

# **Capacidade Diagnóstica dos Biomarcadores de Rastreio Pré-natal**

**Maria Fernanda Duarte Silva**

**Vila Nova de Gaia  
2013**

O presente trabalho destina-se a instruir o processo para admissão às provas públicas para obtenção do Título de Especialista em Análises Clínicas e Saúde Pública, pelo Instituto Politécnico do Porto, segundo emanado no Decreto-lei n.º 206/2009 de 31 de agosto e Despacho n.º 14093/11 de 18 de outubro.

## **Siglas e Abreviaturas**

RPN- Rastreio Pré- Natal

DPN- Diagnóstico Pré- Natal

AFP- Alfa-fetoproteína

$\mu$ E3- Estriol não conjugado

$\beta$ HCG- Fração  $\beta$  da hormona gonadotrofina coriónica humana

PAPP-A- Proteína plasmática A associada à gravidez

TN- Translucência da nuca

DTN- Defeito do tubi neural

MoM- múltiplos da mediana

# Índice

1. Introdução .....	6
2. Principais Malformações Genéticas .....	9
2.1. Síndrome de Down .....	9
2.2. Síndrome de Edwards .....	10
2.3. Defeitos do Tubo Neural .....	10
3. Testes de rastreio pré-natal .....	12
3.1. Testes bioquímicos de rastreio pré-natal .....	13
3.1.1. Alfa-fetoproteína .....	13
3.1.2. Hormona Gonadotrofina Coriônica Humana .....	13
3.1.3. Estriol não conjugado .....	14
3.1.4. Inibina-A .....	14
3.1.5. Proteína plasmática associada à gravidez .....	15
4. Determinação do Risco .....	16
5. Objetivos .....	17
6. Material e Métodos .....	17
6.1. Tipo de Estudo .....	17
6.2. População em Estudo .....	17
6.3. Amostra e critérios de exclusão .....	17
6.4. Variáveis em estudo .....	17
6.5. Questões éticas .....	18
6.6. Análise e tratamento de dados .....	18
7. Resultados .....	19
8. Discussão e Conclusão .....	23
9. Referências Bibliográficas .....	25
10. Bibliografia .....	28

## Índice de Tabelas e Gráficos

<b>Tabela 1.</b>	Alterações da concentração dos marcadores bioquímicos nas principais anomalias cromossômicas .....	15
<b>Tabela 2.</b>	Caracterização da amostra em função da idade .....	19
<b>Tabela 3.</b>	Caracterização da amostra em função do critério para a realização da amniocentese e da classe etária .....	20
<b>Tabela 4.</b>	Caracterização da amostra em função do critério de realização da amniocentese e dos resultados da amniocentese .....	21
<b>Tabela 5.</b>	Caracterização da amostra com resultados positivos de rastreio bioquímico, em função do grupo etário e do resultado da amniocentese .....	21
<b>Tabela 6.</b>	Caracterização da amostra com resultados positivos de rastreio bioquímico ou no rastreio ecográfico, em função do grupo etário e do resultado da amniocentese .....	22
<b>Tabela 7.</b>	Caracterização da idade das grávidas em função da amniocentese .....	23

## Índice de Gráficos

<b>Gráfico 1.</b>	Caracterização da amostra em função do critério para a realização da amniocentese .....	19
<b>Gráfico 2.</b>	Caracterização da amostra em função do critério para a realização da amniocentese e da classe etária 1 .....	20
<b>Gráfico 3.</b>	Caracterização da amostra em função do critério para a realização da amniocentese e da classe etária 2 .....	20
<b>Gráfico 4.</b>	Caracterização da amostra com resultados positivos de rastreio bioquímico, em função do grupo etário 1 e do resultado da amniocentese .....	22
<b>Gráfico 5.</b>	Caracterização da amostra com resultados positivos de rastreio bioquímico, em função do grupo etário 2 e do resultado da amniocentese .....	22

## Resumo

**Introdução:** Algumas anomalias fetais podem colocar sérios riscos para a saúde materna ou estar associadas a uma diminuição acentuada da qualidade de vida do novo ser em formação, ou ainda, ser incompatíveis com a vida do mesmo. O Rastreio Pré-natal (RPN) é um teste que se destina a seleccionar gravidezes com um risco aumentado de apresentarem um feto com malformações.

O desenvolvimento de métodos de rastreio pré-natal de anomalias cromossómicas teve grande impacto no diagnóstico pré-natal (DPN).

Tradicionalmente, a idade materna era vista como o principal teste de rastreio, pelo que todas as mulheres com idade igual ou superior a 35 anos são aconselhadas a realizar amniocentese. Actualmente maioria das amniocenteses já não são realizadas exclusivamente com base na idade materna, mas com base nos resultados dos teste de rastreio actualmente recomendados, devem-se oferecer a todas as grávidas a possibilidade de efectuarem os testes de rastreio pré-natal uma vez que estes são universais, pois aconselhar a amniocentese a todas as mulheres com idade igual ou superior a 35 anos, apresenta baixa capacidade diagnóstica, uma vez que quer neste estudo, quer noutros estudos publicados, apresentam evidência de malformações fetais em mulheres com idade inferior aos 35 anos.

Novos testes de rastreio pré-natal, assim a sua combinação, possibilita a determinação do risco de desenvolver um feto com estas anomalias com elevada probabilidade. As malformações genéticas estão associadas a elevada morbidade e mortalidade. Os testes de rastreio pré-natal assumem especial importância, uma vez que, permitem a sua detecção, ainda numa fase precoce.

O objectivo deste estudo foi avaliar a capacidade diagnóstica dos marcadores bioquímicos analisando os resultados dos diferentes métodos de rastreio pré-natal numa amostra de grávidas que realizaram amniocentese. A população deste estudo foi os registos das amniocenteses, das mulheres grávidas do Serviço de Obstetrícia do Hospital de Santo António -CHP.

**Resultados:** Foram recolhidos 722 registos de amniocenteses, 540 foram realizadas com base na idade materna, 144 no resultado positivo do rastreio bioquímico e 38 com base nos dados ecográficos. No total, 697 (96,5%) das amniocenteses foram negativas e 25 (3,5%) positivas. Relativamente aos testes bioquímicos de rastreio, verificamos que existe uma proporção de 7,64% (n=11) de verdadeiros positivos, e 92,36% (n=133) de falsos positivos.

**Conclusão:** Não existem evidências para afirmar que os marcadores bioquímicos de rastreio pré-natal tenham capacidade diagnóstica, mas tem grande utilidade clínica na detecção do risco de malformações fetais, e por isso mesmo, segundo as últimas recomendações de consenso, o RPN e o DPN devem estar disponíveis para todas as mulheres que iniciem a sua rotina pré-natal antes das 20 semanas de gestação, independentemente da sua idade.

**Palavras-chave:** Anomalias genéticas; Rastreo pré-natal; Diagnóstico pré-natal: marcadores bioquímicos de rastreo pré-natal; Amniocentese.

## 1. Introdução

O Rastreo Pré-natal (RPN) é um teste que se destina a seleccionar gravidezes com um risco aumentado de apresentarem um feto com malformações.

Os testes de rastreo identificam grupos de risco aumentado, com indicação para realização de testes adicionais.

