUM	28	52
170	50,59	50,30	1,00	16,0 DUM	32	60
178	95,89	86,00	4,60	16,4 US	32	53
188	24,89	15,90	1,10	16,3 DUM	35	65
189	13,70	25,90	0,60	16,1 DUM	31	80
190	11,59	32,30	0,90	16,1 DUM	28	57
192	21,09	42,00	0,80	16,3 DUM	22	54
198	32,79	28,00	1,30	16,7 DUM	30	61
205	25,89	12,80	1,50	16,4 DUM	28	62
206	27,89	67,00	1,30	16,7 DUM	29	52
207	18,49	57,00	0,40	16,1 DUM	29	55
209	18,20	79,00	1,00	16,0 DUM	34	66
211	35,60	42,30	1,00	16,6 DUM	25	54
212	29,60	26,60	1,00	16,6 DUM	30	59
215	24,09	39,50	1,40	16,0 DUM	28	62
217	40,29	31,60	0,50	16,7 DUM	36	59
219	34,99	51,90	1,20	16,3 DUM	33	63
220	25,19	31,40	1,80	16,0 DUM	27	70
226	45,90	36,70	0,90	16,9 DUM	31	55
227	26,69	63,80	0,60	16,3 DUM	34	60
228	18,49	28,80	1,00	16,6 DUM	24	59
230	19,19	49,90	1,30	16,4 DUM	23	60
231	28,80	26,30	1,80	16,3 DUM	27	78
232	56,10	71,30	1,40	16,6 US	28	39
239	25,41	37,89	0,60	16,9 DUM	15	60
242	19,19	41,50	1,20	16,1 DUM	26	46
243	12,39	17,30	2,80	16,3 DUM	33	61
247	47,30	92,00	1,40	16,3 US	31	57
250	43,60	84,40	0,60	16,9 DUM	38	57
251	34,19	48,10	1,10	16,9 DUM	31	60
252	57,40	37,80	0,50	16,3 DUM	32	50
254	26,90	15,40	0,10	16,7 DUM	33	67



(cont.)

258	31,61	83,00	0,70	16,4 DUM	30	68
262	12,50	10,46	0,70	16,6 DUM	33	86
266	18,00	31,70	1,70	16,4 DUM	32	70
268	36,30	29,20	0,90	16,7 DUM	27	54
271	22,80	23,90	0,60	16,0 US	25	69
272	23,60	47,80	0,60	16,7 DUM	32	68
274	30,50	17,40	1,00	16,9 DUM	23	53
278	32,79	29,20	1,30	16,4 DUM	22	65
280	35,79	37,00	1,30	16,1 DUM	26	48
282	18,79	52,00	1,20	16,6 DUM	25	73
285	59,00	10,90	0,90	16,9 DUM	32	67
286	47,19	48,00	1,10	16,4 DUM	28	64
291	44,30	13,50	1,40	16,7 DUM	39	71
293	16,49	25,50	1,50	16,6 DUM	28	59
294	19,99	15,80	1,50	16,7 DUM	32	99
300	28,10	21,78	0,30	16,7 DUM	24	58
303	68,99	53,00	0,10	16,6 DUM	35	55
315	47,59	23,20	3,90	16,7 DUM	34	49
317	19,70	32,30	2,80	16,1 DUM	38	54
324	23,79	17,90	1,20	16,4 DUM	32	59
335	33,00	33,00	0,70	16,6 DUM	28	44
338	27,30	26,30	1,30	16,6 DUM	40	66
343	42,99	56,90	3,90	16,4 DUM	37	54
361	60,50	99,99	20,10	16,1 DUM	28	67
366	54,99	90,32	30,00	16,0 DUM	29	76
367	12,39	45,00	0,90	16,4 US	26	89
378	39,33	62,70	4,70	16,7 DUM	32	50
382	26,60	39,21	1,20	16,7 DUM	25	59
386	20,61	41,00	4,00	16,3 DUM	28	57
389	46,31	58,14	0,70	16,6 DUM	41	90
390	20,30	9,28	1,60	16,6 DUM	22	72
391	36,00	17,64	0,80	16,9 DUM	41	61
393	32,40	21,35	4,70	16,4 US	31	73
396	50,30	27,19	1,30	16,1 DUM	37	59
399	36,09	27,09	0,50	16,0 DUM	33	54
400	32,29	18,44	2,10	16,0 US	39	57
402	61,70	23,25	1,50	16,6 DUM	24	74

(cont.)

403	32,60	32,46	3,30	16,7 DUM	30	59
407	34,61	8,59	1,90	16,4 US	30	68
408	31,30	25,60	2,00	16,4 DUM	39	63
409	30,00	29,57	1,20	16,3 DUM	37	53
410	49,30	45,50	1,10	16,9 DUM	22	64
412	44,70	44,19	0,50	16,1 DUM	29	55
413	25,10	42,60	1,80	16,0 DUM	29	66
415	52,79	28,64	0,70	16,3 DUM	37	97
417	60,29	56,29	0,30	16,9 DUM	37	64
421	39,20	46,48	5,60	16,9 DUM	24	60
428	33,70	22,91	1,60	16,0 DUM	35	82
434	27,70	30,66	1,00	16,3 DUM	38	60
435	32,49	46,78	0,70	16,0 DUM	29	54
436	49,97	66,80	1,50	16,7 US	35	58
444	32,09	12,50	3,00	16,4 DUM	32	83
447	53,89	46,67	2,10	16,3 DUM	37	59
461	39,99	24,65	3,90	16,4 DUM	29	60
463	54,79	44,23	2,70	16,6 DUM	32	66
464	32,20	40,64	1,40	16,6 DUM	29	59
474	23,69	18,84	1,00	16,3 DUM	31	69
475	31,99	9,63	1,00	16,1 DUM	40	73
477	33,80	15,70	1,80	16,9 US	38	82
494	30,30	25,10	1,30	16,1 DUM	33	51
496	26,10	36,00	1,30	16,0 DUM	18	60
502	40,21	26,40	1,50	16,4 DUM	30	69
503	35,40	22,28	1,50	16,9 DUM	29	56
507	40,90	28,93	0,20	16,4 DUM	29	57



Tabela 3 - Valores da concentração de AFP, hCG, uE3, idade materna e peso materno obtidos das 100 pacientes com idade gestacional entre 17,0 e 17,9 semanas. (DUM = datação baseada na última menstruação; US = datação baseada na ultra-sonografia)

Pacientes	Dosagem AFP (ng/ml)	Dosagem hCG (UI/ml)	Dosagem uE3 (ng/ml)	Idade Gestacional	Idade Materna	Peso Materno
2	33,70	25,90	2,80	17,0 DUM	38	79
3	44,00	29,40	3,20	17,9 DUM	21	50
7	57,79	34,90	5,00	17,6 DUM	25	69
8	33,99	45,60	5,50	17,3 DUM	32	81
10	53,99	71,00	4,00	17,0 US	34	58
13	39,00	7,40	3,00	17,9 DUM	31	70
18	19,00	13,80	5,70	17,0 DUM	24	65
22	39,99	18,90	2,20	17,7 DUM	30	60
27	42,99	20,40	0,70	17,7 DUM	33	66
32	30,98	39,30	1,70	17,3 DUM	38	48
43	42,00	15,20	1,00	17,6 DUM	32	59
53	39,69	30,80	0,70	17,3 DUM	21	56
54	37,99	22,20	2,20	17,3 DUM	22	60
59	30,79	10,60	2,00	17,0 DUM	34	68
60	40,99	45,70	1,50	17,6 DUM	30	56
65	23,50	29,90	1,50	17,6 DUM	26	51
89	53,00	30,30	1,20	17,1 DUM	22	57
93	23,50	19,80	1,00	17,3 DUM	27	76
105	30,99	15,70	3,10	17,7 DUM	28	51
109	30,49	12,30	0,30	17,7 US	36	111
110	50,00	271,00	4,00	17,1 DUM	28	64
113	37,99	34,80	3,50	17,9 DUM	38	58
116	25,80	12,20	1,50	17,4 DUM	24	85
127	20,99	23,40	0,40	17,0 DUM	37	59
134	20,50	15,90	2,00	17,7 DUM	32	69
138	15,79	38,60	2,70	17,4 DUM	27	61
139	38,70	48,30	2,90	17,0 DUM	30	50
141	56,99	42,60	1,60	17,0 DUM	27	53
142	16,49	35,90	0,80	17,4 DUM	23	69
146	56,00	29,10	3,00	17,9 DUM	33	74
148	51,99	55,00	1,90	17,6 DUM	35	59

(cont.)

