GREGÓRIO LORENZO ACÁCIO

TRANSLUCÊNCIA NUCAL COMO MARCADOR ULTRA-SONOGRÁFICO DE CROMOSSOMOPATIA FETAL

Dissertação de Mestrado apresentada ao Curso de Pós-Graduação em Medicina, área de Tocoginecologia da Faculdade de Ciências Médicas da Universidade Estadual de Campinas para obtenção do Título de Mestre em Tocoginecologia

ORIENTADOR: **Prof. Dr. RICARDO BARINI**
CO-ORIENTADOR: **Prof. Dr. WALTER PINTO JÚNIOR**

2000041123

UNICAMP
1999

UNIDADE BC
N.º CHAMADA:
T/UNICAMP
Ac12t
V. Ex.
TOMBO BC/ 40613
PROC 287/00
C D X
PREÇO 11,00
DATA 18/03/00
Nº CPD

CM-00138928-

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA BIBLIOTECA DA FACULDADE DE CIÊNCIAS MÉDICAS UNICAMP

Ac12t

Acácio, Gregório Lorenzo

Translucência nucal como marcador ultra-sonográfico de cromossomopatia fetal / Gregório Lorenzo Acácio. Campinas, S.P.: [s.n.], 1999.

Orientadores: Ricardo Barini, Walter Pinto Júnior

Tese (Mestrado) Universidade Estadual de Campinas. Faculdade de Ciências Médicas.

1. Aneuploidia. 2. Ultra-sonografia. 3. Cromossomos. 4. Feto. I Ricardo Barini. II. Walter Pinto Júnior. III. Universidade Estadual de Campinas. Faculdade de Ciências Médicas. IV. Título.

UNICAMP
BIBLIOTECA CENTRAL
SEÇÃO CIRCULANTE

BANCA EXAMINADORA DA DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

Aluno: GREGÓRIO LORENZO ACÁCIO

Orientador: Prof. Dr. RICARDO BARINI

Co-Orientador: Prof. Dr. WALTER PINTO JÚNIOR

Membros:

1.
2.
3.

Curso de Pós-Graduação em Tocoginecologia da Faculdade de Ciências Médicas da Universidade Estadual de Campinas

Data: 03/12/99

dedico este trabalho ...

... aos meus pais, José e Pacita.
"Toda minha gratidão, sentimento que expressa a impossibilidade de devolver tudo aquilo que vocês me deram por amor, às custas de muito suor."

... a minha mulher, Wilma, minha cúmplice acadêmica.
"MEU PAR, meu melhor par".

... ao meu filho, Gustavo, minha "vítima".
"Que minhas ausências sempre sejam compensadas com qualidade de convivência".

UNICAMP
BIBLIOTECA CENTRAL
SEÇÃO CIRCULANTE

Ao Prof. Ailton Augustinho Marchi – A pessoa que melhor me representa o conceito de MESTRE.

Agradecimentos

Ao Prof. Dr. Ricardo Barini, por receber, nesta universidade, um "antígeno" reconhecendo-o como "self", e pela sua orientação neste trabalho.

Ao Prof. Dr. Walter Pinto Júnior, pelos conhecimentos científicos que me passa de forma apaixonada.

Ao Prof. Dr. Corintio Mariani Neto, a quem devo meu interesse pelo bem estar fetal.

À Profª. Dra. Valéria Holmo Batista Tuffi, por me despertar o interesse acadêmico.

Ao Dr. Luís Carlos Machado, que me mostrou a necessidade da constante atualização na profissão.

Ao Prof. Dr. José Eduardo Nestarez, pelo invejável raciocínio clínico que tenta ensinar.

Ao Dr. Renato Ximenes, companheiro desde o início de minha atuação em medicina fetal e fundamental no apoio logístico deste trabalho.

À Dra. Márcia de Moura Rodrigues, companheira de ultra-sonografia e um exemplo de bom relacionamento.

Ao Dr. Heverton Pettersen e Dr. Marcos Faria, pela amizade e gentileza em autorizar a utilização dos dados de sua clínica de Belo Horizonte.

Ao Dr. Heron, Dra. Cristina e Dr. Sérgio Simões, colegas de outros trabalhos de TN, apresentados em congressos.

À Dra. Sandra Helena Lopes Do Val, amiga constante na Universidade de Taubaté.

À Dra. Eliana Amaral, Dra. Denise Cavalcanti e Dr. Belmiro Gonçalves Pereira, pelas orientações dadas na minha qualificação.

À Dra. Anete e Dr. Hernani, pela amizade e pelas "coberturas" de minhas ausências à clínica ECOS.

À Srta. Cleide Barbosa, pela criteriosa digitação da ficha de coleta de dados.

Ao Edson Zamgiacomi Martinez (Estatístico), pela importante ajuda no desenho estatístico da tese.

A todos da Clínica Centrus® pela colaboração neste trabalho.

Ao serviço de Ginecologia e Obstetrícia da Universidade de Taubaté, minha casa, e ao seu responsável Prof. Dr. Xenofonte R. Mazzini.

A todos os meus colegas da Clínica Obstétrica do Hospital Universitário de Taubaté.

Ao Setor de Medicina Fetal da FCMUSP, local onde comecei a ver o feto como paciente.

À Universidade de Taubaté, em especial à Profa. Dra. Maria Júlia Xavier, da Pró-Reitoria de Pós-Graduação, pelo apoio dado.

A todos os professores dos cursos da pós-graduação, em especial à Profa. Dra. Ellen Hardy, Prof. Dr. José Guilherme Cecatti, Prof. Dr. Juan Diaz, Prof. Dr. Luís Guillermo Bahamondes, Profa. Dra. Eliana Amaral, que cumprem com o dever de um curso de pós-graduação: ensinar método científico e preparar o pesquisador para pensar.

Ao DTG/CAISM– UNICAMP, pela seriedade científica que me foi mostrada.

A todos da ASTEC/CAISM e da secretaria de pós-graduação, pelo carinho e competência demonstrados.

Sumário

Símbolos, Siglas e Abreviaturas

Resumo

1. *Introdução* 1
   - 1.1. *Prevalência das aneuploidias* 2
   - 1.2. *Aneuploidias e idade materna* 2
   - 1.3. *Rastreamento bioquímico das aneuploidias* 3
   - 1.4. *Ultra-sonografia e aneuploidias* 5
   - 1.5. *Translucência nucal* 6
     - 1.5.1. *Etiopatogenia do acúmulo de fluido nucal* 7
     - 1.5.2. *Etiologia da translucência nucal* 8
     - 1.5.3. *Evolução da medida da translucência nucal* 9
     - 1.5.4. *Reprodutibilidade da medida da TN* 9
     - 1.5.5. *Translucência nucal e aneuploidias* 11
     - 1.5.6. *TN aumentada e fetos cromossomicamente normais* 13
2. *Objetivos* 17
   - 2.1. *Objetivo Geral* 17
   - 2.2. *Objetivos Específicos* 17
3. *Casuística e Métodos* 19
   - 3.1. *Desenho do estudo* 19
   - 3.2. *Tamanho amostral* 19
   - 3.3. *Seleção de sujeitos* 20
   - 3.4. *Instrumento para coleta de dados* 20
   - 3.5. *Coleta de Dados* 20
   - 3.6. *Variáveis e conceitos* 21
   - 3.7. *Técnicas e exames* 22
     - 3.7.1. *Ultra-sonografia* 22
     - 3.7.2. *Obtenção do material para cariótipo* 24
     - 3.7.3. *Técnica da análise laboratorial* 26
   - 3.8. *Processamento e análise dos dados* 26
4. *Resultados* 29
5. *Discussão* 53
6. *Conclusões* 65
7. *Summary* 67
8. *Referências Bibliográficas* 69
9. *Bibliografia de Normatizações* 79
10. *Anexos* 81

Símbolos, Siglas e Abreviaturas

µg	Micrograma
AFP	Alfafeto proteína
BD	Becton e Dickinson
CAISM	Centro de Atenção Integral à Saúde da Mulher
CCN	Comprimento cabeça-nádega
DP	Desvio-padrão
DTG	Departamento de Tocoginecologia
DUM	Data da última menstruação
EL	Estriol livre
et al.	e colaboradores
FCMUSP	Faculdade de Ciências Médicas da Universidade São Paulo
IG	Idade gestacional
KCl	Cloreto de potássio
M	Mol
n	Número de casos
RN	Recém-nascido
ROC	*Receiver operator characteristic*
rpm	Rotações por minuto

RV	Razão de verossimilhança
TN	Translucência Nucal
UNICAMP	Universidade Estadual de Campinas
USG	Ultra-sonografia
VPN	Valor preditivo negativo
VPP	Valor preditivo positivo

Resumo

A literatura mostra uma associação entre diversos marcadores ultra-sonográficos e riscos de cromossomopatias. Dentre os marcadores ultra-sonográficos, a medida da translucência nucal tem sido apontada como um método de rastreamento de aneuploidias, sendo a trissomia do cromossomo 21 a mais investigada. Realizou-se, em dois serviços privados de medicina fetal, *Centrus* – Centro de Ultra-sonografia e Medicina Fetal de Campinas e *Gennus* – Núcleo de Medicina Fetal de Belo Horizonte, um trabalho retrospectivo do tipo validação de teste diagnóstico, em 230 mulheres, entre 10 e 14 semanas de gestação, medindo-se a translucência nucal e utilizando o cariótipo fetal como padrão-ouro. Os resultados foram submetidos à análise univariada, teste de tendência e análise de regressão logística, no intuito de estudar as variáveis: translucência nucal, idade materna e idade gestacional (medida pelo comprimento cabeça-nádega), como possíveis preditoras de cromossomopatias. Construiu-se uma curva *receiver operator characteristic,* para a definição do melhor ponto de corte da medida da translucência nucal. Conclui-se que a idade gestacional e a idade materna não foram preditoras de risco para

aneuploidias. A medida da translucência nucal apresentou uma acurácia semelhante à descrita na literatura. O ponto de corte fixo, com melhor equilíbrio entre sensibilidade e especificidade, foi a translucência nucal maior ou igual a 2,5mm.

1. Introdução

A difusão do conhecimento médico de que é possível identificar alterações fetais ou anomalias antes do nascimento tem levado as mulheres a buscar cada vez mais freqüentemente o esclarecimento de uma pergunta que é rotineira ao obstetra, se o bebê será normal. Isso se traduz na prática clínica em como informar o casal das possibilidades de que, em uma gestação, o feto que vem se desenvolvendo seja realmente normal, do ponto de vista anatômico e cromossômico. Uma das maneiras de encaminhar essa discussão é associar esse risco à idade materna (HOOK & FABIA, 1978). É sabido que a ocorrência de aneuploidias é crescente com a idade materna e que, a partir dos 35 anos, os métodos de diagnóstico pré-natal devem ser oferecidos ao casal. Essa conduta é aceita porque os riscos dos procedimentos diagnósticos (amniocentese ou biópsia de vilo corial) são menores que a possibilidade de o feto estar comprometido por alguma aneuploidia (THOMPSON, MCINNES, WILLARD, 1993).