Ao longo das últimas décadas têm-se verificado avanços consideráveis no diagnóstico pré-natal (DPN). Por consenso, os testes de DPN existentes, amniocentese biopsia das vilosidades coriônicas, cordocentese obtenção de uma amostra de sangue fetal retirada directamente do cordão umbilical, têm sido oferecidos às mulheres com idade igual ou superior a 35 anos na data do parto. Outro critério tradicionalmente utilizado para oferecer o DPN é o risco aumentado de aneuploidia fetal, que se baseia na existência de aneuploidias cromossómicas em gravidezes anteriores, defeitos estruturais *major* do feto detectados por ecografia na gestação, e alterações cromossómicas numéricas ou estruturais dos progenitores.

No final da década de 80, foi introduzido um novo método de rastreamento que leva em consideração não somente a idade materna, mas também a concentração de várias substâncias fetoplacentários na circulação da mãe (marcadores bioquímicos).

No segundo trimestre de gravidez, na 16ª semana de gestação, a concentração sérica média materna de alfa-fetoproteína (AFP), estriol não-conjugado (uE3),  $\beta$ -hCG (total e fracção livre) e Inibina-A, em gestações com trissomia 21 é significativamente diferente do normal para permitir o uso de combinações ou de todas as substâncias para seleccionar um grupo de alto risco.

Esse método de rastreo é mais eficaz do que considerar a idade materna isoladamente, como tem sido evidenciado em vários estudos quer nacionais, quer internacionais (*Fundação Medicina Materno Fetal; American College of Obstetricians*)

Nos anos 90, introduziu-se o rastreo da síndrome de Down pela combinação da idade materna, com a medida da translucência da nuca (TN) entre 11-13 semanas de gestação. Esse método tem-se mostrado eficaz na identificação de cerca de 75% dos fetos acometidos, para uma taxa de resultados falsos positivos de aproximadamente 5%.

Subsequentemente, a idade materna e a medida da TN foram associadas a marcadores bioquímicos em soro materno (fracção livre da  $\beta$ -hCG e PAPP-A) no primeiro trimestre, identificando-se 85% a 90% dos fetos acometidos. Ademais, o desenvolvimento de novos métodos laboratoriais, que permitem a dosagem desses marcadores no intervalo de 30 minutos a partir da colheita de sangue, tornou possível a introdução da clínica OSCAR (*One-Stop Clinic for Assessment of Risk*). Isto é, a avaliação do risco para a trissomia 21, baseada na idade materna, na medida da TN e marcadores bioquímicos, pode ser feita em uma única visita ao consultório médico.

Mais recentemente foi proposto um segundo “marcador” ecográfico a adoptar no rastreio da síndrome de Down, que consiste na presença ou ausência dos ossos do nariz numa ecografia efectuada entre as 11-13,6 semanas de gravidez.

De acordo com esta evolução, as recomendações de consenso de 2007 do *American College of Obstetricians and Gynecologists (ACOG)* e da *Society for Maternal-Fetal Medicine*, o RPN e o DPN devem estar disponíveis para todas as mulheres que iniciem a sua rotina pré-natal antes das 20 semanas de gestação, independentemente da sua idade.

As mulheres deverão ser aconselhadas tendo em conta as características e as diferenças entre o RPN e o DPN. A idade materna de 35 anos não deverá ser, por si só, utilizada como limite para determinar a quem é proposto o RPN ou o DPN.

O desenvolvimento de métodos de rastreio pré-natal de anomalias cromossómicas teve grande impacto no diagnóstico pré-natal. O DPN permite identificar as pessoas que têm uma probabilidade aumentada de uma determinada afecção, abrange o rastreio, a prevenção, o diagnóstico, o prognóstico, a terapêutica e o seguimento.

A aplicação dos protocolos de DPN a grávidas consideradas de alto risco pelos padrões habituais (idade materna/ história familiar) possui várias limitações não detecta os cerca de 80% de recém-nascidos com trissomia 21, que nascem de mulheres com menos de 35 anos, e os 95% com defeitos do tubo neural (DTN) e que constituem o primeiro caso na família, segundo dados da *American College of Obstetricians and Gynaecologists*.

O DPN possui actualmente um maior alcance, abrangendo famílias com reconhecido risco e indicações clássicas, assim como a população geral. Considera-se *rastreio* quando os testes são aplicados à população geral, devendo as famílias ser informadas de que não existem testes que permitam garantir que o feto está isento de qualquer malformação.

Neste contexto, o Laboratório Clínico tem um papel importante no seguimento da gravidez, no diagnóstico precoce de complicações, de modo a permitir intervenção adequada e deste modo aumentar as expectativas de uma gravidez com sucesso para a mãe e para o

feto. Algumas anomalias fetais podem colocar sérios riscos para a saúde materna ou estarem associadas a uma diminuição acentuada da qualidade de vida do novo ser em formação, ou ainda, ser incompatíveis com a vida do mesmo.

Nestes casos, um diagnóstico precoce é essencial, de modo a poder tornar acessível a interrupção de gravidez o mais cedo possível e desta forma minimizar o risco de complicações que daí possam advir.

A imagiologia é hoje também uma ferramenta fundamental no seguimento do desenvolvimento fetal. Algumas anomalias fetais evidenciam alterações ecográficas importantes, de tal modo que, a ecografia pode, só por si, constituir um meio de diagnóstico, como no caso de anencefalia.

Contudo, o diagnóstico definitivo e precoce de várias anomalias fetais, só é possível recorrendo a procedimentos invasivos, nomeadamente amniocentese e cordocentese. Estes, no entanto, envolvem riscos, nomeadamente de perda fetal. Como tal, não devem ser realizados a toda a população de mulheres grávidas, mas apenas àquelas que se considera terem risco suficientemente elevado que justifique a realização de um teste diagnóstico invasivo.

A determinação desse risco pode ser efectuada com base em determinações de marcadores bioquímicos no soro materno e dados ecográficos. É neste contexto que se insere o objectivo deste trabalho.

Sendo os testes de rastreio um conjunto de análises (biomarcadores) e dados ecográficos que permitem calcular o risco de ter um feto afetado com uma determinada anomalia, nomeadamente trissomia 21 (Síndrome de Down), a trissomia 18 (Síndrome de Edwards) e a trissomia 13 (síndrome de Patau), ou Defeitos Abertos do Tubo Neural.

Assim estes testes de rastreio pré-natal têm-se tornado objecto de discussão nas Sociedades Científicas nos últimos anos<sup>1</sup>. Por um lado, os testes de diagnóstico, sendo testes invasivos, acarretam riscos tanto para a mulher, como para o feto<sup>1</sup>. Por outro, as malformações fetais estão associadas a alta morbilidade e mortalidade<sup>2</sup>, e a sua prevalência é bastante elevada.

Em Portugal, o Registo Nacional de Anomalias Congénitas (RENAC) encontrou entre 2002 e 2007, uma diminuição da prevalência destas anomalias, o que pode estar relacionado com a oferta dos testes de Rastreio Pré- Natal a todas as grávidas.