151	52,49	33,40	3,00	17,6 DUM	26	58
156	30,79	15,50	1,00	17,1 DUM	30	53
158	24,30	49,60	1,30	17,9 DUM	36	76
169	29,79	31,40	1,00	17,6 DUM	23	67
171	49,39	27,80	3,10	17,0 US	17	43
172	31,59	22,80	2,90	17,1 DUM	25	59
174	38,39	17,80	2,70	17,4 DUM	29	65
180	13,19	41,60	0,50	17,3 DUM	29	82
181	25,49	39,50	2,30	17,4 DUM	28	69
185	49,79	17,50	1,80	17,6 DUM	27	56
187	25,89	23,70	0,30	17,4 DUM	36	75
193	36,00	42,10	2,30	17,6 DUM	23	62
195	32,39	12,50	1,70	17,6 DUM	33	75
196	38,49	32,40	4,10	17,7 DUM	33	66
204	25,89	25,30	1,40	17,4 DUM	32	49
210	31,19	36,00	2,40	17,3 DUM	34	56
224	18,20	39,30	0,60	17,9 DUM	27	87
234	58,30	50,25	2,50	17,4 DUM	26	50
236	36,40	39,30	2,70	17,4 DUM	20	64
241	65,29	84,00	1,10	17,7 DUM	27	52
245	11,80	81,00	0,10	17,0 DUM	27	53
255	26,10	21,80	0,80	17,9 DUM	30	77
259	14,50	126,00	0,50	17,4 US	27	78
265	37,90	28,30	3,80	17,4 DUM	31	61
275	31,71	8,40	20,00	17,3 DUM	35	68
284	73,89	41,50	1,60	17,0 DUM	33	52
290	25,29	42,70	1,60	17,6 DUM	42	51
295	32,49	14,20	3,60	17,1 US	37	70
296	47,70	19,60	4,00	17,7 DUM	28	62
301	31,40	26,50	3,90	17,9 DUM	33	68
306	37,69	10,70	2,60	17,9 DUM	25	69
307	45,99	39,10	4,50	17,4 DUM	36	58
311	47,70	32,30	3,60	17,7 DUM	27	54
313	18,89	18,80	0,80	17,1 DUM	20	57
323	27,89	34,00	0,70	17,1 DUM	25	82
325	30,00	24,10	2,70	17,0 DUM	24	60
333	27,49	10,10	1,50	17,4 DUM	29	65



(cont.)

344	47,59	52,60	1,60	17,4 DUM	30	59
348	70,35	47,83	2,50	17,4 DUM	32	62
353	44,00	39,00	3,50	17,4 DUM	27	54
360	35,79	17,67	19,60	17,3 DUM	25	66
362	59,29	36,10	22,70	17,3 DUM	31	66
371	47,09	42,35	0,40	17,9 DUM	22	85
377	29,79	16,34	2,10	17,4 DUM	28	55
383	38,60	9,25	1,60	17,6 DUM	29	77
387	34,21	17,30	2,50	17,3 DUM	32	55
388	26,91	31,70	0,90	17,1 DUM	39	51
392	33,71	27,60	1,40	17,3 DUM	32	57
394	20,40	31,40	0,60	17,6 DUM	33	70
395	31,70	5,77	2,80	17,4 DUM	30	92
398	36,51	13,16	0,80	17,6 DUM	35	51
411	40,60	22,47	2,00	17,9 DUM	21	64
414	26,40	30,02	2,40	17,7 US	31	59
418	22,09	6,87	0,70	17,3 DUM	26	66
424	52,50	15,45	4,70	17,4 DUM	35	55
429	31,80	7,11	0,90	17,1 DUM	33	59
430	37,99	12,00	2,80	17,7 DUM	30	55
439	38,39	30,95	3,00	17,1 DUM	38	78
441	44,29	14,71	1,50	17,6 DUM	25	71
451	70,59	7,54	2,90	17,4 DUM	27	54
460	61,30	58,21	3,00	17,1 DUM	41	66
468	56,69	37,20	4,00	17,9 DUM	32	58
470	13,41	42,89	2,60	17,1 DUM	25	63
476	68,69	20,90	2,70	17,0 DUM	41	64
478	22,09	8,80	1,90	17,1 US	37	67
483	36,70	13,20	1,30	17,7 DUM	34	100
484	58,59	25,70	1,70	17,4 DUM	27	50
493	23,20	37,00	1,00	17,7 DUM	32	97
498	69,31	7,70	2,30	17,3 DUM	31	67



Tabela 4 - Valores da concentração de AFP, hCG, uE3, idade materna e peso materno obtidos das 80 pacientes com idade gestacional entre 18,0 e 18,9 semanas. (DUM = datação baseada na última menstruação; US = datação baseada na ultra-sonografia)

Pacientes	Dosagem	Dosagem	Dosagem	Idade Gestacional	Idade Materna	Peso Materno
	AFP (ng/ml)	hCG (UI/ml)	uE3 (ng/ml)			
6	54,99	36,10	5,60	18,3 DUM	34	64
9	67,99	28,00	3,00	18,1 DUM	35	61
12	32,20	40,70	7,00	18,0 DUM	21	53
23	75,99	32,00	2,70	18,9 US	26	63
36	48,99	5,69	2,20	18,7 DUM	29	71
55	36,00	33,30	1,10	18,7 DUM	21	51
66	33,63	18,60	2,30	18,3 DUM	31	60
72	37,99	72,20	1,70	18,6 DUM	26	75
99	28,00	30,90	1,00	18,7 DUM	26	65
102	39,00	30,40	0,90	18,0 DUM	31	62
106	25,00	28,10	1,30	18,4 DUM	28	55
108	35,45	39,20	1,10	18,0 DUM	31	51
111	36,00	18,70	0,90	18,1 DUM	26	56
112	50,00	27,40	6,00	18,9 DUM	30	52
119	30,00	44,00	3,40	18,1 DUM	35	54
121	26,39	10,80	2,70	18,1 DUM	31	62
128	26,50	15,90	1,60	18,3 DUM	29	55
136	47,00	17,60	3,70	18,1 DUM	33	55
150	51,21	37,70	3,40	18,1 DUM	15	57
152	58,49	26,40	0,10	18,7 DUM	23	59
153	29,90	38,80	1,60	18,1 DUM	28	60
161	42,99	27,40	1,20	18,1 DUM	25	52
163	60,90	21,60	2,10	18,1 DUM	31	63
179	24,70	77,00	2,30	18,4 DUM	29	65
183	36,40	27,00	3,00	18,0 DUM	18	58
202	27,39	21,70	1,10	18,9 DUM	17	60
216	24,79	18,10	1,40	18,4 DUM	27	55
225	23,39	19,70	1,00	18,1 US	26	80
240	54,45	29,90	3,60	18,9 DUM	21	68
253	32,10	23,60	2,10	18,1 DUM	28	64
261	19,51	24,90	1,50	18,9 US	31	55

(cont.)