1.1. Prevalência das aneuploidias

Dentre as aneuploidias diagnosticadas ao nascimento, a trissomia do cromossomo 21 é a de maior prevalência, acometendo um em 800 nativivos, dez vezes mais freqüente que a trissomia do cromossomo 18 e aproximadamente 30 vezes mais freqüente que a trissomia do cromossomo 13. As trissomias dos cromossomos sexuais têm uma prevalência estimada ao nascimento de 1 em 1.000, enquanto que a monossomia do cromossomo X (Síndrome de Turner), apesar de ser a mais freqüente em material de abortamento, tem prevalência de 1 em 10.000 nascidos vivos (THOMPSON *et al.,* 1993).

1.2. Aneuploidias e idade materna

Utilizando-se o conceito de risco busca-se identificar métodos de rastreamento que selecionam um grupo da população geral, que apresentam risco suficiente para uma determinada condição, justificando mais investigações, geralmente caras, complexas e sujeitas a maiores riscos como, por exemplo, o risco de abortamento (CUCKLE & WALD 1984). O primeiro método a selecionar gestações para procedimentos invasivos foi embasado nas observações feitas no final do século XIX de que a incidência de

alterações fenotípicas do recém-nascido estava associada à idade materna (FRASER & MITCHELL 1876)[1] .

Na década de 70, quando a amniocentese para identificação do cariótipo fetal começou a ser usada, o risco de perdas fetais relacionadas ao procedimento era incerto e o exame era oferecido somente a mulheres com 37 anos ou mais, o que representava menos de 5% das gestantes. Hoje cerca de 10% das gestações ocorrem em mulheres a partir dos 35 anos, mas apenas 20% a 30% das cromossomopatias acontecem nessa faixa etária (PANDYA *et al.*,1995b; BRIZOT, CHIBA, ZUGAIB ,1997a).

Quanto mais precoce a idade gestacional maiores são os riscos de aneuploidias, pois vão ocorrendo abortamentos relacionados a esses achados (HOOK *et al.* 1988; SNIJDERS *et al*, 1994). Devido a essa ação seletiva, grande parte dos embriões portadores de aneuploidias não chegam a nascer.

1.3. Rastreamento bioquímico das aneuploidias

Na década de 80 e no início dos anos 90, diversos estudos procuraram selecionar as gestantes com maior risco para aneuploidias a partir de substâncias encontradas na circulação materna (marcadores bioquímicos). O primeiro estudo foi realizado por MERKATZ *et al.* (1984), que observaram baixos níveis de uma proteína (alfafetoproteína) no soro materno em associação

[1] FRASER & MITCHEL, 1876 apud PANDYA, P.P. ; JOHNSON, S.P.; MALLIGIANIS, P.; NICOLAIDES, K.H. - First-trimester fetal nuchal translucency and screening for chromosomal abnormalities. In: JURKOVIC, D. & JAUIAUX. A. (eds.) - **Ultrasound and early pregnancy.** London and New York, Parthenon publishing 1996. p.81-94.

com a trissomia do cromossomo 18. Esse estudo permitiu a associação desse marcador bioquímico à idade materna sem, no entanto, melhorar a taxa de detecção de aneuploidias. Essa observação estimulou novas pesquisas na tentativa de melhorar a taxa de detecção dessas anomalias em um maior número de gestantes (BRIZOT, CHIBA, ZUGAIB 1997b).

Em 1988, WALD, CUCKLE, DENSEM (1988a) associaram o estriol livre (EL), à alfafeto proteína (AFP) e à idade materna, alcançando uma taxa de detecção de 45% dos fetos portadores de trissomia do cromossomo 21 no segundo trimestre da gestação. Os mesmos autores (WALD, CUCKLE, DENSEM, 1988b) associaram ainda a gonadotrofina coriônica ao EL, AFP e à idade materna com uma taxa de detecção de 61% para trissomia do cromossomo 21.

Esses marcadores bioquímicos são apresentados sob a forma de múltiplos da mediana e são obtidos dividindo-se o valor da substância (dosada na paciente) pelo valor da mediana da curva de normalidade (obtido de estudos populacionais prévios), levando-se em consideração a idade gestacional no dia da coleta de sangue. Devido aos erros inerentes à estimativa da idade gestacional pela data da última menstruação (DUM), utiliza-se o comprimento cabeça-nádega (CCN) do feto medido pela ultra-sonografia como método para o cálculo da idade gestacional (BRIZOT *et al.,* 1997b).

O rastreamento bioquímico também tem sido proposto no primeiro trimestre utilizando-se a fração beta da gonadotrofina coriônica (βHCG) e a proteína-A plasmática da gestação, o que parece não melhorar a sensibilidade do rastreamento das trissomias fetais obtida pela idade materna (BRIZOT *et al.,* 1997b).

1.4. Ultra-sonografia e aneuploidias

A ultra-sonografia (USG) também tem sido utilizada no rastreamento de malformações e aneuploidias. Em 1993, NICOLAIDES *et al.,* publicaram uma revisão bibliográfica sobre o tema. Incluíram trabalhos de diversos autores entre 1985 e 1992, onde se realizaram exames ultra-sonográficos predominantemente no segundo e terceiro trimestres de gestações com malformações fetais e concluíram que as malformações ultra-sonograficamente detectáveis nesse período, e alguns marcadores ultra-sonográficos, como fêmur curto ou aumento da espessura nucal, apresentaram maior associação com aneuploidias que a idade materna ou a bioquímica do sangue materno no segundo trimestre.

O diagnóstico ultra-sonográfico de espessamento da pele ou dos tecidos moles da nuca de fetos com trissomia do cromossomo 21 foi descrito primeiramente por BENACERRAF, BARSS, LABODA (1985), que publicaram os dados de uma série de 904 amniocenteses guiadas por ultra-som, em mulheres entre 15 e 18 semanas de gestação, mostrando que dois dos seis fetos com trissomia do 21 (33%) apresentavam espessura nucal aumentada.

Esse grupo era de gestantes consideradas de alto risco para aneuploidias fetais e o valor da medida da espessura nucal não foi relatado pelos autores. Em 1987, BENACERRAF, GELMAN, FRIGOLETTO em uma avaliação de 5.500 gestações de alto risco, entre 15 e 21 semanas, e considerando como espessura nucal aumentada valores maiores que 5mm, observaram uma associação desta em 43% dos casos de aneuploidias.

1.5. Translucência nucal

O acúmulo de fluido nucal no primeiro trimestre foi primeiramente descrito por um estudo caso - controle de SZABÓ & GELLEN (1990), que observaram acúmulo superior a 3mm em todos os fetos com trissomia do cromossomo 21 (sete casos) e em apenas um feto de um total de 105 com cariótipo normal.

Em 1992, NICOLAIDES *et al.,* introduziram uma nova terminologia, translucência nucal (TN), definida como a espessura máxima do espaço hipoecogênico (fluido), entre a pele e o tecido subcutâneo, que recobre a coluna cervical do feto, estando o mesmo em corte longitudinal e sagital, medida em milímetros e seus décimos, através da ultra-sonografia. Nesse trabalho, realizado em uma população de alto risco, foi considerado como rastreamento positivo as medidas de TN iguais ou superiores a 3mm. Este nível foi pesquisado entre a décima e a 14^{a} semana de gestação, com uma sensibilidade para aneuploidia de 64%.

1.5.1. Etiopatogenia do acúmulo de fluido nucal

É incerta a etiologia desse acúmulo de fluido na região nucal. Um dos problemas envolvidos é o número de diferentes definições que incluem higromas císticos nucais septados e não-septados, edema nucal e translucência nucal, tanto no primeiro como no segundo trimestre da gestação (PANDYA *et al.*, 1996).

A - Higroma cístico

Avaliando oito fetos com higroma cístico entre noove e 15 semanas, sendo quatro septados e quatro não-septados, BRONSHTEIN *et al.,* (1989), observaram que todos os fetos com higromas septados evoluíram para o óbito. Em dois se pesquisou o cariótipo e ambos apresentavam aneuploidias. Todos os fetos com higroma não-septado apresentavam cariótipo normal; um deles desenvolveu hidropisia fetal, nascendo prematuramente e evoluindo para óbito no período neonatal. Os autores concluíram que é possível diferenciar, no primeiro trimestre e no início do segundo, higromas císticos septados (de mau prognóstico) dos não-septados (de bom prognóstico), mas que deveria ser oferecido a todos esses casos dosagem de alfafetoproteína e pesquisa do cariótipo fetal.

B - Edema nucal

O edema nucal também é um acúmulo de fluido na nuca do feto que pode ser considerado um sinal precoce de hidropisia fetal, ocorrendo no

segundo trimestre da gestação. Há diversas etiologias que incluem as trissomias, sendo a mais comum a do cromossomo 21 (BENACERRAF *et al.*, 1985; BENACERRAF *et al.*, 1987; JOHNSON *et al.*, 1993), malformações cardiovasculares e pulmonares, displasias esqueléticas, infecções fetais e doenças metabólicas e hematológicas (PANDYA *et al.*, 1996).

1.5.2. Etiologia da translucência nucal

A translucência nucal (NICOLAIDES *et al.,* 1992) que é identificada no primeiro trimestre e no início do segundo, ao contrário do edema nucal e dos higromas, normalmente desaparece no segundo trimestre (JOHNSON *et al.*, 1993). Sua etiologia é discutida, estando envolvida a drenagem linfática deficiente e transitória da região cervical, devido a um desarranjo das conexões linfáticas (GRECO *et al.,* 1996). Um estudo histoquímico usando um anticorpo monoclonal (PTN63) comparou a distribuição de vasos linfáticos na hipoderme e derme de fetos com TN aumentada, entre 11 e 14 semanas, em fetos normais, com trissomias dos cromossomos 21, 18 e 13 e na monossomia do cromossomo X, concluindo que nos fetos com monossomia X há uma hipoplasia dos vasos linfáticos da derme superior (KAISENBERG, NICOLAIDES, BRAND-SABERI*,* 1999).

Outra possibilidade para o aumento da TN seria um mecanismo de proteção do sistema nervoso central à excessiva perfusão decorrente do rápido crescimento placentário inicial e conseqüente aumento do volume circulatório (MOSCOSO, 1995).

Alterações cardíacas também têm sido envolvidas na etiologia do aumento da TN, principalmente as que cursam com estreitamento do istmo aórtico, o que aumentaria o fluxo para a região cervical do feto. Essa alteração seria hemodinamicamente importante no início da gestação, mas não no segundo trimestre, o que explicaria o desaparecimento da TN (PANDYA *et al.* , 1996; SNIJDERS & NICOLAIDES, 1996a).