## **2. Principais malformações genéticas**

### **2.1 Síndrome de Down**

A síndrome de Down ou trissomia 21 é uma doença causada pela presença de um cromossoma 21 extra no cariótipo fetal<sup>4</sup>, de forma que a sua contagem cromossômica é de 46+1 cromossomas. Está associada a atrasos mentais, malformações cardíacas, gastrointestinais, dos olhos, orelhas, entre outras.<sup>1</sup>

Na ausência de qualquer tipo de rastreio, cerca de 1 em cada 700 fetos nascem com trissomia 21.<sup>4</sup> O Síndrome de Down é a doença cromossômica mais comum e a principal causa de atraso mental grave.

A idade materna possui grande influência na incidência de trissomia 21. Ela ocorre uma vez em cada 1500 nascimentos vivos em mães com 20 anos, uma em cada 25 nascimentos vivos para mães com mais de 45 anos.<sup>7</sup> A correlação com a idade materna sugere que na maioria dos casos, a não disjunção meiótica ocorre no óvulo. Estudos realizados revelam que em 95 % dos casos de trissomia 21, o cromossoma extra é de origem materna.

Algumas características fenotípicas do Síndrome de Down são em geral evidentes logo ao nascimento e incluem perfil facial achatado, fissuras palpebrais oblíquas, ponte nasal baixa, distância interocular ligeiramente aumentada, a face arredondada e os cantos da boca são algumas vezes voltados para baixo. O pescoço é curto, com pele frouxa na nuca, especialmente em recém-nascidos. Aproximadamente 50% dos indivíduos possui uma prega transversal profunda nas palmas em flexão. As mãos e os pés tendem a ser largos e curtos. O tônus muscular diminuído, hipotonia, é uma característica marcante, que ajuda a fazer o diagnóstico.

Aproximadamente 40 % dos pacientes possuem doença cardíaca congénita. Os problemas cardíacos são responsáveis pela maioria das mortes na infância. Cerca de 3% destas crianças desenvolvem atresias (encerramento ou ausência) do esófago, duodeno ou ânus. Assim sendo, estas crianças requerem cuidados médicos especiais, nomeadamente ecocardiograma neonatal, com correcção cirúrgica no primeiro ano de vida se necessário, exame oftalmológico regular a partir dos 4 anos em crianças assintomáticas, medição dos níveis das hormonas tiroideias anualmente, entre outros.<sup>8</sup>

Apesar de todos estes problemas, a melhoria dos tratamentos médicos (cirurgia correctiva, antibioterapia etc.) tem aumentado a longevidade dos pacientes com trissomia

21.<sup>8</sup> Actualmente, a esperança média de vida é de cerca de 47 anos de idade, podendo muitas vezes chegar aos 60, enquanto que em 1983 era de 25 anos.

Como já foi referido o Síndrome de Down é a principal causa de atraso mental severo. Aproximadamente 80% possuem QI de 25 a 50%. Um em cada 25 pacientes aprende a ler e 1 em 50 a escrever. Existe forte evidência de que ambientes culturais enriquecidos podem produzir melhoria significativa na função intelectual.<sup>8</sup>

Estes pacientes apresentam habitualmente estatura pequena e atingem a puberdade tardiamente. Os homens com Síndrome de Down são quase sempre estéreis e as mulheres com esta doença podem ter filhos, embora aproximadamente 40% não ovulem.<sup>8</sup>

Quase todos os doentes com trissomia 21 com mais de 40 anos, desenvolvem alterações neuropatológicas, características da doença de Alzheimer.<sup>7,8</sup>

Ainda que o cariótipo e as características clínicas da trissomia 21 sejam conhecidas há décadas, pouco se sabe a respeito da base molecular do Síndrome de Down.<sup>7</sup>

## **2.2 Síndrome de Edwards**

A síndrome de Edwards ou trissomia 18 é uma síndrome genética resultante de trissomia do cromossoma 18.

A síndrome de Edwards é uma doença rara, causada pela presença extra de um cromossoma 18, afecta 1 em cada 8000 nascimentos<sup>4</sup>.

As principais características da síndrome são: atraso mental, atraso do crescimento e, por vezes, malformação grave do coração. O crânio é excessivamente alongado na região occipital e o pavilhão das orelhas apresenta poucos sulcos. A boca é pequena e o pescoço geralmente muito curto. Está associada a atrasos mentais, malformações cranianas, cardíacas e renais. A maioria das crianças afectadas por esta trissomia morre durante o primeiro ano de vida<sup>1</sup>.

## **2.3 Defeitos do Tubo Neural**

Defeitos abertos do Tubo Neural (DTN) são um grupo de malformações do cérebro e espinal medula. Na ausência do Rastreio Pré-natal, cerca de 1 em cada 2000 bebés nasce com DTN.

São uma das malformações genéticas mais severas, ocorrem no início do desenvolvimento embrionário, pelo 19º dia após a fertilização, a área que se destina à formação do sistema nervoso central, cérebro e espinal medula.

A formação do tubo neural normalmente está completa quatro semanas após a fertilização. Uma falha na fusão do tubo neural leva a defeitos permanentes de desenvolvimento do cérebro ou da espinal medula ou ambos. Estes defeitos englobam desde anecefalia, mielomeningocele, espinha bífida e encefalocelo<sup>(1)</sup>

A anencefalia é uma malformação da extremidade anterior do tubo neural, com ausência de cérebro, mais comumente observada no sexo feminino.

O encefalocelo é um divertículo de tecido do SNC malformado através de um defeito no crânio, que ocorre mais frequentemente na região occipital ou na fossa posterior.

As formas mais comuns de DTN nos recém nascidos são causadas por uma insuficiência no encerramento ou reabertura das porções caudais do tubo neural.

A espinha bífida<sup>1,4</sup>, pode ser um defeito ósseo assintomático, espinha bífida oculta ou uma malformação grave com desorganização e compressão de um segmento medular, associado a uma protusão suprajacente da meninge.

O mielomeningocele refere-se à extensão do tecido do SNC através de um defeito da coluna vertebral. O termo meningocele aplica-se quando houver apenas uma extrusão meníngea. A disfunção neurológica clínica está mais frequentemente associada com a anomalia estrutural da própria medula e à infecção sobreposta que se estende da pele fina suprajacente. Os mielomeningocelos ocorrem mais comumente na região lombo-sagrada e o paciente apresenta manifestações clínicas referentes à função motora e sensitiva nas extremidades inferiores, como também distúrbios no controlo do intestino e da bexiga.<sup>7</sup>

Existem diversas causas para a origem de DTN, cerca de 90% enquadram-se na classificação de herança multifactorial. A deficiência de ácido fólico está claramente associada com o aumento de DTN. A causa nestes casos poderá ser um distúrbio no metabolismo da homocisteína causado pela deficiência de folato. Estudos atribuem à deficiência de folato 70% ou mais dos defeitos do tubo neural.

O aumento da concentração de AFP no líquido amniótico conduz a um aumento na circulação materna. Apenas os casos de defeitos do tubo neural abertos são detectados por screening no soro materno e aproximadamente 90% destes podem ser detectados determinando a AFP no soro materno.<sup>1</sup>

### 3. Testes de rastreio pré-natal

Devido às complicações descritas anteriormente, torna-se importante fornecer às mulheres testes de diagnóstico e de rastreio eficazes.

Devido aos riscos associados aos testes de diagnóstico<sup>5,6</sup>, os testes de rastreio tornaram-se num primeiro passo importante, e não invasivo, na determinação do risco de desenvolver estas anomalias<sup>1</sup>.