270	30,79	33,50	3,00	18,0 US	23	63
277	21,90	21,50	2,00	18,0 DUM	32	84
279	50,40	26,33	0,50	18,3 DUM	26	47
287	20,39	8,70	0,40	18,0 DUM	29	62
292	28,00	22,10	2,80	18,1 DUM	23	52
297	41,09	20,80	1,20	18,1 DUM	28	70
299	27,39	41,00	3,60	18,9 DUM	29	60
309	37,99	20,40	2,30	18,1 DUM	26	64
310	35,89	25,90	1,50	18,7 DUM	32	56
312	37,90	35,50	3,90	18,9 DUM	32	56
316	48,40	9,40	2,00	18,0 US	25	57
326	77,29	28,60	3,50	18,4 DUM	34	58
328	69,89	13,20	3,00	18,6 DUM	22	60
329	50,80	36,90	4,90	18,1 DUM	31	57
332	54,39	30,80	0,50	18,7 DUM	26	44
340	69,60	7,60	6,30	18,3 DUM	25	66
345	42,99	13,00	3,70	18,7 DUM	23	62
346	49,69	17,68	3,50	18,4 DUM	28	69
350	76,19	21,90	5,00	18,7 DUM	25	63
352	34,99	27,91	3,10	18,6 DUM	30	54
355	54,79	39,83	12,60	18,0 DUM	24	63
363	47,09	10,84	0,90	18,1 DUM	26	64
372	29,39	28,00	2,60	18,7 DUM	28	95
375	43,79	36,30	2,60	18,4 DUM	31	61
376	52,20	19,80	2,30	18,9 DUM	33	75
419	87,10	16,21	2,50	18,9 DUM	33	56
420	101,00	23,49	3,90	18,1 DUM	36	64
422	31,00	10,06	2,00	18,1 DUM	26	70
423	37,20	28,01	2,00	18,3 DUM	31	85
433	36,00	23,28	1,00	18,1 DUM	36	73
440	61,00	40,40	2,60	18,9 DUM	26	56
442	81,99	45,50	6,00	18,9 DUM	33	64
443	35,39	25,56	3,00	18,1 DUM	35	53
445	81,09	31,76	4,50	18,3 DUM	40	61
446	77,90	9,92	3,70	18,4 DUM	34	59
452	39,80	17,80	3,20	18,7 DUM	34	59
454	48,59	6,74	3,00	18,9 DUM	32	63



(cont.)

455	59,50	32,39	1,90	18,3 DUM	22	81
466	41,26	10,02	2,00	18,3 DUM	32	65
469	65,19	13,95	3,00	18,1 DUM	34	67
471	95,00	59,42	2,00	18,3 DUM	31	63
473	23,57	60,00	4,50	18,3 DUM	35	74
486	31,69	28,20	2,60	18,0 DUM	28	58
488	50,59	9,50	2,70	18,4 DUM	24	57
492	57,79	17,58	2,00	18,4 DUM	29	69
500	24,90	12,10	4,50	18,1 DUM	25	66
501	52,60	17,00	3,40	18,4 DUM	22	59
506	65,90	38,69	3,60	18,6 DUM	36	57
509	47,70	21,39	2,60	18,7 DUM	25	66

Tabela 5 - Valores da concentração de AFP, hCG, uE3, idade materna e peso materno obtidos das 60 pacientes com idade gestacional entre 19,0 e 19,9 semanas. (DUM = datação baseada na última menstruação; US = datação baseada na ultra-sonografia)

Pacientes	Dosagem	Dosagem	Dosagem	Idade	Idade	Peso
	AFP (ng/ml)	hCG (UI/ml)	uE3 (ng/ml)	Gestacional	Materna	Materno
21	33,49	41,80	1,80	19,1 DUM	21	72
30	80,49	42,50	3,30	19,7 DUM	30	60
38	45,86	16,50	2,80	19,6 DUM	21	48
63	39,99	14,40	1,00	19,3 DUM	26	62
67	42,00	16,60	2,20	19,6 US	30	68
75	44,00	9,77	3,70	19,0 DUM	27	60
82	42,00	30,00	1,80	19,0 DUM	30	61
83	39,99	16,00	2,90	19,6 US	28	65
84	39,49	21,40	1,60	19,9 US	23	51
107	28,99	10,10	1,60	19,6 DUM	26	71
115	39,00	26,30	1,90	19,3 DUM	28	65
125	53,00	44,50	3,00	19,3 DUM	29	58
133	28,80	27,80	4,00	19,0 DUM	32	76
144	71,50	26,10	3,70	19,7 DUM	19	48
145	46,79	27,10	2,60	19,0 US	43	63
164	39,80	9,80	1,70	19,1 DUM	28	63
182	41,30	34,80	1,40	19,1 DUM	28	60
194	48,99	42,00	4,20	19,3 DUM	41	62
201	40,20	33,90	2,10	19,1 DUM	31	68
214	31,59	27,30	2,00	19,7 DUM	29	56
221	56,80	36,70	1,60	19,9 DUM	28	61
244	29,79	24,00	1,00	19,4 US	28	56
246	59,50	66,00	1,90	19,7 DUM	33	56
257	60,00	28,80	4,00	19,9 DUM	33	59
269	70,99	22,10	3,70	19,9 DUM	26	50
281	64,00	30,50	2,00	19,4 DUM	25	59
283	41,79	14,00	1,30	19,3 DUM	28	56
302	25,10	21,10	3,30	19,0 DUM	30	71
308	31,69	14,60	3,50	19,0 DUM	21	68
318	65,51	48,70	4,10	19,4 DUM	20	69
331	61,40	7,10	4,00	19,9 DUM	32	67

(cont.)

334	42,50	14,00	1,90	19,4 DUM	34	80
336	37,29	31,30	0,80	19,4 DUM	20	50
337	69,30	14,30	5,50	19,7 DUM	30	59
341	35,20	11,79	3,50	19,1 DUM	36	86
342	41,39	17,40	1,80	19,6 DUM	32	67
349	51,29	14,00	2,00	19,0 DUM	35	63
351	25,40	11,89	1,80	19,7 DUM	32	82
354	68,99	17,30	2,10	19,7 DUM	28	61
356	41,49	39,84	80,00	19,4 DUM	30	73
358	40,79	21,93	31,70	19,0 DUM	29	56
359	22,80	11,87	41,00	19,7 DUM	24	58
364	47,49	32,65	3,00	19,1 DUM	23	67
368	76,19	64,80	2,10	19,0 DUM	25	60
369	18,89	49,29	3,40	19,1 DUM	18	52
373	50,40	33,20	8,20	19,9 DUM	22	74
374	73,00	41,19	4,30	19,6 DUM	19	64
404	50,40	48,54	4,20	19,0 DUM	35	76
405	55,41	22,04	1,70	19,7 DUM	27	61
432	51,39	14,35	4,10	19,3 DUM	29	54
453	30,59	24,89	4,50	19,9 DUM	33	59
458	60,60	13,12	4,00	19,1 DUM	34	64
472	39,00	11,74	2,30	19,6 DUM	34	51
479	42,10	5,50	0,10	19,0 US	36	55
485	63,20	13,50	3,50	19,3 DUM	27	64
490	67,09	20,80	2,00	19,3 DUM	25	71
491	63,49	78,00	4,60	19,4 DUM	31	102
499	33,60	79,80	2,20	19,7 DUM	22	67
504	60,10	19,20	5,90	19,3 DUM	34	50
508	53,29	13,57	3,50	19,3 DUM	26	58



Tabela 6 - Valores da concentração de AFP, hCG e uE3 obtidos de pacientes excluídas do estudo por apresentarem idade gestacional inadequada.