1.5.3. Evolução da medida da translucência nucal

A medida da translucência nucal em fetos cromossomicamente normais, aumenta com o crescimento fetal a partir da décima semana (PANDYA *et al.*,1995b), na razão de 17% por semana de gestação (SCHUCHTER, *et al.*, 1998) e, a partir de aproximadamente 91 dias de gestação começa a diminuir (PAJKRT *et al., 1998a).* A melhor idade gestacional para avaliação da translucência nucal segundo WHITLOW & ECONOMIDES (1998) é a 13^{a} semana, por permitir, além da medida da TN, uma avaliação anatômica do feto nesse período.

1.5.4. Reprodutibilidade da medida da TN

Uma limitação na avaliação da translucência nucal seria a possível variação dessa medida entre diferentes examinadores. Esse foi o objeto de um estudo (PANDYA *et al.*, 1995a) onde, prospectivamente, avaliaram-se 200 mulheres entre dez e 14 semanas de gestação. A TN medida por dois

profissionais teve uma variação menor que 0,54mm (intra-observador) em 95% das oportunidades e entre examinadores menor que 0,62mm (interobservador). Entretanto, os autores sugerem ser prudente realizar mais de uma medida e utilizar a maior delas. Outro estudo refere baixa reprodutibilidade da medida da TN em gestações entre oito e 13 semanas (ROBERTS, BEWLEY, MACKINSON, 1995). Nesse estudo os autores identificaram a TN em 82% dos casos, considerando anormal valor $\geq$ 3mm. A variabilidade interobservador e intra-observador mudou a classificação de normal para alterado em 19% e 18%, respectivamente, o que é, segundo os autores, um fator que diminui a eficácia do teste no rastreamento da trissomia do cromossomo 21. Outra forma proposta foi a de se realizar seis medidas e utilizar o valor médio destas, o que reduziria em 40% a taxa de falso-positivo para aneuploidias, quando comparado à medida única (SCHUCHTER, *et al.*, 1998). O aumento no tamanho da imagem não melhora significativamente a reprodutibilidade da medida (HERMAN *et al.,* 1998a). Deve-se ter cuidado com o cordão umbilical que pode estar na região da nuca fetal e impossibilitar a correta medida da TN. Na tentativa de diminuir esse fator de erro, sugere-se utilizar o Doppler colorido para excluir a presença do cordão umbilical (SCHAEFER, LAURICHESSE-DELMAS, VILLE, 1998).

HERMAN *et al.* (1998b), propuseram uma escala de pontuação para a qualidade da imagem ultra-sonográfica em relação à imagem fetal, posição do cursor de medida, linha da pele fetal, tamanho da imagem, visualização ou não do âmnio e posição feta,l e sugeriram a sua utilização no controle de qualidade

das imagens da TN, bem como em programas de treinamento para medida de TN.

A via do exame ultra-sonográfico para a medida da TN pode ser abdominal ou transvaginal, existindo boa correlação entre as medidas pelas duas vias. A via vaginal, porém, parece apresentar menor variação intra-observador devido a melhor resolução da imagem (BRAITHWAITE & ECONOMIDES, 1995).

1.5.5. Translucência nucal e aneuploidias

Diversos autores (BRONSHTEIN *et al.*, 1989; JOHNSON *et al.*,1993; NICOLAIDES *et al.*, 1994; BRAMBATI *et al.* 1995; COMAS *et al.*, 1995; SZABÓ, GELLEN, SZEMERE, 1995; KORNMAN *et al.,* 1996; FARIA, QUINTINO, PETTERSEN, 1997; TAIPALE *et al.,* 1997; PAJKRT *et al.* 1998b) publicaram trabalhos associando o aumento da nuca fetal no primeiro trimestre e no início do segundo com maior incidência de aneuplodias fetais, com sensibilidade que variou de 20% a 93,5%. Esses trabalhos são muito heterogêneos no que diz respeito à metodologia, conceituando como aumento da nuca fetal diferentes achados ultra-sonográficos como higroma cístico (septado ou não), hidropisia fetal e translucência nucal. Adotaram diferentes valores numéricos de normalidade, bem como diferentes métodos de medida da nuca fetal, estando a idade gestacional nos diferentes trabalhos entre oito e 15 semanas de gestação. Outro dado relevante é o fato de que todos foram realizados em gestantes com alta prevalência de aneuploidia, situação na qual o desempenho de testes de rastreamento é melhor.

Em 1995 BEWLEY *et al.,* avaliaram em 1.177 gestantes de baixo risco, entre oito e 13 semanas de gestação e considerando como translucência nucal (TN) alterada os valores ≥ 3mm, observaram uma sensibilidade de 33% para o teste. Nesse estudo, em 7% dos casos não se conseguiu o cariótipo tanto no período fetal quanto no período perinatal, o que pode ter provocado uma subestimativa dos valores descritos.

Um estudo realizado na Áustria, em 1.972 mulheres com gestações de baixo risco para aneuploidia, avaliadas entre entre dez e 13 semanas, mostrou que 1,3% dos fetos apresentaram translucência nucal ≥ 2,5mm, 73% dos quais com anomalias cromossômicas (HAFNER, SCHUCHTER, PHILIPP, 1995). Esse estudo foi ampliado em 1998, utilizando 4.233 gestantes de uma população com menor prevalência de aneuploidias (0,4%). A sensibilidade determinada foi de 65% para todas as aneuploidias e de 43% para a trissomia do cromossomo 21 (HAFNER *et al.,*1998). Uma crítica a esses dois estudos de Hafner foi que a avaliação do cariótipo fetal foi indicada para pacientes cuja única alteração era TN ≥ 2,5mm, pois, segundo BEGG & MCNEIL (1988), usar o resultado do teste em estudo para tomada de decisões (fazer ou não o cariótipo), constitui um viés de verificação que pode influir na acurácia do teste.

O estudo colaborativo coordenado *pelo Harris Birthright Centre*, com 20.804 gestantes, utilizou o conceito de risco seqüencial, onde se multiplicam os riscos associados à idade materna, à idade gestacional e à medida da TN

ao invés de uma medida fixa da TN. Este teste obteve uma sensibilidade de 80% na detecção de trissomias do cromossomo 21 e de 77% para outras aneuploidias (PANDYA *et al.*, 1995b). O maior estudo colaborativo para avaliação da acurácia da TN foi realizado em 22 centros de ultra-sonografia da Inglaterra, num total de 96.127 mulheres com idade média de 31 anos e gestações únicas entre a décima e a 14ª semana. O risco de trissomia do cromossomo 21 foi calculado pela prevalência dessa trissomia nas diferentes idades maternas e gestacionais e multiplicado pela razão de probabilidade decorrente do valor da TN encontrado. A sensibilidade do teste foi calculada para um risco estimado de trissomia do cromossomo 21 de 1/300. O cariótipo fetal ou o exame clínico do neonato foi utilizado como padrão de normalidade (*gold standard*). O teste foi considerado positivo em 5% da população e esse grupo incluiu 77% dos casos de trissomia do cromossomo 21. A cada 30 procedimentos invasivos realizados identificou-se um feto acometido (SNIJDERS *et al.* , 1998).

1.5.6. TN aumentada e fetos cromossomicamente normais

Diversos estudos, com pequenas séries de casos de fetos cromossomicamente normais, têm demonstrado uma associação entre aumento da TN e síndromes gênicas (JOHNSON *et al.*, 1993; BILARDO *et al., 1998*; VAN VUGT, TINNEMANS, VAN ZALEN-SPROCK*, 1998; SOUKA et al., 1998),* tais como síndrome *de Meckel Gruber,* síndrome de *Smith-Lemli-Opitz*, síndrome de *Noonan* e outras.

Outro aspecto levantado por diferentes autores é a associação de aumento da TN com mau prognóstico gestacional. Em um estudo prospectivo de 63 fetos cromossomicamente normais com TN $\geq$ 3mm, 11 evoluíram para hidropisia fetal ou apresentaram malformações anatômicas (VAN VUGT *et al., 1998*). Outro estudo, colaborativo, com 4.116 gestações únicas, observou diversos casos de síndromes gênicas e alterações estruturais dos fetos, sendo os defeitos cardíacos *major*, hérnias diafragmáticas, displasias esqueléticas e anomalia de *body stalk* mais freqüentes que na população geral, sugerindo ser a TN um preditor para outras anomalias fenotípicas ou estruturais, mesmo frente a cariótipos normais.

Pelo exposto, depreende-se que a medida da translucência nucal parece ser um marcador ultra-sonográfico precoce e útil no rastreamento de aneuploidias fetais. No entanto, os trabalhos publicados variam no conceito de TN, na idade gestacional em que se deva pesquisá-la, na sensibilidade do teste e no ponto de corte proposto para o teste, isto é, na medida da TN que diferencia gestantes de alto das de baixo risco para aneuploidias.

Sabe-se que o diagnóstico pré-natal de aneuploidias por procedimentos invasivos, como a biópsia de vilo corial e a amniocentese, não devem ser indicados para todas as gestantes devido aos riscos inerentes aos procedimentos e seus custos. Por esse motivo seleciona-se o grupo de alto risco com testes de rastreamento, que para a pesquisa de aneuploidias resumem-se a testes bioquímicos e biofísicos. Os testes bioquímicos dosam

substâncias fetais na circulação materna o que pode acarretar custos adicionais à paciente, por não serem realizados pelo serviço público. Os marcadores biofísicos são investigados com a ultra-sonografia e podem se expressar como medidas biométricas alteradas, achados isolados (TN aumentada, cisto de plexo coróide) e malformações fetais.

A medida da TN é um procedimento de realização viável, não dependendo de aparelhos de ultra-sonografia sofisticados e podendo ser realizado por médico treinado nesse rastreamento. O primeiro trimestre é o período ideal para medir a TN e pode ser feito no exame ultra-sonográfico de rotina.

2. Objetivos

2.1. Objetivo Geral

Avaliar a acurácia da medida da translucência nucal como marcador ultra-sonográfico de cromossomopatias fetais em mulheres entre dez e 14 semanas de gestação utilizando o cariótipo como padrão-ouro.

2.2. Objetivos Específicos

1. Descrever as características da amostra que se submeteu à medida da translucência nucal e à pesquisa do cariótipo.

2. Verificar se existe associação entre idade gestacional e cromossomopatia fetal.

3. Verificar se existe associação entre idade materna e cromossomopatia fetal.

4. Verificar se existe associação entre medida da translucência nucal e cromossomopatia fetal.

5. Determinar, através do equilíbrio entre sensibilidade e especificidade, o melhor ponto de corte para a medida de translucência nucal no rastreamento de alterações cromossômicas.

6. Verificar se a translucência nucal possui melhor acurácia para a trissomia do cromossomo 21 do que para outras cromossomopatias.

7. Verificar se o risco de alteração cromossômica prévio ao teste, determinado pela idade da mulher, é influenciado pela medida da translucência nucal.

3. Casuística e Métodos

3.1. Desenho do estudo

Trata-se de um estudo retrospectivo do tipo validação de teste diagnóstico.