Os testes de rastreio pré-natal, podem ser definidos como um conjunto de marcadores bioquímicos e/ou ecográficos que permitem calcular o risco de uma mulher ter um feto com determinada anomalia, nomeadamente as malformações genéticas anteriormente referidas<sup>4</sup>. Existem vários tipos de testes, sendo os mais usados a ultrassonografia, a determinação da translucência da nuca e os marcadores bioquímicos<sup>4</sup>.

O Rastreio Pré-Natal pode ser efectuado no **1º Trimestre** de gravidez (entre as 11 e 13,6 semanas), no **2º Trimestre** (entre as 14 e 20 semanas - idealmente nas 15 semanas) ou Integrado (1º e 2º Trimestres).

A avaliação dos testes bioquímicos do **1º trimestre**, inclui o doseamento no soro materno da fracção livre da  $\beta$ -hCG e da proteína específica associada à gravidez PAPP-A. O rastreio ecográfico do **1º trimestre**, inclui a medição ecográfica do comprimento crânio-caudal (CCC) e da translucência da nuca (TN). Esta traduz a quantidade de líquido acumulado na face posterior do pescoço nesse período de gravidez. Com base na idade materna, nos resultados da ecografia e/ou do marcadores bioquímicos será determinado o seu risco.

O rastreio **combinado do 1º trimestre** inclui os testes bioquímicos e os dados ecográficos.

O rastreio bioquímico do **2º trimestre**, inclui o doseamento sérico da hormona  $\beta$ -hCG, da alfa-fetoproteína (AFP), inibina-A e do estriol não conjugado ( $\mu$ E3).

O **rastreio integrado** inclui os testes e exames do 1º trimestre com os do 2º trimestre.

O nível sérico materno da fracção livre da  $\beta$ -hCG normalmente diminui com a idade gestacional. Em gestações acometidas pela trissomia, esse nível aumenta.

O nível de PAPP-A no sangue materno geralmente aumenta com o decorrer da gravidez e, em gestações com trissomia 21, diminui. Para uma determinada idade gestacional, cada nível da fracção livre do  $\beta$ -hCG e PAPP-A representa um factor de correcção que é multiplicado pelo risco *a priori* para se calcular o novo risco.

Quanto mais alto o nível da fracção livre do  $\beta$ -hCG e mais baixo o nível de PAPP-A, mais alto o risco de trissomia.

### **3.1 Testes bioquímicos de rastreio pré-natal**

De facto, sabe-se que os níveis de determinadas substâncias (marcadores bioquímicos) no sangue de grávidas de fetos normais são, em geral, ligeiramente diferentes do verificado em gestações de fetos com anomalias<sup>2,4</sup>.

Apesar de haver várias possibilidades<sup>7</sup>, geralmente utiliza-se a combinação de apenas quatro dos marcadores descritos a seguir.

#### **3.1.1 Alfa-fetoproteína**

A alfa-fetoproteína (AFP) é uma proteína produzida no feto pelo saco vitelino, trato gastrointestinal e fígado, após 29 dias de concepção<sup>8</sup>. Na circulação fetal, os níveis máximos de AFP são observados entre a 10<sup>a</sup> e 13<sup>a</sup> semana de gestação, e diminuem progressivamente até ao final da gravidez<sup>8,9</sup>. Na circulação materna, observa-se um aumento de AFP a partir da 7<sup>a</sup> semana de gestação, com as concentrações máximas entre as 28 e 32 semanas, em função da maior permeabilidade placentária<sup>8,9</sup>.

A AFP foi o primeiro marcador sérico associado à síndrome de Down. Para além disto, é o único marcador incluído no teste triplo (hCG+AFP+ $\mu$ E<sup>3</sup>) que se revela útil na detecção de DTN<sup>1</sup>. Se esta patologia estiver presente, os níveis de AFP estão marcadamente aumentados<sup>1</sup>.

Em gestações com trissomia 21, os níveis de AFP são em médias inferiores relativamente a gestações não afectadas. A diferença entre os níveis observados em gestações com trissomia 21 e gestações normais aumenta com a idade gestacional. Às 11 semanas a mediana de AFP em gestações com trissomia 21 corresponde a 0,86 MoM sendo portanto muito semelhantes aos de gestações normais (1,0 MoM). No segundo trimestre o seu poder discriminatório melhora, afastando-se mais de 1,0 MoM. Entre as 14-20 semanas a mediana de AFP no soro materno para gestações afectadas é de 0,74 MoM.

#### **3.1.2 Hormona Gonadotrofina Coriónica Humana**

Esta hormona (hCG) é produzida em concentrações muito elevadas pelas células trofoblásticas da placenta. A sua concentração aumenta exponencialmente nas primeiras 8

semanas de gestação, atingindo um pico na 10<sup>a</sup> semana após o último período menstrual<sup>10,11</sup>. Passado este período, os níveis diminuem gradualmente até ao final da gravidez<sup>10,11</sup>.

O aumento desta hormona aparenta ser um dos marcadores mais sensíveis na detecção da trissomia 21<sup>12</sup>. Níveis baixos de hCG estão associados à presença de trissomia 18, enquanto na DTN os seus valores estão normais<sup>1</sup>.

Contudo, a diferença entre os níveis de hCG total em gestações afectadas e não afectadas aumenta com a idade gestacional de tal modo que o seu poder discriminatório é significativamente mais favorável no segundo trimestre de gravidez do que no primeiro. A mediana de hCG total às 11 semanas é de 1,27 MoM enquanto que entre as 14-20 semanas aumenta para 2,05. A utilização do doseamento de hCG total no primeiro trimestre não está indicada. A hCG total é assim um marcador do segundo trimestre.

### **3.1.3 Estriol não conjugado**

O estriol não conjugado ( $\mu\text{E3}$ ) é produzido pela placenta. As suas concentrações aumentam rapidamente durante a gravidez. Contudo, os seus níveis estão diminuídos nas trissomias 18 e 21<sup>1,13</sup>.

Em gestações com trissomia 21, os níveis de uE3 são em médias inferiores relativamente a gestações não afectadas. A diferença entre os níveis observados em gestações com trissomia 21 e gestações normais aumenta com a idade gestacional.

### **3.1.4 Inibina-A**

A inibina-A é uma glicoproteína sintetizada pelas gónadas, corpo lúteo e placenta, sendo esta última a sua principal fonte<sup>14,15,16</sup>. As concentrações de inibina-A aumentam progressivamente durante o desenrolar da gravidez, especialmente durante o terceiro trimestre<sup>14,15,16,17</sup>. No entanto, pode estar anormalmente elevada em gestações de fetos com síndrome de Down<sup>1,18,19</sup>. Por isso, estudos sugerem que a inclusão deste marcador nos testes de rastreio é uma mais valia<sup>1,16,20</sup>.

Em gestações com trissomia 21, os níveis de inibina-A são em média superiores relativamente a gestações normais. A diferença entre os níveis observados em gestações com trissomia 21 e gestações normais aumenta com a idade gestacional. Às 11 semanas a mediana de inibina-A em gestações com trissomia 21 corresponde a 1,35 MoM enquanto que entre as 14-20 semanas a mediana de inibina-A para gestações afectadas é de 2,54 MoM.