Pacientes	Idade		AFP (ng/ml)	hCG (UI/ml)	uE3 (ng/ml)
	Gestacional (semanas)				
1	16,1		33,00	21,00	1,00
4	23,7		72,00	23,50	3,00
28	14,1		179,54	34,90	1,70
33	23,7		64,99	46,40	1,20
37	21,4		27,95	11,80	1,00
39	20,7		37,99	37,30	2,40
49	20,0		47,99	7,29	4,80
52	21,4		73,00	28,40	5,90
64	20,1		36,89	34,90	3,30
73	20,0		64,99	16,10	2,30
76	20,3		30,00	29,10	2,90
77	20,3		37,99	34,00	3,60
78	20,4		59,99	17,90	2,60
92	22,9		103,00	24,90	2,80
97	20,1		75,99	13,27	3,00
100	24,0		180,00	34,20	7,80
104	21,1		51,99	46,40	4,00
129	22,0		47,99	25,60	1,80
137	22,0		8,89	14,80	2,60
149	20,6		387,20	14,90	2,90
154	21,0		69,70	7,50	2,10
165	20,9		65,50	30,30	3,10
176	20,1		47,40	28,60	2,80
177	20,1		64,59	14,00	2,80
191	20,7		24,79	19,80	2,80

(cont.)

223	26,1	180,99	28,10	5,00
229	22,4	103,00	47,50	1,80
263	23,3	124,00	1,90	4,50
264	20,0	31,21	28,00	1,00
273	20,6	23,20	32,10	2,00
276	27,9	236,00	18,00	3,00
288	20,1	43,69	29,60	1,40
298	20,1	44,70	14,47	1,70
305	20,0	48,29	11,50	2,20
320	20,1	44,00	12,80	2,60
321	20,4	87,59	25,60	8,20
339	20,6	57,69	12,10	3,90
370	14,0	26,20	109,00	0,30
379	20,7	29,60	21,56	4,60
380	21,0	16,19	11,00	1,30
438	20,3	94,20	17,30	3,50
448	20,3	70,99	39,59	6,10
457	21,6	76,90	37,60	1,90
459	20,1	67,99	5,51	3,80
465	20,1	17,97	55,86	5,00
467	20,3	43,77	71,40	6,00
481	20,0	38,89	22,00	5,90
482	20,6	41,30	34,70	5,70
487	20,3	67,09	20,80	1,80
489	20,3	51,50	40,20	3,00
495	14,0	14,70	14,70	0,60

QUESTIONÁRIO



CAMF

**MEDICINA FETAL
GENÉTICA HUMANA
ULTRA-SONOGRAFIA
MAMOGRAFIA**

Av. Brigadeiro Faria Lima, 5028 – São Pedro
São José do Rio Preto - SP - CEP 15090-000
Tel/Fax: (17) 229-3400

DADOS PESSOAIS E FÍSICOS DA PACIENTE

NÚMERO DA COLETA.....

MATERIAL COLHIDO (SANGUE OU LÍQ. AMN)

NOME DA PACIENTE.....

RG DA PACIENTE.....

NOME DO MÉDICO OU CLÍNICA

DATA DO NASCIMENTO DA PACIENTE.....

ETNIA

DIABÉTICA ?

ALTURA (cm).....

PESO

NÚMERO DE FETOS

TELEFONE PARA CONTATO

HISTÓRIA FAMILIAR DE DEFEITOS DE TUBO NEURAL

(AUSENTE / PRESENTE)

DATA DA ÚLTIMA MENSTRUÇÃO...../...../.....

PERFAZENDO NO DIA DA COLETA (SEMANAS / DIAS)/...../.....

DATA DA REALIZAÇÃO DO 1º ULTRA-SOM...../...../.....

PERFAZENDO NO DIA DO EXAME DE US (SEMANAS/DIAS)/...../.....

MELHOR PARÂMETRO PARA DATAR A GRAVIDEZ

(US OU D.U.M.).....

DATA DA COLETA DO MATERIAL...../...../.....

DATA DO RECEBIMENTO DO MATERIAL...../...../.....

10. Referências Bibliográficas

10. Referências Bibliográficas

- AITKEN D. A., et al. Dimeric inhibin A as marker for Down's syndrome in early pregnancy. *N. Engl. J. Med.*, v. 334, n. 19, p. 1231-6, 1996.
- ANTSAKLIS A., PAPANTONIOU N., XYGAKIS A. Genetic amniocentesis in women 20-34 years old: associated risks. *Prenatal Diagnosis*, v. 20, n. 3, p. 247-50, 2000.
- BAHADO-SINGH R., et al. Normal nuchal thickness in the midtrimester indicates reduced risk of Down syndrome in pregnancies with abnormal triple screen. *Am. J. Obstet. Gynecol.*, v. 172, p. 260, 1995.
- BARKAI G., et al. Down's syndrome screening marker levels following assisted reproduction. *Prenatal Diagnosis*, v. 16, n. 12, p. 1111-4, 1996.
- BARKAI G., et al. Effect of gravidity on maternal serum markers for Down's syndrome. *Prenatal Diagnosis*, v. 16, n. 4, p. 319-22, 1996.
- BARKAI G., et al. Ethnic origin and maternal serum markers of Down syndrome in Israel. *Prenatal Diagnosis*, v. 16, p. 870-2, 1996.
- BARKAI G., SHAKI R., GOLDMAN B. First trimester alpha-fetoprotein level in normal and chromosomally abnormal pregnancies. *Lancet*, v. 2, n. 8555, p. 389, 1987.
- BAUMGORTEN A. Racial difference and biological significance of maternal serum alpha-fetoprotein. *Lancet*, v. 2, p. 573, 1983.
- BAUMGORTEN A., et al. Prospective screening for Down syndrome using maternal serum AFP. *Lancet*, v. 1, p. 1280-1, 1985.
- BENACERRAF B. R. The second-trimester fetus with Down syndrome: detection using sonographic features. *Ultrasound Obstet. Gynecol.*, v. 7, p. 147-55, 1996.
- BENACERRAF B. R., FRIGOLETTO JR F. D., LABODA L. A. Sonographic diagnosis of Down's syndrome in the second-trimester. *Am. J. Obstet. Gynecol.*, v. 153, p. 49-52,



1985.

BENACERRAF B. R., GELMAN R., FRIGOLETTO JR F. D. Sonografic identification of second-trimester fetuses with Down syndrome. *N. Engl. J. Med.*, v. 317, p. 1371-6, 1987.

BENACERRAF B. R., LABODA L. A., FRIGOLETTO F. D. Thickened nuchal fold in fetuses not at risk for aneuploidy. *Radiology*, v. 184, p. 239-42, 1992.

BERGSIO P., et al. Duration of human singleton pregnancy. *Acta. Obstet. Gynecol. Scand.*, v. 69, p. 197-207, 1990.

BERGSTRAND C. G., CZAR B. Demonstration of a new protein fraction in serum from the human fetus. *Scandinav. J. Clin. Lab. Investigation*, v. 8, p. 174, 1956.

BOGART M. H., et al. Prospective evaluation of maternal serum human chorionic gonadotropin levels in 3428 pregnancies. *Am. J. Obstet. Gynecol.*, v. 165, p. 663-7, 1991.

BOGART M. H., GOLBUS M. S., SORG N. D. Human chorionic gonadotropin level in pregnancies with aneuploid fetuses. *Prenatal Diagnosis*, v. 9, n. 6, p. 379, 1989.

BOGART M. H., PANDIA M. R., JONES O. W. Abnormal maternal serum chorionic gonadotropin levels in pregnancies with fetal chromosome abnormalities. *Prenatal Diagnosis*, v. 7, n. 9, p. 623-30, 1987.

BONÉ A., BONÉ J., GROPP A. Cytogenetics of pregnancy wastage. *An. Rev. Genet.*, v. 14, p. 1-57, 1985.