3.2. Tamanho amostral

O tamanho amostral foi estimado segundo método proposto por SCHÄFER (1994), específico para estudos do tipo validação de teste diagnóstico. Tal método propõe, a um determinado ponto da curva ROC (*Receiver operator characteristic curve)* construída, estabelecer um tamanho amostral que minimize a amplitude de um intervalo de confiança de 95% (1- α) associado a esse ponto. Se for considerado que, a um determinado ponto de corte há uma sensibilidade estimada em 70% e uma especificidade de 90% (PANDYA *et al.,*1995b), com uma tolerância de 10%, haverá um tamanho amostral estimado em, no mínimo, 217 indivíduos.

3.3. Seleção de sujeitos

Foram incluídas no estudo as pacientes que realizaram ultra-sonografia no Centro de Ultra-Sonografia e Medicina Fetal de Campinas - Centrus® e no Gennus - Núcleo de Medicina Fetal de Belo Horizonte a partir de 1 de março de 1996 até 30 de novembro de 1998, entre dez e 14 semanas de gestação, estimada pelo comprimento cabeça-nádega (CCN), (ROBINSON & FLEMING, 1975), com gestação única, feto vivo, onde tenha sido medida a translucência nucal e que posteriormente por qualquer indicação, que não a medida da translucência nucal, tenham feito a pesquisa do cariótipo fetal ou do recém-nascido.

3.4. Instrumento para coleta de dados

Os dados foram anotados em uma ficha pré-testada e especialmente desenhada para este estudo, a partir dos prontuários das pacientes (ANEXO 1).

3.5. Coleta de Dados

Todos os dados foram coletados pelo pesquisador a partir dos prontuários das pacientes e anotados nas fichas de coleta de dados.

3.6. Variáveis e conceitos

A seguir são apresentadas as definições das variáveis e suas categorias, que constam da ficha de coleta da pesquisa (ANEXO 1).

- *Translucência nucal:* Espessura do espaço hipoecogênico (translucência), entre a pele e o tecido subcutâneo que recobre a coluna cervical do feto, medida em milímetros e seus décimos, através da ultra-sonografia e seguindo os critérios da *Fetal Medicine Foundation* (NICOLAIDES, SEBIRE, SNIJDERS, 1999).

- *Idade materna:* Em anos completos, na data da ultra-sonografia em que se realizou a medida da translucência nucal, calculada pela data de nascimento referida pela paciente.

- *Idade gestacional:* Tempo de gravidez (no dia da medida da translucência nucal) em número de semanas e dias, estimado pela ultra-sonografia, através do comprimento cabeça-nádega do feto (CCN).

- *Comprimento cabeça-nádega do feto:* Medida ultra-sonográfica da cabeça à nádega fetal, realizada em corte sagital.

- *Cariótipo fetal ou do recém-nascido (RN):* Resultado da avaliação cromossômica do feto ou RN, por biópsia de vilo corial, amniocentese, cordocentese, sangue ou material placentário do RN. Com as seguintes categorias:

  - *Normal:* 46, XX, 46, XY (incluídos cariótipos com alterações citogenéticas polimórficas ou balanceadas).

  - *Alterado (cromossomopatias):* trissomia do cromossomo 21, trissomia do cromossomo 13, trissomia do cromossomo 18, outras trissomias, monossomia do X e outras alterações dos cromossomos

sexuais, mosaicismos e alterações estruturais não balanceadas dos cromossomos.

- *Razão pela qual realizou a avaliação de cariótipo fetal:* Referido pela mulher no dia da realização do exame.

3.7. Técnicas e exames

3.7.1. Ultra-sonografia

A ultra-sonografia para medida do CCN e translucência nucal foi realizada pelo pesquisador e por quatro outros ultra-sonografistas que participam de estudo multicêntrico para avaliação da translucência nucal, sendo que todos tem certificação teórica e prática emitida pela *Fetal Medicine Foundation* de Londres ou do Brasil. Os aparelhos utilizados foram o Sequoia® , Aspen e 128XP10 da Acuson® e o Toshiba® SH 140. As vias da realização do exame foram a transvaginal, estando a paciente com a bexiga vazia, a abdominal, com a bexiga cheia, ou ainda ambas as vias.

- **Medida do comprimento cabeça-nádega -** Medida em milímetros e seus décimos, obtida no mesmo dia da medida da TN translucência nucal (Figura 1).

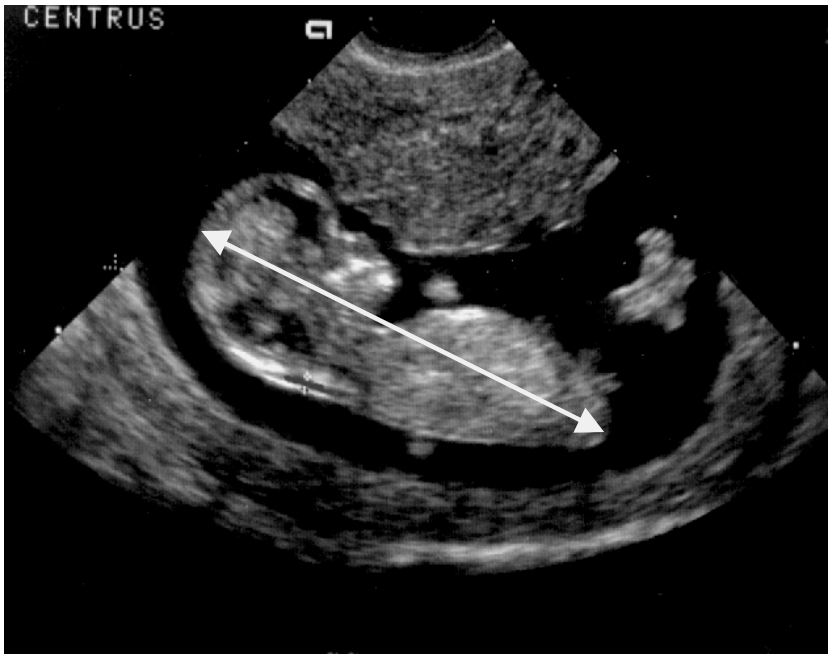

Figura 1. *Imagem ultra-sonográfica do feto mostrando a técnica de medida do comprimento cabeça-nádega fetal (seta branca)*

- **Medida da translucência nucal**

A) Feto em corte sagital.

B) Imagem fetal ocupando três quartos do total da imagem.

C) Cuidado ao distinguir o âmnio da pele fetal. Para isso aguardava-se a movimentação espontânea do feto ou pedia-se para a paciente tossir, ou ainda fazia-se movimentos bruscos com o transdutor no abdome da mulher para movimentar o feto.

D) Realizou-se pelo menos duas medidas em cada caso e sempre considerou-se a maior como o valor da translucência.

E) Medida realizada com o feto em posição neutra.

F) Colocação dos *calipers* na transição entre o tecido e o fluido, como mostra a Figura 2.

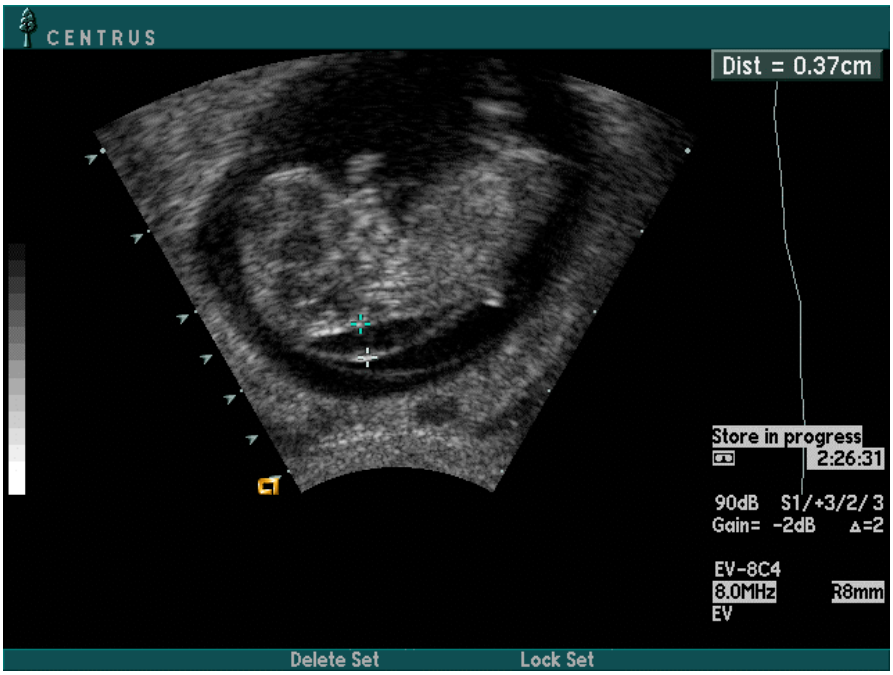

Figura 2. *Imagem ultra-sonográfica da técnica de colocação dos calipers para medida da translucência nucal.*

3.7.2. Obtenção do material para cariótipo

O material para cariótipo foi obtido pelo pesquisador e por outros três médicos através de biópsia de vilo corial, amniocentese ou pelo obstetra da paciente nos casos de sangue do recém-nascido ou material placentário, sendo enviado para CEMESP - Clínica de Doenças Hereditárias, em Campinas.

A - Biópsia de vilo corial

Realizada a partir de dez semanas de gestação, com paciente em decúbito dorsal, sendo o abdome submetido à anti-sepsia cirúrgica e coberto por campos estéreis. A sonda do ultra-som foi envolvida em plástico estéril. Realizou-se anestesia da pele e tecido celular subcutâneo com lidocaína 2% sem vaso constritor. Em seguida foi introduzida através da parede abdominal agulha descartável raquidiana de calibre 18 e guiada continuamente pelo ultra-som até alcançar o córion frondoso. Atingida a zona selecionada, o material foi coletado após a retirada do mandril, realizando-se pressão negativa com uma seringa de 20 ml. As amostras foram obtidas através de várias inserções rápidas e repetidas em diferentes pontos, com retirada de 15 microgramas de vilo corial em média.

B - Amniocentese

Realizada a partir de 14 semanas de gestação, com paciente em decúbito dorsal horizontal, sob avaliação ultra-sonográfica. Realizou-se anti-sepsia rigorosa do abdome, com colocação de campos cirúrgicos. O transdutor foi protegido por plástico estéril, utilizando-se como veículo álcool. Ocasionalmente foi realizada anestesia local com lidocaína 2%. Após a escolha do local, introduziu-se a agulha de punção n.º 20 até a cavidade amniótica sob visão ultra-sonográfica contínua. Retirou-se então o mandril, e aspirou-se entre 15ml e 30 ml de líquido amniótico, separadoss em seringas de 10ml.

C - Sangue do RN

Colhido em apenas um caso em ambiente hospitalar, sem técnica descrita.