### 3.1.5 Proteína plasmática associada à gravidez

A proteína plasmática associada à gravidez (PAPP-A) é uma glicoproteína produzida especificamente pelo trofoblasto, pelo que, é encontrada apenas em mulheres grávidas<sup>21</sup>. As concentrações de PAPP-A são detectáveis a partir da oitava semana de gestação, e aumenta progressivamente durante a gravidez<sup>22</sup>.

Nas gestações de fetos com síndrome de Down, os níveis desta proteína estão significativamente diminuídos<sup>23</sup>. Desta forma, a utilização da PAPP-A pode ser utilizada no rastreio de trissomia 21, especialmente durante o primeiro trimestre<sup>24</sup>. Quando comparada com os outros marcadores isolados, a PAPP-A, oferece a mais elevada taxa de detecção no rastreio precoce de trissomia 21<sup>25</sup>.

A diferente combinação destes marcadores (tabela 1), permite obter uma sensibilidade bastante elevada (cerca de 70%), com uma baixa taxa de falsos negativos (aproximadamente 5%).<sup>12,13,26</sup>

Um resultado positivo nestes testes representa um risco aumentado, e por isso mesmo, é uma indicação para a realização de testes de diagnóstico.

**Tabela 1** – Alterações da concentração dos marcadores bioquímicos nas principais anomalias cromossómicas<sup>1</sup>.

	Anomalias		
	DTN	Trissomia 21	Trissomia 18
<b>AFP</b>	Aumentada	Diminuída	Diminuída
<b>hCG</b>	Normal	Aumentada	Diminuída
<b>Marcador</b>	<b><math>\mu E^3</math></b>	Normal	Diminuído
	<b>Inibina-A</b>	Normal	Aumentada
	<b>PAPP-A</b>	Normal	Diminuída

## 4. Determinação do risco

Ainda que a idade materna pode ser vista como o primeiro “teste de rastreio”, uma vez que, a incidência destas alterações está directamente relacionada com o seu aumento<sup>5</sup>, toda a mulher corre o risco de que o seu feto tenha uma anomalia cromossómica.

Para se calcular esse risco individualmente, é necessário ter-se em consideração o risco basal ou risco *a priori* (*background risk*), o qual depende da idade materna e do tempo de gestação e multiplicá-lo por uma série de factores, ou riscos relativos, que são resultados dos testes de rastreio realizados durante a gestação, determinando-se, assim, o risco específico para cada grávida<sup>2,26,27</sup>.

O risco relativo (*likelihood ratio*) para uma certa medida ultrassonográfica ou bioquímica é calculado dividindo-se a percentagem de fetos acometidos pela percentagem de fetos normais com as mesmas medidas<sup>28</sup>.

Sempre que um teste é realizado, o risco *a priori* é multiplicado pelo risco relativo, ou factor de correcção, do teste para se calcular um novo risco, o qual se torna, por sua vez, o risco basal para o próximo teste (Snijders e Nicolaidis, 1996)<sup>27</sup>. Para que se processe o resultado final do rastreio combinado é necessária a utilização de um *software* (programa de computador) próprio que é facultado por uma entidade reguladora, como a *Fetal Medicine Foundation*<sup>28</sup>.

O diagnóstico definitivo de algumas malformações referidas só pode ser feito através de exames invasivos, como a biópsia das vilosidades coriónicas ou a amniocentese<sup>29</sup>. Ainda que invasivo, a amniocentese é o teste que mais frequentemente se referencia para determinar as anomalias cromossómicas.

Só deverão ser realizados este tipo de testes em gravidezes consideradas sob risco de malformações cromossómicas. Assim, actualmente é recomendada a sua realização às mulheres consideradas de alto risco, ou seja, mulheres com um resultado positivo nos testes de rastreio.

No entanto, esta prática não tem em consideração alguns aspectos importantes. Por um lado, o número de mulheres que atrasam a idade para a primeira gravidez tem aumentado consideravelmente. Por outro lado, tem-se assistido a uma evolução nos testes de rastreio pré-natal, tal como a inclusão de vários outros marcadores em simultâneo, fazer os testes durante o primeiro trimestre, e ainda exames ecográficos, tudo isto permitiu um aumento na sensibilidade e especificidade destes testes<sup>4,26</sup>.

## **5. Objetivo**

Com este trabalho pretende-se evidenciar a **capacidade diagnóstica dos testes bioquímicos de rastreio pré-natal**, no diagnóstico precoce das referidas doenças, diminuindo assim as técnicas invasivas.

A nossa hipótese é se estes biomarcadores terão maior sensibilidade e especificidade na deteção de malformações fetais.

Desta forma, o objectivo do estudo foi avaliar os resultados dos diferentes métodos de rastreio pré-natal numa amostra de grávidas do Hospital Santo António que realizaram amniocentese.

## **6. Material e métodos**

### **6.1 Tipo de estudo**

Realizou-se um estudo observacional analítico transversal.

### **6.2 População em estudo**

A população deste estudo foi os registos das amniocenteses, das mulheres grávidas do Serviço de Obstetrícia do Hospital de Santo António- CHP.

### **6.3 Amostra e critérios de exclusão**

Foi recolhida uma amostra referente aos anos 2008-2010. Para cada unidade amostral, foram recolhidos os dados referentes às variáveis em estudo. Foram definidos como critérios de exclusão a inexistência de qualquer informação relativamente às variáveis em estudo.

### **6.4 Variáveis em estudo**

**Idade** - variável discreta, expressa em anos

**Grupo Etário** - Variável dicotómica, obtida através da categorização da variável discreta Classificada do seguinte modo:

- Grupo 1 (grávidas com idade inferior a 35 anos).
- Grupo 2 (grávidas com idade igual ou superior a 35 anos)

**Tempo de gestação** - Variável discreta, expressa em semanas.

**Diagnóstico** - Variável qualitativa nominal

**Idade materna avançada** - Variável qualitativa nominal. (Grávidas com idade superior ou igual que 35 anos)

**Rastreio bioquímico** - Variável qualitativa nominal dicotómica, positivo ou negativo.

**Rastreio ecográfico** - Variável qualitativa nominal dicotómica, positivo ou negativo.

**Resultado da amniocentese** - Variável qualitativa nominal dicotómica, positivo ou negativo.

## 6.5 Questões éticas

Cumpriram-se os pressupostos da declaração de Helsínquia<sup>35</sup>.

## 6.6 Análise e tratamento de dados

A análise estatística foi efectuada com o programa SPSS 16.0.<sup>®</sup> Os dados obtidos foram registados numa folha de cálculo criada especificamente para o efeito. A amostra foi dicotomizada, utilizando os resultados da amniocentese para a determinação dos Verdadeiros Positivos (VP) e Falsos Positivos (FP).

Foi utilizado o teste do qui-quadrado, com um nível de significância de 5%, para determinar a associação ou independência entre o resultado da amniocentese e o grupo etário.

## 7. Resultados

Foram seleccionados 722 registos de amniocenteses realizadas entre Janeiro de 2005 e Maio de 2008 no Hospital Geral de Santo António.

Como se pode verificar na tabela 2, a média das idades das grávidas foi de 36 anos, sendo o mínimo 16 e o máximo 46 anos.