BRAMBATI B., et al. Fetal chromosomal aneuploidies and maternal serum alpha-fetoprotein levels in first trimester. *Lancet*, v. 2, p. 165-6, 1986.

BRAUNSTEIN G. D., et al. First-trimester chorionic gonadotropin measurements as an aid the diagnosis of early pregnancy disorders. *Am. J. Obstet. Gynecol.*, v. 131, p. 25-32, 1978.

- BRAZEROL W. F., GROVER S., DONNENFELD A. E. Unexplained elevated maternal serum α -fetoprotein levels and perinatal outcome in an urban clinic population. *Am. J. Obstet. Gynecol.*, v. 171, p. 1030-5, 1994.
- BRIZOT M. L. *First trimester screening for fetal chromosomal abnormalities: clinical and pathophysiological studies*. London, 1996. ____ p. Thesis (PhD degree) – King's College Hospital School of Medicine and Dentistry, University of London.
- BRIZOT M. L., et al. Fetal hepatic alpha-fetoprotein mRNA expression in fetus with trisomy 21 and 18 at 12-15 weeks gestation. *Early Human Development*, v. 44, n. 3, p. 155-9, 1996.
- BRIZOT M. L., et al. Gene expression of human pregnancy-associated plasma protein-A (PAPP-A) in placenta from trisomic pregnancies. *Placenta*, v. 17, n. 1, p. 33-6, 1996.
- BROCK D. J. H., BOLTON A. E., MONAGHAN J. M. Prenatal diagnosis of anencephaly through maternal serum alpha-fetoprotein measurement. *Lancet*, v. 2, p. 923-4, 1973.
- BROCK D. J. H., SUTCLIFFE R. G. Alpha-fetoprotein in the antenatal diagnosis of anencephaly and spina bifida. *Lancet*, v. 2, n. 7770, p. 197-9, 1972.
- BRODY S., CARLSTROM G. Immunoassay of hCG in normal and pathologic pregnancy. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, v. 22, p. 564, 1962.
- BUNDUKI V., et al. Rastreamento bioquímico das malformações fetais e outras aneuploidias. *Femina*, v. 23, n. 7, p. 593-6, 1995.
- BURTON B. K., NIEB B. Effect of maternal race and weight (wt) on hCG and uE3 levels in the mid-trimester. *Am. J. Hum. Genet.*, v. 49, p. A212, 1991.
- BURTON B. K., PRINS G. S., VERP M. S. A prospective trial of prenatal screening for Down syndrome by means maternal serum α -fetoprotein, human chorionic gonadotropin, and unconjugated estriol. *Am. J. Obstet. Gynecol.*, v. 169, p. 526-30,



- 1993.
- CAMPBELL S., et al. Routine ultrasound screening for the prediction of gestational age. *Obstet. Gynecol.*, v. 65, p. 613-20, 1985.
- CANICK J. A., et al. Low second trimester maternal serum unconjugated oestriol in pregnancies with Down's syndrome. *Br. J. Obstet. Gynecol.*, v. 95, n. 4, p. 330-3, 1988.
- CANICK J. A., KNIGHT G. J. Multiple-marker screening for fetal Down syndrome. *Contemporary ob/gyn*, p. 25-42, 1992.
- CANICK J. A., PALOMAKI G. E., OSATHANONDH R. Prenatal screening for trisomy 18 in the second trimester. *Prenatal Diagnosis*, v. 10, p. 546-8, 1990.
- CANICK J. A., SALLER JR D. N. Maternal serum screening for aneuploidy and open fetal defects. *Canick Saller*, v. 20, n. 3, p. 443-54, 1993.
- CASALS E., FORTUNE A., BALLESTA A. M. First-trimester biochemical screening for Down's syndrome with the use of PAPP-A, AFP, and beta-hCG. *Prenatal Diagnosis*, v. 16, n. 5, p. 405-10, 1996.
- CHA S. C., ZUGAIB M. Rastreamento da síndrome de Down: métodos não invasivos. In: _____. *Medicina fetal*, Atheneu: São Paulo, 1993, p. 133-6, 1993.
- CHITTY L. S., PANDYA P. P. Ultrasound screening for fetal abnormalities in the first trimester. *Prenatal Diagnosis*, v. 17, p. 1269-81, 1997.
- COLE L. A., et al. Combining β -core fragment and total oestriol measurements to test for Down syndrome pregnancies. *Prenatal Diagnosis*, v. 17, p. 1125-33, 1997.
- COMBINING maternal serum alpha-fetoprotein measurements and age to screen for Down syndrome in pregnant women under age 35. (New England Regional Genetics Group Prenatal Collaborative Study of Down Syndrome screening). *Am. J. Obstet. Gynecol.*, v. 160, n. 3, p. 575-81, 1989.



- CONNOR J. M., FERGUNSON-SMITH M. A. Population screening. In: _____. *Essential medical genetics*, 4.ed., London: Blackwell Scientific, 1993, p. 220-6.
- COWCHOCK S., AINBENDER E., PRESCOTT G. The recurrence risk for neural tube defects in the United States: a collaborative study. *Am. J. Med. Genet.*, v. 5, n. 3, p. 309, 1980.
- CRANDALL B. F. Prenatal screening for the detection of neural tube defects; In: SIMPSON J. L., ELIAS S. *Essentials of prenatal diagnosis*. New York: Churchill Livingstone, 1993, p. 13.
- CRANDALL B. F., et al. Alpha-fetoprotein concentrations in maternal serum: relation to race and body weight. *Clin. Chem.*, v. 29, n. 3, p. 531-3, 1983.
- CRANE J. P., GRAY D. L. Sonographically measured nuchal skinfold as a tool for Down syndrome: results of a prospective clinical trial. *Obstet. Gynecol.*, v. 77, p. 533, 1991.
- CREASY R. K., RESNIK R. Identification and management of high-risk problems in the neonate. In: FANAROFF A. A., et al. *Maternal-fetal medicine: principles and practice*, 2.ed., Philadelphia: Sunders, 1989, p. 1150-93.
- CSABAY L., et al. Central nervous system anomalies. *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, v. 847, p. 21-45, 1998.
- CUCKLE H. S., NANCHACHAL K., WALD N. J. Maternal serum alpha-fetoprotein and ethnic origin. *Br. J. Obstet. Gynecol.*, v. 94, p. 1111-12, 1987.
- CUCKLE H. S., et al. Combining inhibin A with existing second-trimester markers in maternal serum screening for Down's syndrome. *Prenatal Diagnosis*, v. 16, n. 12, p. 1095-100, 1996.
- CUCKLE H. S., et al. Ultrasound fetal femur length measurement in the screening for Down's syndrome. *Br. J. Obstet. Gynecol.*, v. 96, p. 1373-9, 1989.