D - Material placentário

Colhido em dois casos, sendo um em material de abortamento e outro da placenta do RN que evoluiu para óbito neonatal. A técnica de coleta não foi descrita.

3.7.3. Técnica da análise laboratorial

O material fetal colhido para estudo cromossômico foi processado para obtenção do cariótipo com bandas. A descrição pormenorizada da técnica encontra-se no ANEXO 9.

3.8. PROCESSAMENTO E ANÁLISE DOS DADOS

Os dados coletados foram revisados manualmente e posteriormente digitados em programa especificamente desenvolvido em linguagem *cliper* para verificação da consistência da coleta.

Inicialmente realizou-se uma análise descritiva univariada. Em seguida foram feitos os cálculos de sensibilidade, especificidade, valores preditivos positivo e negativo e razão de verossimilhança da translucência nucal em

comparação com o cariótipo normal ou alterado (padrão de certeza) (BERQUÓ, SOUZA, GOTLIEB, 1981).

Foi construída a curva ROC com valores da medida da translucência nucal. Essa curva relaciona a sensibilidade do teste (eixo das coordenadas) com a taxa de falsos-positivo (eixo das abscissas), sendo o melhor ponto de corte da curva o que mais se aproxima do canto superior esquerdo do gráfico, como mostra a Figura 3 (SCHÄFER, 1994) e a acurácia estimada pela área sob a curva.

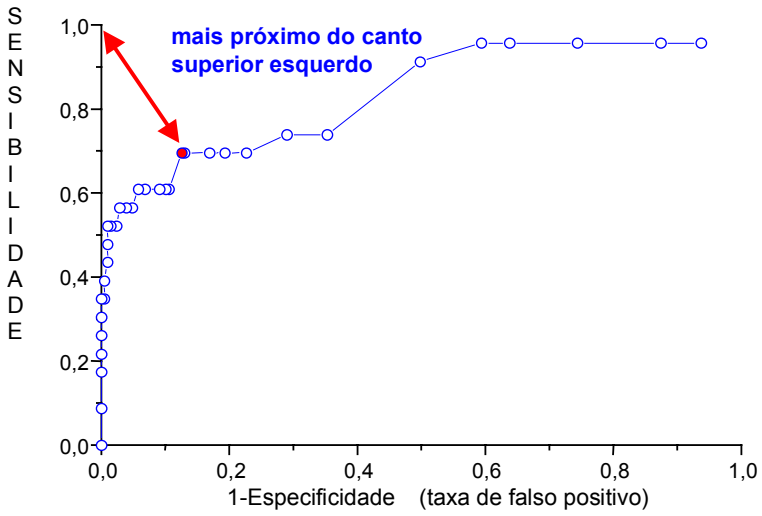

Figura 3. *Exemplo de como determinar o ponto de corte na curva Roc*

Realizou-se uma análise de regressão logística no intuito de estudar as variáveis: valor da translucência nuca, idade da mãe e idade gestacional (medida pelo CCN), como possíveis preditoras de cromossomopatias.

Utilizou-se uma tabela (SNIJDERS *et.al.,* 1994), que define riscos associados à idade materna (entre nove e 14 semanas de gestação) para trissomias dos cromossomos 21 e 18 (*odds a priori)*. Esse risco conhecido foi multiplicado pela *odds* das variáveis que se mostraram significativas neste estudo, estabelecendo assim uma *odds a posteriori.* Assim, se houvesse uma paciente de 32 anos, com risco de trissomia do cromossomo 21 de 1 em 311 e uma medida de TN de 2,0mm, e supondo-se que o risco identificado dessa TN fosse 1/600, o risco *a posteriori* seria o produto de 1/311 x 1/600, o que daria um risco final de 1/186.600.

4. Resultados

Foram incluídos no estudo 230 pacientes, sendo 67 de Campinas e 163 de Belo Horizonte. A prevalência de cromossomopatias foi de 4,5% em Campinas e 12,3% em Belo Horizonte, sendo a prevalência total de 10% (Tabela 1).

Tabela 1 - Distribuição percentual dos cariótipos segundo o local de coleta

	Normais		**Alterados**	
	n	**%**	**n**	**%**
Campinas	64	95,5	3	4,5
Belo Horizonte	143	87,7	20	12,3
Total	**207**	**90**	**23**	**10**

(p=0,07)

A idade das pacientes variou de 21 a 45 anos com uma média de 35,8 anos. A média da idade foi maior no grupo de pacientes de Belo Horizonte que em Campinas, sendo de 36,4 anos e 34,5 anos respectivamente (Tabela 2).

Tabela 2 – Média da idade materna segundo o local de coleta

	n	média	DP	Mínimo	Máximo
Campinas	67	34,5	5,54	21	43
Belo Horizonte	163	36,4	4,96	23	45
Total	**230**	**35,8**	**5,19**	**21**	**45**

(teste t, p=0,02) DP = Desvio-padrão

A distribuição percentual dos casos segundo a idade pode ser vista na Tabela 3 e mostrou um maior número de casos na faixa etária de 36 a 40 anos (p =0,03).

Tabela 3 – Distribuição percentual dos casos de Campinas e Belo Horizonte segundo a idade materna

Faixa etária (anos)	Campinas		Belo Horizonte	
	n	%	n	%
até 25	5	7,5	6	3,7
26 a 30	13	19,4	14	8,6
31 a 35	15	22,4	39	23,9
36 a 40	27	40,3	66	40,5
mais de 40	7	10,4	38	23,3
Total	**67**	**100,0**	**163**	**100,0**

Teste exato de Fisher, p = 0,03

O motivo da pesquisa do cariótipo entre as mulheres com menos de 35 anos não foi identificado em 38,2% dos casos. A ansiedade do casal representou 32,9% das indicações nesse grupo (ANEXO 2).

Entre as mulheres com 35 anos ou mais, o motivo para pesquisa do cariótipo em 88% dos casos foi idade materna avançada e em 10% dos casos esse dado não foi identificado (ANEXO 3).

O comprimento cabeça-nádega fetal teve um valor mínimo de 39 mm (que corresponde a uma idade gestacional de dez semanas e quatro dias) e um valor máximo de 86 mm (idade gestacional de 14 semanas) e a média do CCN foi 59,7mm (12 semanas e dois dias), tendendo a ser maior entre as gestantes de Belo Horizonte (p = 0,05) (Tabela 4).

Tabela 4 - Média do comprimento cabeça-nádega fetal segundo a procedência

	n	**Média (mm)**	**DP (mm)**	**Mínimo (mm)**	**Máximo (mm)**
Campinas	67	57,49	11,406	40,0	86,0
Belo Horizonte	163	60,61	10,321	39,0	83,0
Total	**230**	**59,70**	**10,718**	**39,0**	**86,0**

(teste t, p=0,05)

Em Campinas, o maior número de mulheres foi avaliado na 11ª semana de gestação e em Belo Horizonte na 12ª semana, sendo a diferença estatisticamente significante como mostra a Tabela 5.

Tabela 5 – Distribuição percentual dos casos de Campinas e Belo Horizonte segundo o comprimento cabeça-nádega fetal

CCN (mm)	IG* (semana)	Campinas		Belo Horizonte	
		n	%	n	%
até 43	10ª	8	11,9	5	3,1
44 a 55	11ª	24	35,9	46	28,2
56 a 67	12ª	22	32,8	77	47,2
68 a 83	13ª	9	13,4	35	21,5
84 a 86	14ª	4	6,0	0	0
Total	**-**	**67**	**100,0**	**163**	**100,0**

Teste exato de Fisher, $p < 0,01$ *Idade gestacional

A medida da translucência nucal (TN) apresentou uma média de 2,18 mm sendo o menor valor medido de 0,9mm e o maior 14mm. Não houve diferença estatisticamente significante da média da TN entre Campinas e Belo Horizonte (Tabela 6).

Tabela 6 - Média da translucência nucal segundo a procedência

	n	Média (mm)	DP (mm)	Mínimo (mm)	Máximo (mm)
Campinas	67	1,94	1,138	0,90	7,20
Belo Horizonte	163	2,27	1,825	0,90	14,00
Total	**230**	**2,18**	**1,659**	**0,90**	**14,00**

(teste t, p = 0,10)

A distribuição de casos, bem como a proporção entre fetos com cariótipo normal e alterado foi igual para as diferentes faixas de idade gestacional como mostrou o teste de tendência *de* Cochran-Armitage das Tabelas 7 e 8.

Tabela 7 - Distribuição percentual do cariótipo fetal segundo a Idade gestacional

Semana de gestação	Normais		Alterados	
	n	%	n	%
10ª	13	6,3	0	0
11ª	62	30	8	34,8
12ª	91	44	8	34,8
13ª	38	18,3	6	26,1
14ª	3	1,4	1	4,3
Total	**207**	**100,0**	**23**	**100,0**

Teste de tendências de Cochran-Armitage: valor de p = 0,26

Tabela 8 - Proporção entre fetos com cariótipos normais e alterados nas diferentes idades gestacionais

Semana de gestação	Normais		Alterados	
	n	%	n	%
10ª	13	100	0	0
11ª	62	88,6	8	11,4
12ª	91	91,9	8	8,1
13ª	38	86,4	6	13,6
14ª	3	75,0	1	25,0
Total	**207**	**90**	**23**	**10**

Teste de tendências de Cochran-Armitage: valor de p = 0,26

O risco de cromossomopatia não se alterou nas diferentes idades gestacionais estimadas pelo CCN (*odds ratio* = 1,03) (Tabela 9).

Tabela 9 - Risco para cromossomopatias segundo o comprimento cabeça-nádega

Variável	coeficiente	Erro-padrão	Qui-Quadrado de Wald	Valor de p	*odds ratio*
constante	-4,1178	1,2759	10,4166	<0,01	-
CCN	0,0203	0,0191	2,4487	0,1176	1,03

CCN = comprimento cabeça-nádega

O aumento da idade materna não elevou estatisticamente o risco de cromossomopatias (p = 0,25) (Tabela 10), mesmo após dicotomizar a idade materna em < 35 anos e ≥ 35 anos (Tabela 11 e Figura 4).