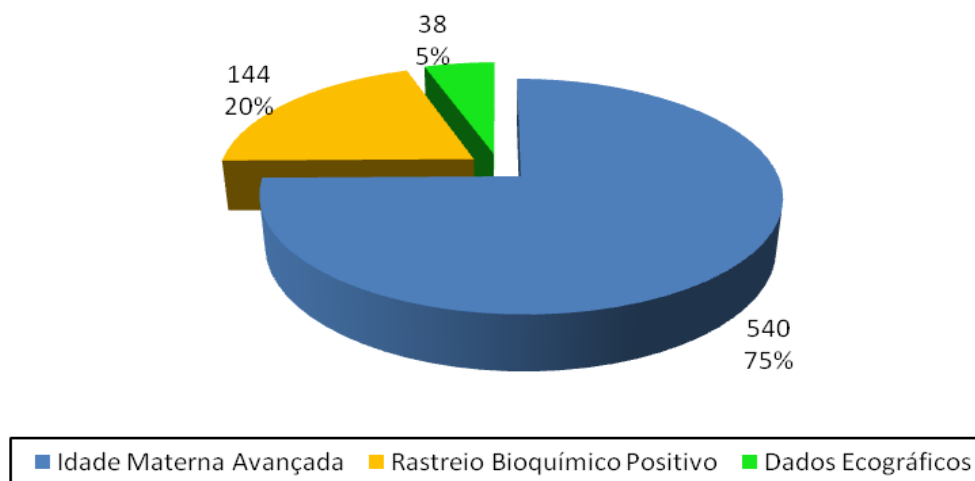
**Tabela 2** - Caracterização da amostra em função da idade.

N	Média	Moda	Mínimo	Máximo
722	36	36	16	46

Pertencem ao grupo 1 (idade inferior a 35 anos) 160 grávidas e ao grupo 2 (idade igual ou superior a 35 anos) 562 grávidas.

Relativamente ao critério para a realização da amniocentese, 540 amniocenteses foram realizadas com base na idade materna avançada (IMA), 144 no resultado positivo do rastreio bioquímico e 38 com base nos dados ecográficos (gráfico 1).

**Gráfico 1** – Caracterização da amostra em função do critério para a realização da amniocentese.



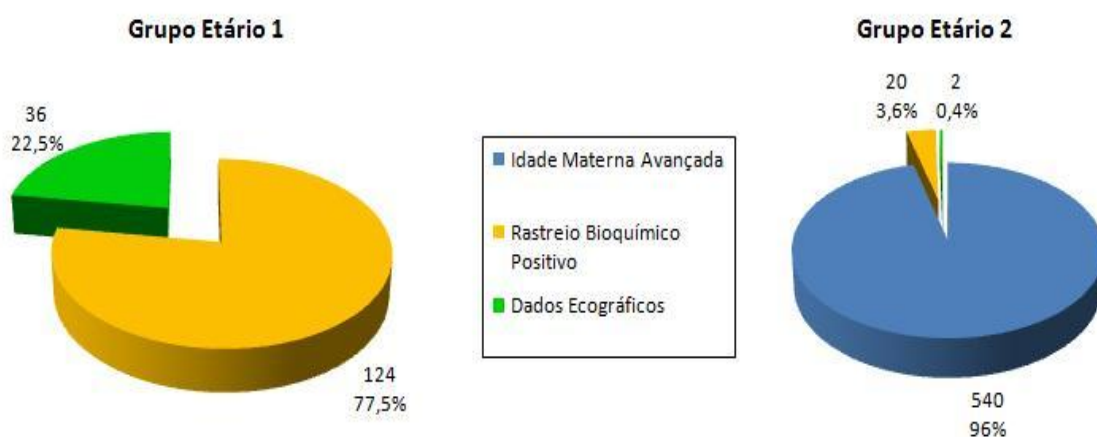
No grupo 1, 124 das amniocenteses foram realizadas com base no rastreio bioquímico positivo e 36 com base nos dados ecográficos. (tabela 3).

No grupo 2, 540 das amniocenteses basearam-se na IMA, 20 no rastreio bioquímico positivo e apenas 2 nos dados ecográficos (tabela 3).

**Tabela 3** – Caracterização da amostra em função do critério para a realização da amniocentese e da classe etária.

		Critério	
		n	%
<b>Grupo 1</b>	Rastreio Bioquímico Positivo	124	77,5
	Dados Ecográficos	36	22,5
	<b>Total</b>	160	100
<b>Classe Etária</b>	Idade Materna Avançada	540	96
<b>Grupo 2</b>	Rastreio Bioquímico Positivo	20	3,6
	Dados Ecográficos	2	0,4
	<b>Total</b>	562	100

**Gráfico 2 e 3** - Caracterização da amostra em função do critério para a realização da amniocentese e da classe etária.



No total, 697 (96,5%) dos resultados das amniocenteses foram negativos e 25 (3,5%) foram positivos (13 no grupo 1 e 12 no grupo 2). Em relação aos resultados positivos, 8

efectuaram a amniocentese com base na idade, 11 no rastreio bioquímico positivo e 6 nos dados ecográficos (tabela 4).

**Tabela 4** – Caracterização da amostra em função do **critério de realização da amniocentese e dos resultados da amniocentese.**

		Critério				Total	%
		IMA	Rastreio BQ Positivo	Dados Ecográficos			
		n	n	n	n		
<b>Resultado da Amniocentese</b>	Positivo	8	11	6	25	3,5	
	Negativo	532	133	32	697	96,5	
	<b>Total</b>	540	144	38	722	100	

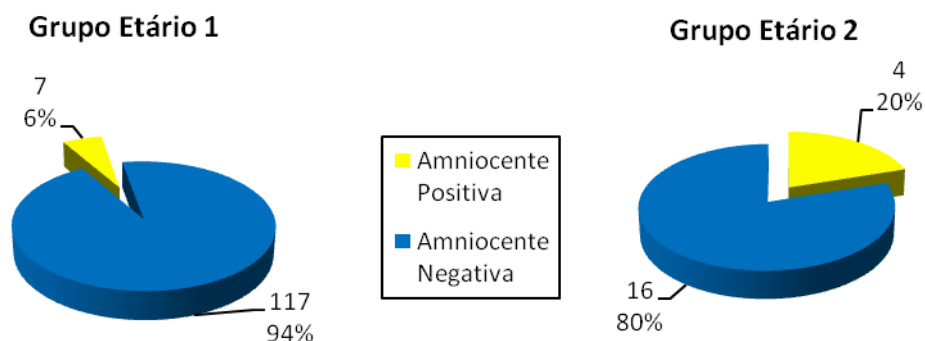
Passando à análise dos resultados positivos da amniocentese, é importante determinar os valores dos Verdadeiros Positivos (VP) e Falsos Positivos (FP) de cada um dos critérios para a sua realização.

Relativamente aos testes bioquímicos de rastreio pré-natal, verificamos que existe uma proporção de 7,64% (n=11) de Verdadeiros Positivos (VP), uma vez que, os testes bioquímicos apresentaram resultados positivos, assim como a amniocentese 92,36% (n=133) são Falsos Positivos (FP), dado que os resultados do rastreio bioquímico foram positivos e a amniocentese negativa (tabela 5). Se avaliarmos estes valores em função do grupo etário, podemos verificar que nas grávidas com mais de 35 anos, os valores de VP aumentam. Assim, o valor de Verdadeiros Positivos no grupo 1 é de 5,64% e no grupo 2 é de 20%.