- CUCKLE H. S., WALD N. J., LINDENBAUM R. H. Maternal serum alpha-fetoprotein measurement: a screening test for Down syndrome. *Lancet*, v. 1, n. 8383, p. 926-9, 1984.
- D'ANTONA D., et al. Inhibin a and Pro- α C inhibin in Down syndrome and normal pregnancies. *Prenatal Diagnosis*, v. 18, p. 1122-6, 1998.
- DAVIS R. O., et al. Decreased levels of AF alpha-fetoprotein associated with Down's syndrome. *Am. J. Obstet. Gynecol.*, v. 153, p. 541-4, 1985.
- DOWN Syndrome Screening. *ACOG committee opinion, Committee on Obstetric Practice*, n. 141, 1994.
- EIBEN B., et al. Cytogenetic analysis of 750 spontaneous abortions with the direct-preparation method of chorionic villi and its implications for studying genetic causes of pregnancy wastage. *Am. J. Hum. Genet.*, v. 4, n. 47, p. 656-63, 1990.
- EVANS M. I., JOHNSON M. P. Prenatal Diagnosis in the 90's. A symposium. *J. Reprod. Med.*, v. 5, n. 37, p. 387-8, 1992.
- FEDRICK J. Anencephalus: variation with maternal age, parity, social class and region in England, Scotland and Wales. *Ann. Hum. Genet.*, v. 34, n. 1, p. 31-8, 1970.
- GREENBERG F., et al. Maternal serum α fetoprotein, β human chorionic gonadotropin, and unconjugated estriol levels in midtrimester trisomy 18 pregnancies. *Am. J. Obstet. Gynecol.*, v. 166, p. 1388-92, 1992.
- GROSS S. J., et al. Adverse perinatal outcome in patients screen-positive for neural tube defects and fetal down syndrome. *Prenatal Diagnosis*, v. 14, n. 7, p. 609-13, 1994.
- HADDOW J. E., et al. Maternal serum alpha-fetoprotein screening for Down syndrome and repeat testing. *Lancet*, v. 2, n. 8521-22, p. 1460, 1986.
- HADDOW J. E., et al. Prenatal screening for Down's syndrome with use of maternal serum markers. *N. Engl. J. Med.*, v. 327, n. 9, p. 588-93, 1992.



- HADDOW J. E., et al. Reducing the need for amniocentesis in women 35 years of age or older with serum markers for screening. *N. Engl. J. Med.*, v. 330, n. 16, p. 114-8, 1994.
- HADDOW J. E., et al. Relation between maternal weight and serum alpha-fetoprotein concentration during the second trimester. *Clin. Chem.*, v. 27, p. 133-4, 1981.
- HADDOW J. E., PALOMAKI G. E. Prenatal screening for Down syndrome; In: SIMPSON J. L., ELIAS S. *Essentials of prenatal diagnosis*. New York: Churchill Livingstone, 1993, p. 10.
- HAFNER E., et al. Results of routine fetal nuchal translucency measurement at weeks 10-13 in 4233 unselected pregnancy women. *Prenatal Diagnosis*, v. 18, p. 29-34, 1998.
- HOLMES L. B. Type and etiology of major malformation in 18.155 new borns. *N. Engl. J. Med.*, p. 195-204, 1976.
- HOOK E. B. Rates of chromosome abnormalities at different maternal ages. *Obstet. Gynecol.*, v. 58, n. 3, p. 282-5, 1981.
- HOROVITZ D. D. G. *Curva de normalidade da alfa-fetoproteína, da gonadotrofina coriônica humana e do estriol livre no soro materno em gestações de 15 a 19 semanas*. Rio de Janeiro, 1998, ____ p. Dissertação (Mestrado em Clínica Obstétrica) – Maternidade Escola, Universidade Federal do Rio de Janeiro.
- HSU J. J., et al. Comparison of Down's syndrome screening strategies in asians combining serum free Beta-hCG and alpha-fetoprotein with maternal age. *Prenatal Diagnosis*, v. 17, p. 707-16, 1997.
- HSU L. Y. F. Chromosomal disorders. In: *Medicine of the fetus & mother*. In: REECE E. A., et al. Philadelphia: Lippincott, 1992, p. 426-54.
- JAMES W. H. The sex ratio in spina bifida. *J. Med. Genet.*, v. 16, p. 384, 1979.

- JANERICH D., PIPER J. Shifting genetic patterns in anencephaly and spina bifida. *J. Med. Genet.*, v. 15, n. 2, p. 101, 1978.
- JOHNSON A. M., PALOMAKI G. E., HADDOW J. E. Maternal serum α -fetoprotein levels in pregnancies among black and white women with fetal open spina bifida: A United States Collaborative Study. *Am. J. Obstet. Gynecol.*, v. 162, p. 328-31, 1990a.
- JOHNSON A. M., PALOMAKI G. E., HADDOW J. E. The effect of adjusting maternal serum alpha-fetoprotein levels for maternal weight in pregnancies with fetal open spina bifida. *Am. J. Obstet. Gynecol.*, v. 163, p. 9-11, 1990b.
- JOHNSON J. M., et al. Maternal serum alpha-fetoprotein in twin pregnancy. *Am. J. Obstet. Gynecol.*, v. 162, n. 4, p. 1020-5, 1990.
- KELLNER L. H., et al. The advantages of using triple-marker screening for chromosomal abnormalities. *Am. J. Obstet. Gynecol.*, v. 172, n. 3, p. 831-6, 1995.
- KNIGHT G. J., et al. hCG and the free β -subunit as screening tests for Down syndrome. *Prenatal Diagnosis*, v. 18, p. 235-45, 1998.
- KNIGHT G. J., PALOMAKI G. E., HADDOW J. E. Use of maternal serum alpha-fetoprotein measurements to screen for Down's syndrome. *Clin. Obstet. Gynecol.*, v. 31, n. 2, p. 306-27, 1988.
- KORNMAN L. H., et al. Women's opinions and the implications of first-versus second-trimester screening for fetal Down's syndrome. *Prenatal Diagnosis*, v. 17, p. 1011-8, 1997.
- KRANTZ D. A., et al. First-trimester Down's syndrome screening: free beta-human chorionic gonadotropin and pregnancy-associated plasma protein A. *Am. J. Obstet. Gynecol.*, v. 174, n. 2, p. 612-6, 1997.
- LIEPPMAN R. E., et al. An association between elevated levels of human chorionic gonadotropin in the mid-trimester and adverse pregnancy outcome. *Am. J. Obstet.*

- Gynecol.*, v. 168, p. 1852-7, 1993.
- LIN T. M., et al. Characterization of four human pregnancy-associated plasma proteins. *Am. J. Obstet. Gynecol.*, v. 118, p. 223-36, 1974.
- LOW Maternal serum alpha-fetoprotein and Down syndrome. *Lancet*, p. 259-60, 1995.
- MACRI J. N., et al. Maternal serum Down syndrome screening: free β -protein is a more effective marker than human chorionic gonadotropin. *Am. J. Obstet. Gynecol.*, v. 163, n. 4, p. 1248-53, 1990.
- MACRI J. N., et al. Maternal serum Down syndrome screening: unconjugated estriol is not useful. *Am. J. Obstet. Gynecol.*, v. 162, p. 672-3, 1990b.
- McINTYRE J. A., et al. Immunological studies of the human placental: functional and morphological analysis of pregnancy-associated plasma protein-A (PAPP-A). *Immunology*, v. 44, p. 577-83.
- MENNUTI M. A 35-year-old pregnant woman considering maternal serum screening and amniocentesis. *Prenatal Diagnosis*, v. 16, n. 12, p. 1111-4, 1996.
- MERKATZ I. R., et al. An association between low maternal serum alpha-fetoprotein and fetal chromosomal abnormalities. *Am. J. Obstet. Gynecol.*, v. 148, n. 7, p. 886-94, 1984.
- MERLOS M. A. Anencefalia. *ARS Cvrandi*, p. 82-108, 1995.
- MILUNSKY A., et al. Predictive values, relative risks, and overall benefits of high and low maternal serum alpha-fetoprotein screening in singleton pregnancies: new epidemiological data. *Am. J. Obstet. Gynecol.*, v. 161, n. 2, p. 291-7, 1996.
- MONTENEGRO C. A. B., REZENDE FILHO J. Genética pré-natal in Medicina fetal (*Atlas comentado*), Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1998, p. 49-70.
- MOONEY R. A., et al. Effectiveness of combining maternal serum alpha-fetoprotein and hCG in a second-trimester screening program for Down syndrome. *Am. J. Obstet.*