Tabela 10 – Distribuição percentual do cariótipo fetal segundo idade materna

Faixa etária	Normais		Alterados	
	n	%	n	%
até 25 anos	10	4,8	1	4,3
26 a 30 anos	23	11,1	4	17,4
31 a 35 anos	52	25,1	2	8,7
36 a 40 anos	86	41,6	7	30,5
mais de 40 anos	36	17,4	9	39,1
Total	**207**	**100,0**	**23**	**100,0**

Teste de tendências de Cochran-Armitage: valor de *p* = 0,25

Tabela 11 – Distribuição do cariótipo fetal segundo idade materna dicotomizada em < 35anos e ≥ 35anos

	Alterados		Normais	
	n	%	n	%
idade materna ≥ 35 anos	16	10,4	138	89,6
Idade materna < 35anos	7	9,2	69	90,8
Total	**23**	**10**	**207**	**90**

Sensibilidade 69,5 % Especificidade = 33,3 %
Razão de verossimilhança (+) = 1,04

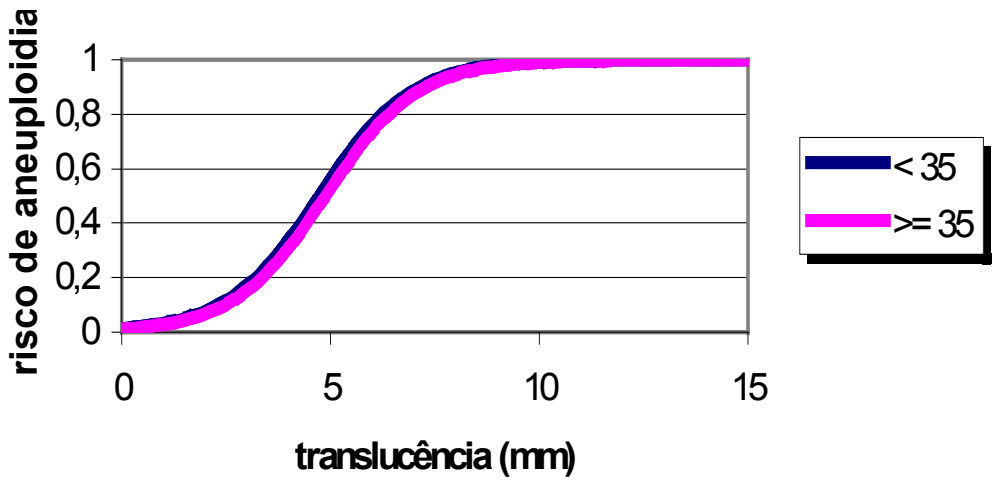

Figura 4. *Risco de aneuplodias em função da medida da TN - Comparação entre as mulheres com idade ≥ 35 anos e < 35 anos.*

Observou-se uma maior freqüência de fetos com cariótipo normal com medidas menores de TN e maior freqüência de aneuploidias com TN maiores (p = 0,001) (Tabela 12).

Tabela 12 – Distribuição percentual do cariótipo fetal segundo a medida da translucência nucal

Translucência (mm)	Normais		Alterados	
	n	%	n	%
menos de 1	3	1,5	0	-
1,0 ├— 1,5	50	24,1	1	4,3
1,5 ├— 2	94	45,5	5	21,8
2,0 ├— 2,5	34	16,5	1	4,3
2,5 ├— 3,0	14	6,7	2	8,7
3,0 ├— 4,0	9	4,3	2	8,7
4,0 ├— 5,0	1	0,5	2	8,7
5,0 ├— 10,0	2	0,9	7	30,5
10 ou mais	0	-	3	13,0
Total	**207**	**100,0**	**23**	**100,0**

Teste de tendências de Cochran-Armitage: valor de p < 0,00001

Para diferentes pontos de corte foram definidas as sensibilidades e especificidades da medida da translucência nucal como preditores de cromossomopatias (Tabela 13) .

Tabela 13 - Sensibilidade e especificidade da medida da translucência nucal, para o rastreamento de todas as cromossomopatias, em diferentes pontos de corte

ponto de corte TN (mm)	Sensibilidade (%)	Especificidade (%)	Taxa de falso-positivo (%)
≥ 1,1	95,6	6,3	93,7
≥ 1,3	95,6	12,5	87,4
≥ 1,5	95,6	25,6	74,4
≥ 1,6	95,6	36,2	63,7
≥ 1,7	95,6	40,6	59,4
≥ 1,8	91,3	50,2	49,7
≥ 1,9	73,9	64,7	35,3
≥ 2,0	73,9	71,0	28,9
≥ 2,1	69,5	77,3	22,7
≥ 2,2	69,5	80,7	19,3
≥ 2,3	69,5	83,1	16,9
≥ 2,4	69,5	86,9	13,0
≥ 2,5	69,5	87,4	12,5
≥ 2,6	60,8	89,7	10,6
≥ 2,7	60,8	89,8	10,1
≥ 2,8	60,8	90,8	9,2
≥ 2,9	60,8	93,2	6,7
≥ 3,0	60,8	94,2	5,8
≥ 3,1	56,5	95,1	4,8
≥ 3,2	56,5	95,1	4,8
≥ 6,1	34,8	100	0
≥ 7,1	30,4	100	0
≥ 8,1	21,7	100	0
≥ 9,1	17,4	100	0
≥ 10,1	8,7	100	0
≥ 14,1	0	100	0

A partir dos valores de sensibilidade e especificidade (Tabela 13), construiu-se uma curva ROC (Figura 5), que identificou a medida de TN ≥ 2,5mm como um bom equilíbrio entre sensibilidade e especificidade.

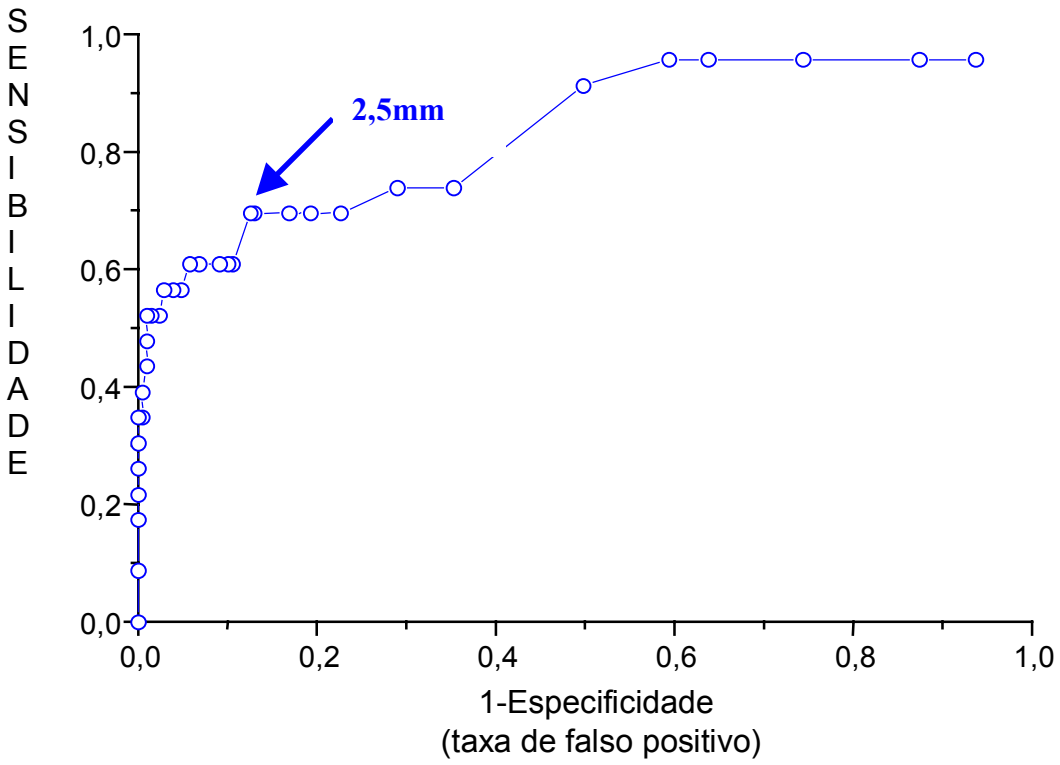

Figura 5. *Curva receiver operator characteristic (ROC) da TN para rastreamento de todas as cromossomopatias em diferentes pontos de corte*

Com a medida de TN ≥ 2,5mm, foi possível classificar corretamente 16 dos 23 fetos com alterações cromossômicas e 181 dos 207 fetos com cariótipo normal (Tabela 14).

Tabela 14 - Proporção entre fetos com cariótipo alterado e normal segundo o ponto de corte escolhido

	alterados	**normais**
TN ≥ 2,5	16	26
TN < 2,5	7	18
TOTAL	**23**	**207**

Sensibilidade = 69,5 % Especificidade = 87,4 %
Razão de verossimilhança (+)= 5,5

A trissomia do cromossomo 21 foi a mais freqüente, estando presente em 52,3% dos casos e seguida da trissomia do cromossomo 18 (Tabela 15).

Tabela 15 - Distribuição percentual das diferentes cromossomopatias

Cromossomopatia	**Número de casos**	**%**
Trissomia do cromossomo 21	12	52,3
Trissomia do cromossomo 18	5	21,8
Monossomia do cromossomo X	2	8,7
Trissomia do cromossomo 7	1	4,3
Mosaicismos (46,XX / 45,X)	1	4,3
Triploidia	1	4,3
Tetraploidia	1	4,3
TOTAL	**23**	**100**

A Figura 6 mostra a curva da translucência nucal para os fetos com cromossomos normais e seus percentis 5, 50 e 95, com os alterados identificados por pontos. Observou-se que a translucência nucal aumenta com o comprimento cabeça-nádega entre os normais. Entre os fetos com cromossomopatias, três de 12 portadores da trissomia do cromossomo 21 e um de cinco portadores da trissomia 18 encontraram-se abaixo do percentil 95 para a idade gestacional. Em relação a outras cromossomopatias, metade delas estava acima do percentil 95 para idade gestacional.

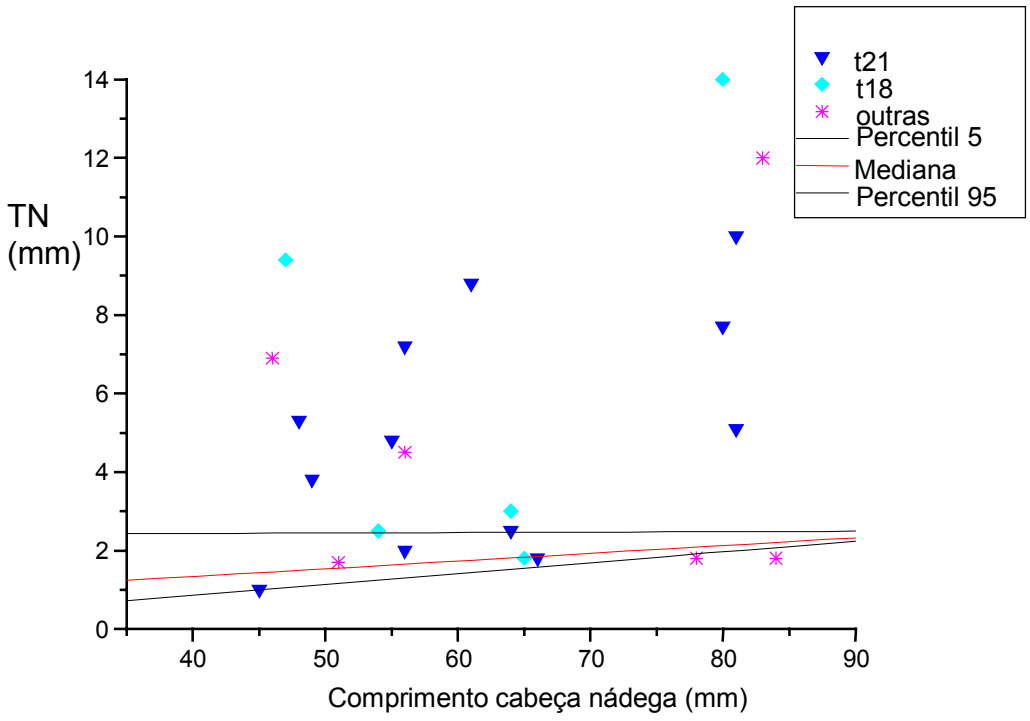

Figura 6. *Medida da translucência nucal dos 23 fetos com cromossomopatias, plotados na curva de fetos normais, segundo o comprimento cabeça-nádega.*

A Tabela 16 mostra o risco de trissomia do cromossomo 21 utilizando-se apenas o risco prévio, relacionado à idade materna, determinado por SNIJDERS *et al*., em 1994. O risco ≥ 1/200 apresentou sensibilidade de 75%, com uma razão de verossimilhança de 1,0.