**Tabela 5** - Caracterização da amostra com resultados positivos de **rastreio bioquímico**, em função do grupo etário e do resultado da amniocentese.

		Amniocentese		Total
		Positiva	Negativa	
<b>Rastreio Bioquímico Positivo</b>	Grupo Etário 1	7	117	124
	Grupo Etário 2	4	16	20
	<b>Total</b>	11	133	144

**Gráfico 4 e 5** - Caracterização da amostra com resultados positivos de **rastreio bioquímico**, em função do grupo etário e do resultado da amniocentese.



Se ao rastreio bioquímico adicionarmos os casos com resultados positivos no rastreio ecográfico, verificamos que o VP aumenta para 9,34% (tabela 6).

**Tabela 6** - Caracterização da amostra com resultados positivos de rastreio bioquímico ou no rastreio ecográfico, em função do grupo etário e do resultado da amniocentese.

		Amniocentese		Total
		Positiva	Negativa	
<b>Rastreio Bioquímico Positivo</b> <b>ou</b>	Grupo Etário 1	13	147	160
	Grupo Etário 2	4	18	22
<b>Rastreio Ecográfico Positivo</b>	Total	17	165	182

A proporção dos VP das amniocenteses realizadas com base na IMA é de 1,48% (n=8). No grupo 1 os VP representam 2,17%, e no grupo 2 verifica-se uma diminuição deste valor (1,34%). Em relação aos FP o seu valor é de 98,5%.

Na tabela 7 podemos observar que a média de idades foi de 35 anos para as grávidas com resultado positivo na amniocentese (com idade mínima de 23 anos, máxima de 43) e 36 anos para as grávidas com resultados negativos na amniocentese (com a idade mínima de 16 anos e a máxima de 46).

**Tabela 7** - Caracterização da idade das grávidas em função da amniocentese.

	Amniocentese	
	Positiva	Negativa
Média	35	36
Moda	43	36
Mínimo	23	16
Máximo	43	46

Assim, através da realização do teste do qui-quadrado, e para um nível de significância de 5 % ( $\alpha=0,05$ ), podemos afirmar que não existem evidências estatísticas significativas, para afirmar que o grupo etário e o resultado da amniocentese estão associados.

## **8.Discussão e Conclusão**

Das 722 grávidas que realizaram amniocentese foram diagnosticados 25 casos de anomalias cromossômicas, o que representa uma incidência de 3,46%. No entanto, não existem evidências estatísticas significativas para concluir que existe uma relação entre a idade e o resultado da amniocentese, assim, uma mulher grávida independentemente da sua idade, deve realizar os testes de rastreio pré-natal.

Actualmente maioria das amniocenteses já não são realizadas exclusivamente com base na idade materna, mas com base nos resultados dos testes de rastreio recomendados pela sociedades de consenso, devem-se oferecer a todas as grávidas a possibilidade de efectuarem os testes de rastreio pré-natal uma vez que estes são universais, pois aconselhar a amniocentese a todas as mulheres com idade igual ou superior a 35 anos, apresenta baixa capacidade diagnóstica, uma vez que quer neste estudo, quer noutros estudos publicados, apresentam evidência de malformações fetais em mulheres com idade inferior aos 35 anos.

Através da análise dos resultados podemos concluir que a prática de realizar a amniocentese a todas as mulheres com idade igual ou superior a 35 anos, tem baixo poder discriminativo entre doença e gravidez normal, e por isso mesmo apresenta baixa capacidade diagnóstica. Ou seja, das 540 amniocenteses realizadas exclusivamente com base na IMA, apenas 8 foram Verdadeiros Positivos (1,48%), em relação aos Falsos Positivos verificamos que se trata de um valor muito elevado (98,48%). Contudo, não podemos ignorar que a

amniocentese permite detectar outras anomalias cromossómicas, que não as anteriormente descritas e detectáveis pelos testes de rastreio.

Em relação aos testes de rastreio marcadores bioquímicos podemos concluir que o valor de VP é de 7,64%, contudo, o valor dos FP é muito elevado (92,36%). Se adicionarmos os testes ecográficos aos testes bioquímicos obtemos um valor de Verdadeiros Positivos de 9,34%. Podemos assim concluir que o rastreio combinado dentro deste tipo de testes é uma mais-valia na detecção de malformações fetais. Porém este valor revela-se bastante inferior ao esperado. Estes valores podem ser explicados por diferentes razões. Na prática clínica são utilizados apenas quatro dos marcadores bioquímicos referidos (AFP,  $\beta$ -hCG,  $\mu$ E<sup>3</sup>, PAPP-A) enquanto que os estudos que apresentam maior sensibilidade, utilizam todos os marcadores (incluem a inibina-A).

Relativamente a este estudo, não foi possível determinar indicadores como a sensibilidade e especificidade dos marcadores bioquímicos de rastreio pré-natal, que seria um aspecto muito importante para este trabalho, uma vez que, poderia diminuir o número de grávidas submetidas ao teste invasivo amniocentese. Esta limitação deveu-se aos dados utilizados, dado que, ao utilizar os registos das amniocenteses realizadas, desde logo, os resultados obtidos não abrangem os casos de mulheres grávidas em que não há suspeitas da existência de alguma malformação genética.

Os testes de Rastreio Pré-natal embora insuficientes, em conjunto com os marcadores ecográficos nomeadamente a TN e ecografia aos ossos do nariz (ON), ductos venosos, entre outros já em elaboração, serão uma mais-valia em termos de diagnóstico de cromossomopatia, e ainda como prognóstico de outras patologias nomeadamente pré-eclampsia, atraso de crescimento intra-uterino e risco de parto pré-termo, etc.

## 9. Referências Bibliográficas

- (1) Graves J, Miller K. Maternal Serum Triple Analyte Screening in Pregnancy. *Am Fam Physician* 2002; 65(5): 915-920.
- (2) Haddow JE, Palomaki GE, Knight GJ, Williams J, Pulkkinen A, Canick JA, et al. Prenatal screening for Down's syndrome with use of maternal serum markers. *N Engl J Med*. 1992; 327(9): 588-93.
- (3) Feijóo M, Braz P, Soares M, Dias C. Prevenção Primária dos Defeitos do Tubo Neural o Papel do Ácido Fólico. Projecto CERAC. Lisboa: 2004.
- (4) Genética Médica e Diagnóstico pré-natal, Prof. Doutor Sérgio Castedo, Lda. Rastreamento pré-natal de defeitos abertos do tubo neural e síndrome de Down. Porto: Garra; 2004.
- (5) Haddow JE, Palomaki GE, Knight GJ, Cunningham GC, Lustig LS, Boyd PA. Reducing the need for amniocentesis in women 35 years of age or older with serum markers for screening. *N Engl J Med*. 1994; 330(16): 1114-8.
- (6) Royal College of Obstetricians and Gynaecologists. Consent Advice 6. 2006
- (7) Bern P, Clive J, Collins R. Medians for second-trimester maternal serum a-fetoprotein, human chorionic gonadotropin, and unconjugated estriol; differences between races or ethnic groups. *Clin Chem* 1997; 43(2): 333-337.
- (8) Sanseverino M, Kessler R, Burin M, Stein N, Herman R, Matte U, et al. Diagnóstico pré-natal: avanços e perspectivas. *R HCPA*. 2001; 3: 301-316.
- (9) Milunsky A, Milunsky J. Genetic Counseling: Preconception, Prenatal, and Perinatal. In: Milunsky A, editor. *Genetic Disorders and the Fetus*. 4<sup>th</sup> ed. Baltimore and London: The Johns Hopkins University Press; 1998. p.1-52.
- (10) Cole LA, Muller C, Khanlian S. The USA hCG Reference Service **[homepage na internet]**. New Mexico: Department of Obstetrics and Gynecology University of New Mexico; [acesso em Maio de 2007]. Disponível em: [www.hcglab.com](http://www.hcglab.com).
- (11) Alfthan H. Various molecular forms of human chorionic gonadotropin in serum and urine of nonpregnant and pregnant subjects. Helsinki: Yliopistopaino; 1994.
- (12) Brock DJ, Barron L, Holloway S, Liston WA, Hillier SG, Seppala M 1990 First trimester maternal serum biochemical indicators in Down syndrome. *Prenat Diagn* 10: 245-251.