- Gynecol.*, v. 84, p. 298-303, 1994.
- MOORE K. L., PERSAUD T. V. N. Development of tissues, organs, and body form. The fourth to eighth weeks. In: _____. The developing human., 5.ed., Philadelphia: Saunders, 1993, p. 70-92.
- MORON A. F., et al. Alfa-fetoproteína no soro materno – Proposição de uma curva de normalidade para a população brasileira entre 14 e 20 semanas de gestação. *Rev. Bras. Ginecol. Obstet.*, v. 16, n. 5, p. 149-52, 1994.
- MULLER F., et al. Do racial differences exist in second-trimester maternal levels? A study of 23,360 patients. *Prenatal Diagnosis*, v. 14, p. 633-6, 1994.
- NATIONAL institute for child health and development: national registry for amniocentesis study group. Mid-trimester amniocentesis for prenatal diagnosis. Safety and accuracy. *J. Am. Med. Assoc.*, v. 236, p. 1471, 1975.
- NEVEUX L. M., et al. Multiple marker screening for Down's syndrome in twin pregnancies. *Prenatal Diagnosis*, v. 16, n. 1, p. 29-34, 1996.
- NEWBY D., et al. Biochemical markers of trisomy 21 and the pathophysiology of Down's syndrome pregnancies. *Prenatal Diagnosis*, v. 17, p. 941-51, 1997.
- NICOLAIDES K. H., BRIZOT M. L., SNIJDERS R. J. M. Fetal nuchal translucency: ultrasound screening for fetal trisomy in the first trimester of pregnancy. *Br. J. Obstet. Gynecol.*, v. 101, p. 782-6, 1994.
- NICOLAIDES K. H., et al. Fetal nuchal translucency: ultrasound screening for chromosomal defects in first trimester of pregnancy. *Br. Med. J.*, v. 304, n. 6831, p. 867-9, 1992.
- NYBERG D. A., et al. Age-adjusted ultrasound risk assessment for fetal Down's syndrome during the second trimester: description of the method and analysis of 142 cases. *Ultrasound Obstet. Gynecol.*, v. 12, n. 1, p. 8-14, 1998.



- ONDA T., et al. Triple marker screening in native japanese women. *Prenatal Diagnosis*, v. 16, p. 713-7, 1996.
- PALOMAKI G. E., et al. Maternal serum screening for Down's syndrome in the United States: a 1995 survey. *Am. J. Obstet. Gynecol.*, v. 176, n. 5, p. 1046-51, 1997.
- PALOMAKI G. E., et al. Second trimester maternal serum alpha-fetoprotein levels in pregnancies associated with gastroschisis and omphalocele. *Obstet. Gynecol.*, v. 71, n. 6, p. 906-9, 1988.
- PALOMAKI G. E., PANIZZA D. S., CANICK J. A. Screening for Down syndrome using AFP, uE3 and hCG: effect of maternal weight. *Am. J. Hum. Genetic.*, v. 47 (supplement), p. A282, 1990.
- PATTA M. C. *Distribuição dos valores séricos da alfa-fetoproteína, subunidade beta da gonadotrofina coriônica humana e estriol livre em gestações normais entre 14 e 19 semanas de gravidez na cidade de Ribeirão Preto*. Ribeirão Preto, 1999. ____ p. Tese (Mestrado em Ciências Biológicas-Genética) – Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo.
- PHILLIPS O. P., ELIAS S. Genetics and epidemiology of neuro tube defects. In: ELIAS S., SIMPSON J. L. *Maternal serum screening*. New York: Churchill Livingstone, 1992, p. 1-23.
- PHILLIPS O. P., et al. Maternal serum screening for fetal Down syndrome in women less than 35 years of age using alpha-fetoprotein, hCG, and unconjugated estriol: A prospective 2-year study. *Obstet. Gynecol.*, v. 80, n. 3, p. 353-8, 1992.
- PLATT L. D. Prenatal diagnosis - when and how? *N. J. Med.*, v. 327, n. 9, p. 636-8, 1992.
- PUESCHEL S. M. Clinical aspects of Down syndrome. A review. *Am. J. Med. Genet.* vol. 7, Suppl., p. 204, 1990.
-



- REYNOLDS T. M., WIERZBICKI A. Prenatal screening for trisomy 18 (letter). *Prenatal Diagnosis*, v. 16, n. 5, p. 475-8, 1996.
- REZENDE J. Anomalias congênitas. Etiologia e prevenção. In: REZENDE J., CARAKUSHANSKY G. *Obstetrícia*, 8.ed., Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1998, p. 965-79.
- ROBERTS D., et al. Prenatal detection of trisomy 21: combined experience of two British hospitals. *Prenatal Diagnosis*, v. 20, n. 1, p. 17-22, 2000.
- ROSE N. C., MENNUTI M. T. Maternal serum screening for neural tube defects an fetal chromosome abnormalities. *West. J. Med.*, v. 159, n. 3, p. 312-7, 1993.
- ROSE N. C., MENNUTI M. T. Multiple marker screening in women age 35 an older. *Contemporary ob/gyn*, v. 2, n. 15, 1995.
- ROTMENSCH S., LIBERALI M., COLE L. A. Nicked free beta-subunit of human chorionic gonadotropin: a potential new marker for Down's syndrome screening. *Am. J. Obstet. Gynecol.*, v. 174, n. 2, p. 609-11, 1992.
- SALLER JR D. N., et al. Multiple-marker screening in pregnancies with hydropic and nonhydropic Turner syndrome. *Am. J. Obstet. Gynecol.*, vol. 167, n. 4, p. 1021-4, 1992.
- SCHINDLER A. M., BORDIGNON P., BISCHOF P. Immuno-histochemical localisation of pregnancy-associated plasma protein-A in fetal, infant and adult organs and comparison between antisera. *Gynecol. Obstet. Invest.*, v. 5, p. 88-94, 1984.
- SCHROEDER S. A. How can we tell whether there are too many or too few physicians?. *JAMA*, v. 276, n. 22, p. 1841-3, 1996.
- SHAPIRO L. M., et al. Racial variations in maternal serum-alpha-fetoprotein. *Lancet*, p. 1142, 1975.



- SIBERE N. J., KAISENBERG C., NICOLAIDES K. Diagnostic techniques: In: SNIJDERS R. J. M. *Ultrasound markers for fetal chromosomal defects*. Midsomer Norton: Bookcraft, UK, p. 157-70.
- SIMPSON J. L., ELIAS S., MORGAN C. D. Second trimester maternal serum hCG and uE3 levels in black's and white's. *Lancet*, v. 335, p. 1459, 1990.
- SINOSICH M. J., et al. Radioimmunoassay for pregnancy-associated plasma protein-A. *Biochem. Int.*, v. 5, p. 777-86.
- SNIJDERS R. J. M., et al. First trimester fetal nuchal translucency: In: _____. *Ultrasound markers for fetal chromosomal defects*. Midsomer Norton: Bookcraft, UK, 1996, p. 121-56.
- SNIJDERS R. J. M., et al. Fetal Abnormalities: In: _____. *Ultrasound markers for fetal chromosomal defects*. Midsomer Norton: Bookcraft, UK, 1996, p. 1-62.
- SNIJDERS R. J. M., et al. Fetal Medicine Foundation First trimester Screening Group. UK multicentre project on assessment of risk of trisomy 21 by maternal age and fetal nuchal-translucency thickness at 10-14 weeks of gestation. *Lancet*, v. 351, p. 343-46, 1998.
- SNIJDERS R. J. M., SIBERE N. J., NICOLAIDES K. Assessment of risks. In: SNIJDERS R. J. M. *Ultrasound markers for fetal chromosomal defects*. Midsomer Norton: Bookcraft, UK, 1996, p. 63-120.
- SPENCER K. Screening for trisomy 21 in twin pregnancies in the first trimester using free beta hCG and PAPP-A, combined with fetal nuchal translucency thickness. *Prenatal Diagnosis*, v. 20, n. 2, p. 91-5, 2000.
- SPENCER K. The influence of smoking on maternal serum AFP and free beta hCG levels and the impact on screening for Down syndrome. *Prenatal Diagnosis*, v. 18, p. 225-34, 1998.