Tabela 16 - Acurácia do rastreamento de trissomia do cromossomo 21 utilizando-se o risco prévio* relacionado à idade materna segundo diferentes níveis de corte

RISCO ≥	Teste Positivo n	Taxa procedimento invasivo (%)	Sens. %	Espec. %	VPP %	VPN %	RV
1/100	116	50,4	58,3	50,0	6,0	95,6	1,2
1/200	167	72,6	75,0	27,5	5,4	95,2	1,0
1/300	181	78,6	75,0	21,0	4,9	93,8	0,9

n = Número de casos; Sens. = Sensibilidade; Espec. = Especificidade;
VPP = Valor preditivo positivo; VPN = Valor preditivo negativo
RV = Razão de verossimilhança *SNIJDERS *et.al ,1994* (ANEXO 6)

A Tabela 17 mostra a sensibilidade e especificidade da medida da translucência nucal, especificamente para o rastreamento da trissomia do cromossomo 21, em diferentes pontos de corte. A curva *ROC* (Figura 7) mostra que a medida ≥ 2,5mm se mantém como um bom equilíbrio entre sensibilidade e especificidade para trissomia do cromossomo 21. A sensibilidade nesse ponto de corte foi de 75%, especificidade de 84,9% e uma razão de verossimilhança de 5,0 (Tabela 18).

Tabela 17 - Sensibilidade e especificidade da medida da translucência nucal, para o rastreamento da trissomia do cromossomo 21, em diferentes pontos de corte

ponto de corte TN (mm)	Sensibilidade (%)	Especificidade (%)	Taxa de falso-positivo (%)
≥ 1,1	91,6	5,9	94,0
≥ 1,3	91,6	11,9	88,1
≥ 1,5	91,6	24,3	75,7
≥ 1,6	91,6	34,4	65,6
≥ 1,7	91,6	38,5	61,5
≥ 1,8	91,6	48,1	51,8
≥ 1,9	83,3	63,3	36,7
≥ 2,0	83,3	69,2	30,7
≥ 2,1	75,0	75,2	24,7
≥ 2,2	75,0	78,4	21,5
≥ 2,3	75,0	80,7	19,3
≥ 2,4	75,0	84,4	15,6
≥ 2,5	75,0	84,8	15,1
≥ 2,6	66,6	87,1	12,8
≥ 2,7	66,6	87,6	12,4
≥ 2,8	66,6	88,5	11,4
≥ 2,9	66,6	90,8	9,1
≥ 3,0	66,6	91,7	8,2
≥ 3,1	66,6	93,1	6,9
≥ 3,2	66,6	93,1	6,9
≥ 6,1	33,3	98,1	1,8
≥ 7,1	33,3	98,6	1,4
≥ 8,1	16,6	98,6	1,4
≥ 9,1	8,3	98,6	1,4
≥ 10,1	0	99,1	0,9
≥ 14,1	0	100	0

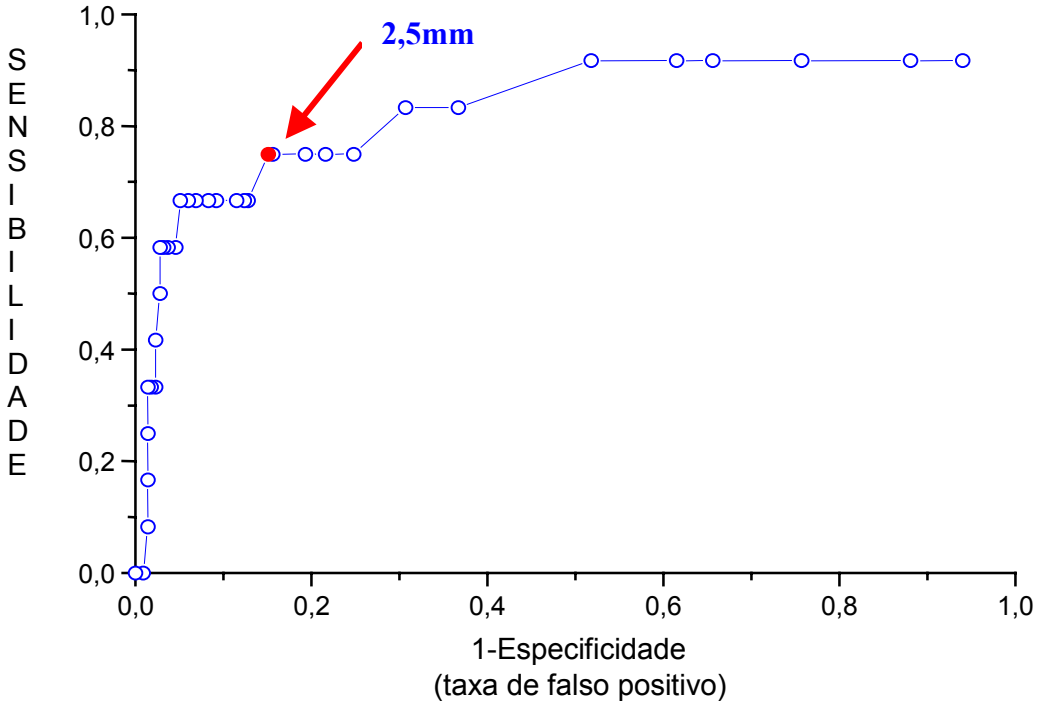

Figura 7. *Curva ROC da TN para rastreamento da trissomia do cromossomo 21 em diferentes pontos de corte.*

Tabela 18 - Proporção entre fetos com trissomia do cromossomo 21 presente e ausente segundo o ponto de corte escolhido

	Presente (n)	**Ausente (n)**
TN ≥ 2,5	9	33
TN < 2,5	3	185
TOTAL	**12**	**218**

Sensibilidade = 75 % Especificidade = 84,9 % VPP = 21,4%
VPN = 98,4% Razão de verossimilhança (+)= 5,0
Taxa de procedimento invasivo =18,2%

O risco de cromossomopatia aumenta com a medida da translucência nucal, gerando assim *odds* distintas para diferentes medidas de TN *(*ANEXOS 5 e 6). Essa *odds* é maior do que um a partir de uma medida de TN de 5mm (Figura 8). Com o objetivo de se determinar o risco associado da idade materna àquele da TN, multiplicou-se esse risco associado à TN pelo risco específico relacionado à idade materna (entre nove e 14 semanas de gestação), para trissomias dos cromossomos 21 e 18 (ANEXO 7).

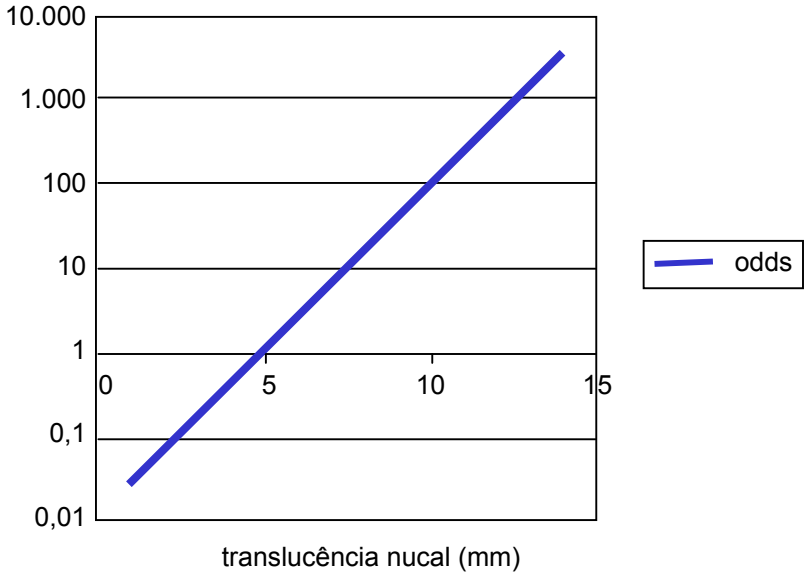

Figura 8. *Chance de cromossomopatia segundo a medida da translucência nucal - Regressão logística*

A Tabela 19 mostra a razão de verossimilhança (RV) da associação do *odds da* medida da TN com o risco específico da idade materna para trissomia do cromossomo 21, considerando-se como teste positivo três níveis de corte definidos pela curva ROC: risco associado ≥ 1/1333; ≥ 1/1470 e ≥ 1/2780. O melhor equilíbrio entre sensibilidade e especificidade foi o risco associado ≥ 1/1470 com uma sensibilidade de 66,6%, especificidade de 75,2% , razão de verossimilhança de 2,7 e uma taxa de procedimentos invasivos de 26,9%.

Tabela 19 - Acurácia do rastreamento de trissomia do cromossomo 21 associando-se a idade materna e o valor da translucência nucal segundo diferentes níveis de corte

RISCO associado ≥	Teste Positivo n	Taxa procedimento invasivo (%)	Sens. %	Espec. %	VPP %	VPN %	RV
1/1333	49	21,3	58,3	80,7	14,3	97,2	3,0
1/1470	62	26,9	66,6	75,2	12,9	97,6	2,7
1/2780	100	43,4	75,0	58,3	9,0	97,7	1,8

n = Número de casos; Sens. = Sensibilidade; Espec. = Especificidade;
VPP = Valor preditivo positivo; VPN = Valor preditivo negativo
RV = Razão de verossimilhança

A Figura 9 mostra a comparação das três curvas ROC para rastreamento da trissomia do cromossomo 21, utilizando-se como fator de risco apenas a idade; apenas a TN e finalmente a associação de ambas. A utilização

da TN de forma isolada apresentou a maior área sob a curva ROC (acurácia de 77,5%).