- (13) Staples A, Robertson E, Ranieri E, Ryall R, Haan E. A Maternal Serum screen for trissomy 18: an extension of maternal serum screening for Down syndrome. *Am J Hum Genet* 1991; 49: 1025-1033.
- (14) Muttukrishna S, George L, Fowler PA, Groome NP, Knight PG 1995 Measurement of serum concentrations of inhibin-A ( $\alpha$ - $\beta$  A dimer) during human pregnancy. *Clin Endocrinol (Oxf)* 42: 391-397.
- (15) Muttukrishna S, Fowler PA, George L, Groome NP, Knight PG 1996 Changes in peripheral serum levels of total activin A during the human menstrual cycle and pregnancy. *J Clin Endocrinol Metab* 81: 3328-3334.
- (16) Kratzer PG, Golbus MS, Monroe SE, Finkelstein DE, Taylor RN 1991 First-trimester aneuploidy screening using serum human chorionic gonadotropin (hCG), free ahCG, and progesterone. *Prenat Diagn* 11: 751-763.
- (17) Lahiri S, Anobile C, Stewart P, Ledgen W, Changes in circulating concentrations of inhibins A and pro- $\alpha$  C during first trimester medical termination of pregnancy. *Human Rep* 2003; 18(4): 744-748.
- (18) Van Lith JM, Pratt JJ, Beekhuis JR, Mantingh A 1992 Second trimester maternal serum immunoreactive inhibin as a marker for fetal Down's syndrome. *Prenat Diagn* 12: 801-806.
- (19) Wallace EM, Swanston IA, McNeilly AS, Ashby JP, Blundell G, Calder AA, Groome NP 1996 Second trimester screening for Down's syndrome using maternal serum dimeric inhibin A. *Clin Endocrinol (Oxf)* 44: 17-21.
- (20) Cuckle H 1996 Established markers in second trimester maternal serum. *Early Hum Dev (Suppl)* 47: S27-S29.
- (21) Gall SA, Halbert SP 1972 Antigenic constituents in pregnancy plasma which are undetectable in normal non-pregnant female or male plasma. *Int Arch Allergy Appl Immunol* 42: 503-515.
- (22) Folkersen J, Grudzinskas JG, Hindersson P, Teisner B, Westergaard JG 1981 Pregnancy-associated plasma protein A: circulating levels during normal pregnancy. *Am J Obstet Gynecol* 139: 910-914.
- (23) Canick JA, Kellner LH 1999 First trimester screening for aneuploidy: serum biochemical markers. *Semin Perinatol* 5: 359-368.
- (24) Wald NJ, George L, Smith D, Densem JW, Petterson K 1996 Serum screening for Down's syndrome between 8 and 14 weeks of pregnancy. International Prenatal Screening Research Group. *Br J Obstet Gynaecol* 103: 407-412.

- (25) Haddow JE, Palomaki GE, Knight GJ, Williams J, Miller WA, Johnson A 1998 Screening of maternal serum for fetal Down's syndrome in the first trimester. *N Engl J Med* 338: 955-961.
- (26) Palomaki G, Neveux L, Knight G, Haddow J, Pandian R. Maternal Serum Invasive Trophoblast Antigen (Hyperglycosylated hCG) as a Screening Marker for Down Syndrome during the Second Trimester. *Clin Chem* 2004; 50(10): 1804-1808.
- (27) Nicolaides K, Duarte L, Marcolim A, Duarte G. Rastreio para anomalias cromossómicas no primeiro trimestre da gestação. *Ver Bras Ginecol Obstet.* 2007; 29(12): 647-53.
- (28) Nicolaides K, de Figueiredo D. O exame ultra sonográfico entre 11-13<sup>+6</sup> semanas. *Fetal Medicine Foundation; Londres: 2004.*
- (29) Wapner R, Thom E, Simpson J, Pergament E, Silver R, Filkins K, et al. First Trimester Screening for trisomies 21 and 18. *N Engl J Med* 2003; 349(15): 1405-1413.
- (30) MacDonald M, Wagner R, Slotnick N. Sensitivity and specificity of Screening for Down Syndrome with Alfa-fetoprotein, hCG, Unconjugated Estriol, and Maternal Age. *Obst & Gynec* 1991; 77: 63-68.
- (31) Meier C, Huang T, Wyatt P, Summers A. Accuracy of Expected risk of Down Syndrome using the second trimester triple test. *Clin Chem* 2002; 48(4): 653-654.
- (32) Royal College of Obstetricians and Gynaecologists. Guideline No.8 – Amniocentesis and Chorionic Villus Sampling. 2005.
- (33) Benn P, Egan J, Fang M, Smith-Bindman R. Changes in the utilization of prenatal Diagnosis. *Obst & Gyn* 2004; 103(6): 1255-1260.
- (34) Boyd PA, DeVigan B, Loane M, Garne E, Dolk H, and EUROCAT working group. Survey of prenatal screening policies in Europe for structural malformations and chromosome anomalies, and their impact on detection and termination rates for neural tube defects and Down's syndrome. *I J of obstetric and gynaecology* 2008; 689-696.
- (35) Centro nacional de ética para as ciências da vida. Declaração de Helsínquia [online]. Portugal; 2001 [visitado 06 Fev. 2008]. Disponível em: <http://www.cnecev.gov.pt/NR/rdonlyres/33B4499EF603-4601-9C9C8387A375A0F0/0/P034DeclHelsinqiaEdimburgo.pdf>.
- (36) Lalanda P. A população feminina e as transições familiares através da demografia. *Revista de Estudos Demográficos*; 38: 18-19.

## **Bibliografia**

- Centre for Genetics Education. Prenatal testing – overview. The Australasian Genetics Resource Book 2007: 1-4.
- Newberger D. Down Syndrome: Prenatal Risk Assessment and Diagnosis. American Family Physician 2000; 15.
- Macri N, Anderson W, Krantz A, Larsen W, Buchanan D. Prenatal maternal dried blood screening with alpha-fetoprotein and free beta-human chorionic gonadotropin for open neural tube defect and Down syndrome. American Journal of Obstetrics & Gynecology 1996; 174(2): 566-572.