- SPENCER K., et al. Urine free beta hCG and beta core in pregnancies affected by Down's syndrome. *Prenatal Diagnosis*, v. 16, p. 605-13, 1996.
- SPENCER K., WALLACE E. M., RITOE S. Second-trimester dimeric inhibin-A in Down's syndrome screening. *Prenatal Diagnosis*, v. 16, n. 12, p. 1101-10, 1996.
- SPRANGER J., BENIRSCHKE K., SMITH D. W. Errors of morphogenesis: concepts and terms. *J. Pediat.*, v. 10, n. 1, p. 160-5, 1982.
- STEELE M. W., BREG W. R. Chromosome analysis of human amniotic fluid cells. *Lancet*, v. 1, p. 383-85, 1966.
- STUMPF D. A., CRAWFORD R. E., ELIAS S. The infant with anencephaly. *N. Engl. Med.*, v. 332, p. 669, 1990.
- SUNDARAM S. G., et al. Alpha-fetoprotein and screening markers of congenital disease, v. 12, n. 3, p. 481-90, 1992.
- TABOR A., et al. Screening for Down's syndrome using an iso-risk curve based on maternal age and serum alpha-fetoprotein level. *Br. J. of Obstet. Gynecol.*, v. 94, p. 636-42, 1987.
- THEODOROPOULOS P., et al. Evaluation of first-trimester screening by fetal nuchal translucency and maternal age. *Prenatal Diagnosis*, v. 18, p. 133-7, 1998.
- THIAGARAJAH S., et al. Elevated maternal serum alpha-fetoprotein levels: What is the risk of fetal aneuploidy? *Am. J. Obstet. Gynecol.*, v. 173, n. 2, p. 388-91, 1995.
- THOMPSON M. W. Diagnóstico pré-natal. In: _____. *Genética médica*, 5.ed., Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1993, p. 282-92.
- TULCHINSKY D. The role of maternal and fetal hormone in pregnancy. *Contemporary Obstet/Gynecol*, v. 17, n. 6, p. 113-22, 1981.
- VAN DER HOF M. C., NICOLAIDES K. H. Evolution. *Am. J. Obstet. Gynecol.*, v. 162, p. 322, 1990.



- VAN DER VEEN W. J., et al. A demographic approach to the assessment of Down syndrome screening performance. *Prenatal Diagnosis*, v. 17, p. 717-24, 1997.
- VERGANI P., LOCATELLI A., PICCOLI M. G. Critical reappraisal of the utility of sonographic fetal femur length in the prediction of trisomy 21. *Prenatal Diagnosis*, v. 20, n. 3, p. 210-4, 2000.
- VERLOES A., et al. A prenatal trisomy 21 screening program using alpha-fetoprotein, human chorionic gonadotropin, and free estriol assays on maternal dried blood. *Am. J. Obstet. Gynecol.*, v. 172, n. 1, p. 167-74, 1995.
- VIEIRA NETO E., et al. Marcadores bioquímicos utilizados em screening pré-natal de síndrome de Down e defeitos de tubo neural no segundo trimestre de gestação: medianas de um grupo brasileiro de gestantes. *J. Br. Patol.*, v. 32, p. 179-87, 1996.
- VINTZILEOS A. M., EGAN J. F. X. Adjusting the risk for trisomy 21 on the basis of second-trimester ultrasonography. *Am. J. Obstet. Gynecol.*, v. 172, p. 837-44, 1995.
- VITAMIN study research group: prevention of neural tube defects: results of the medical research council vitamin study. *Lancet*, v. 338, p. 131, 1991.
- WALD H. J., et al. Prenatal screening for Down's syndrome using inhibin A as a serum marker. *Prenatal Diagnosis*, v. 16, p. 143-53, 1996.
- WALD H. J., WATT H. C. Serum markers for Down's syndrome in relation to number of previous births and maternal age. *Prenatal Diagnosis*, v. 16, p. 699-703, 1996.
- WALD N. J., BROCK D. J. H., BONNAR J. Prenatal diagnosis of spina bifida and anencephaly by maternal serum alpha-fetoprotein measurement - A controlled study. *Lancet*, v. 1, n. 7861, p. 765-9, 1974.
- WALD N. J., CUCKLE H. S. Amniotic-fluid alpha-fetoprotein measurement in antenatal diagnosis of anencephaly and open spina bifida in early pregnancy. (Second report of U.K. Collaborative study on alpha-fetoprotein in relation to neural-tube defects).

- Lancet*, v. 2, p. 651-61, 1979.
- WALD N. J., CUCKLE H. S. Antenatal and neonatal screening. Oxford: Oxford University Press, 1984, p. 24-66.
- WALD N. J., CUCKLE H. S. Maternal serum – alpha-fetoprotein measurement in antenatal screening for anencephaly and spina bifida in early pregnancy. (Report of U.K. collaborative study on alpha-fetoprotein in relation to neural - tube defects). *Lancet*, v. 1, p. 1323-32, 1977.
- WALD N. J., CUCKLE H. S., THOMPSON S. G. Estimating a woman's risk of having a pregnancy associated with Down's syndrome using her age and serum alpha-fetoprotein level. *Br. J. Obstet. Gynecol.*, v. 94, p. 387-402, 1987.
- WALD N. J., et al. Four-marker serum screening for Down's syndrome. *Prenatal Diagnosis*, v. 14, p. 707-16, 1994.
- WALD N. J., et al. Maternal serum screening for Down's syndrome in early pregnancy. *Br. Med. J.*, v. 297, p. 883-7, 1988.
- WALD N. J., et al. Prevention of neural tube defects: Results of the medical research council vitamin study. *Lancet*, v. 338, p. 131-7, 1991.
- WALD N. J., et al. Maternal serum screening for Down's syndrome: the effect of routine ultrasound scan determination of gestational age and adjustment for maternal weight. *Br. J. Obstet. Gynecol.*, v. 99, p. 144-9, 1992.
- WALD N. J., et al. Screening for Down syndrome at 14 weeks of pregnancy. *Prenatal Diagnosis*, v. 18, p. 291-3, 1998.
- WALD N. J., et al. The effect of maternal weight on maternal serum alpha-fetoprotein levels. *Br. J. Obstet. Gynecol.*, v. 88, p. 1094-6, 1981.
- WATT H. C., et al. Effect of allowing for ethnic group in prenatal screening for Down's syndrome. *Prenatal Diagnosis*, v. 16, p. 691-8, 1996.



- WATT H. C., WALD N. J. Alternative methods of maternal weight adjustment in maternal serum screening for Down syndrome and neural tube defects. *Prenatal Diagnosis*, v. 18, p. 842-5, 1998.
- WENSTROM K. D., et al. Maternal serum alpha-fetoprotein and dimeric inhibin A detect aneuploidies other than Down syndrome. *Am. J. Obstet. Gynecol.*, p. 966-70, 1998.
- WENSTROM K. D., et al. Comparison of multiple marker screening with elective amniocentesis for detection of aneuploidy in women ≥ 35 . *Am. J. Obstet. Gynecol.*, v. 172, p. 260, 1995.
- WHEELER D. M., SINOSICH M. J. Prenatal screening in the first trimester of pregnancy. *Prenatal Diagnosis*, v. 18, p. 537-43, 1998.
- WOOLFSON J., et al. Maternal serum alpha-fetoprotein screening in a provincial health district. *Br. J. Obstet. Gynecol.*, v. 86, p. 87-90, 1979.