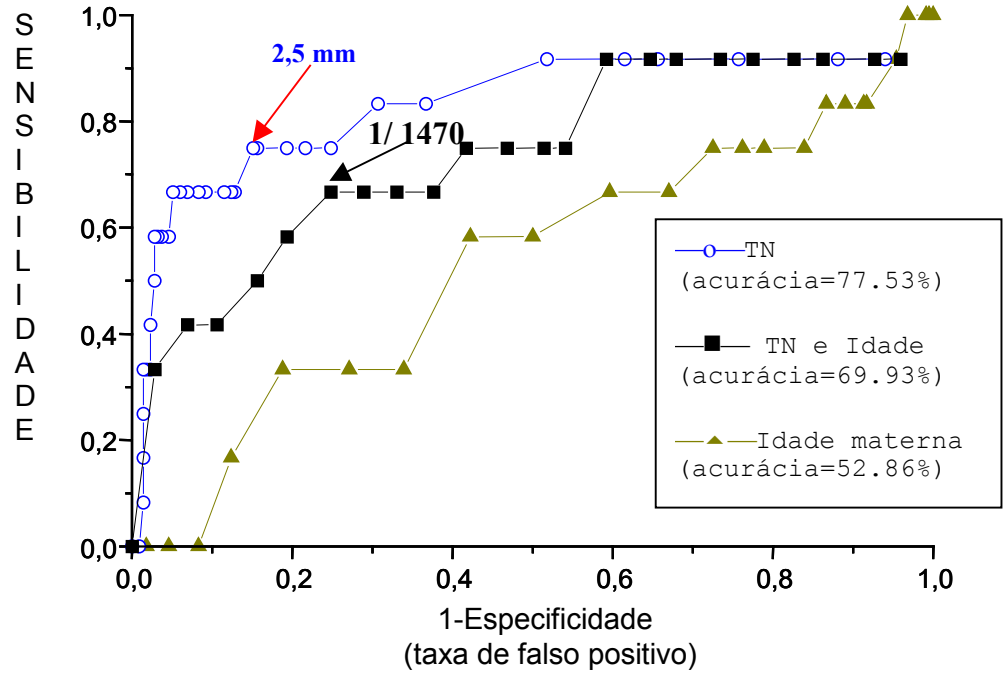

Figura 9. *Comparação, pela Curvas ROC, do rastreamento da trissomia do cromossomo 21 segundo idade materna; idade materna associada à TN e apenas TN*

A Tabela 20 mostra o risco de trissomia do cromossomo 18, utilizando-se apenas o risco prévio relacionado à idade materna determinada por SNIJDERS *et al.,* em 1994. O risco ≥ 1/200 apresentou sensibilidade de 60% com uma razão de verossimilhança de 1,8.

Tabela 20 - Acurácia para rastreamento de trissomia do cromossomo 18 utilizando-se o risco prévio* relacionado à idade materna segundo diferentes níveis de corte

RISCO ≥	Teste Positivo n	Taxa procedimento invasivo (%)	Sens. %	Espec. %	VPP %	VPN %	RV
1/100	29	12,6	40,0	88,0	6,9	98,5	3,3
1/200	78	33,9	60,0	66,6	3,8	98,6	1,8
1/300	116	50,4	100	50,6	4,3	100	0,5

n = Número de casos; Sens. = Sensibilidade; Espec. = Especificidade;
VPP = Valor preditivo positivo; VPN = Valor preditivo negativo
RV = Razão de verossimilhança *SNIJDERS *et.al ,1994* (ANEXO 7)

O equilíbrio entre sensibilidade e especificidade para rastreamento do cromossomo 18 permaneceu no corte de ≥ 2,5mm (figura 10).

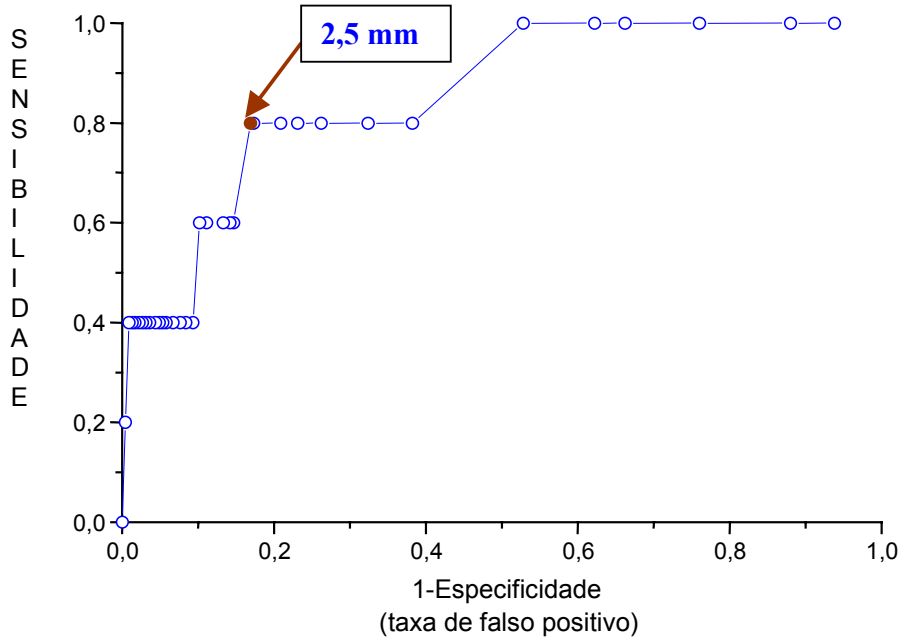

Figura 10. Curva ROC da TN para rastreamento da trissomia do cromossomo 18 em diferentes pontos de corte.

Utilizando-se valores de TN ≥ 2,5mm como rastreamento positivo identificou-se quatro dos cinco fetos acometidos pela trissomia do cromossomo 18, apresentando uma razão de verossimilhança de 4,7 (Tabela 21).

TABELA 21 - Proporção entre fetos com trissomia do cromossomo 18 presente e ausente segundo o ponto de corte escolhido

	Presente (n)	**Ausente (n)**
TN ≥ 2,5	4	38
TN < 2,5	1	187
TOTAL	**5**	**225**

Sensibilidade = 80,0% Especificidade = 83 % VPP = 9,5% VPN 99,4%
Razão de verossimilhança (+) 4,7

A associação de riscos da idade e TN para trissomia do cromossomo 18 tem como ponto de corte definido pela ROC o risco associado ≥ 1/ 9.090 com sensibilidade de 80%, especificidade de 84,4%, razão de verossimilhança de 5,1 e com uma taxa de procedimentos invasivos de 16,9% (Tabela 22).

Tabela 22 - Acurácia para rastreamento de trissomia do cromossomo 18 associando-se a idade materna e o valor da translucência nucal segundo diferentes níveis de corte

RISCO associado ≥	**Teste Positivo n**	**Taxa procedimento invasivo (%)**	**Sens. %**	**Espec. %**	**VPP %**	**VPN %**	**RV**
1/9090	39	16,9	80,0	84,4	10,3	99,5	5,1
1/25640	99	43,0	80,0	57,8	4,0	99,2	1,9
1/83300	185	80,4	100	20	2,7	100	1,2

n = Número de casos; Sens. = Sensibilidade; Espec. = Especificidade; VPP = Valor preditivo positivo; VPN = Valor preditivo negativo RV = Razão de verossimilhança

A Figura 11 mostra a comparação das três curvas ROC para rastreamento da trissomia do cromossomo 18, utilizando-se como fator de risco apenas a idade; apenas a TN e finalmente a associação de ambas. A utilização da TN em associação com a idade materna apresentou, segundo a área sob a ROC, a maior acurácia para o rastreamento da trissomia do cromossomo 18.

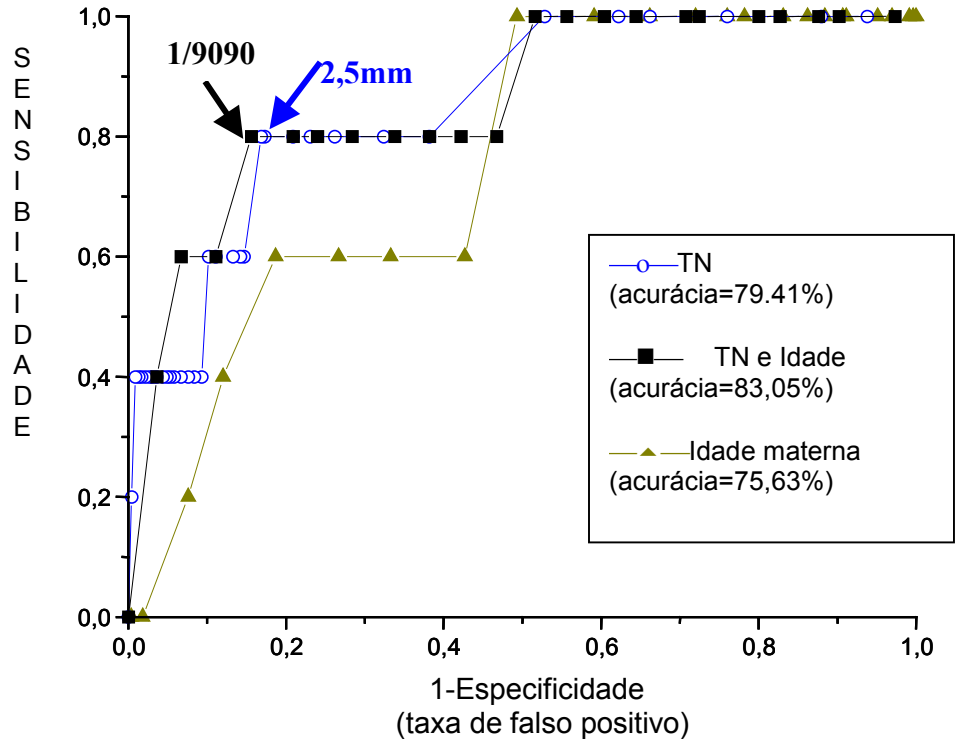

Figura 11. Comparação, pela Curvas ROC, do rastreamento da trissomia do cromossomo 18 segundo idade materna, idade materna associada à TN e apenas TN.

O ponto de corte da TN $\geq$ 2,5mm mostrou uma razão de verossimilhança de 0,8 para a monossomia do cromossomo X (Tabela 23).

Tabela 23 - Proporção entre fetos com monossomia do cromossomo X presente e ausente segundo o ponto de corte escolhido

	Presente (n)	**Ausente (n)**
TN $\geq$ 2,5	2	40
TN < 2,5	1	187

Sensibilidade = 66 % Especificidade = 17,6 % VPP = 4,7%
VPN = 99,4% Razão de verossimilhança (+) = 0,8

A Figura 12 compara as curvas ROC no rastreamento de todas as aneuploidias (só pela TN) para trissomia do cromossomo 18 (associação TN e idade materna) e para trissomia do cromossomo 21 (só pela TN). Nessa comparação as acurácias das trissomias do cromossomo 21 e de todas as aneuploidias são iguais, sendo a do cromossomo 18 superior (acurácia de 83%).

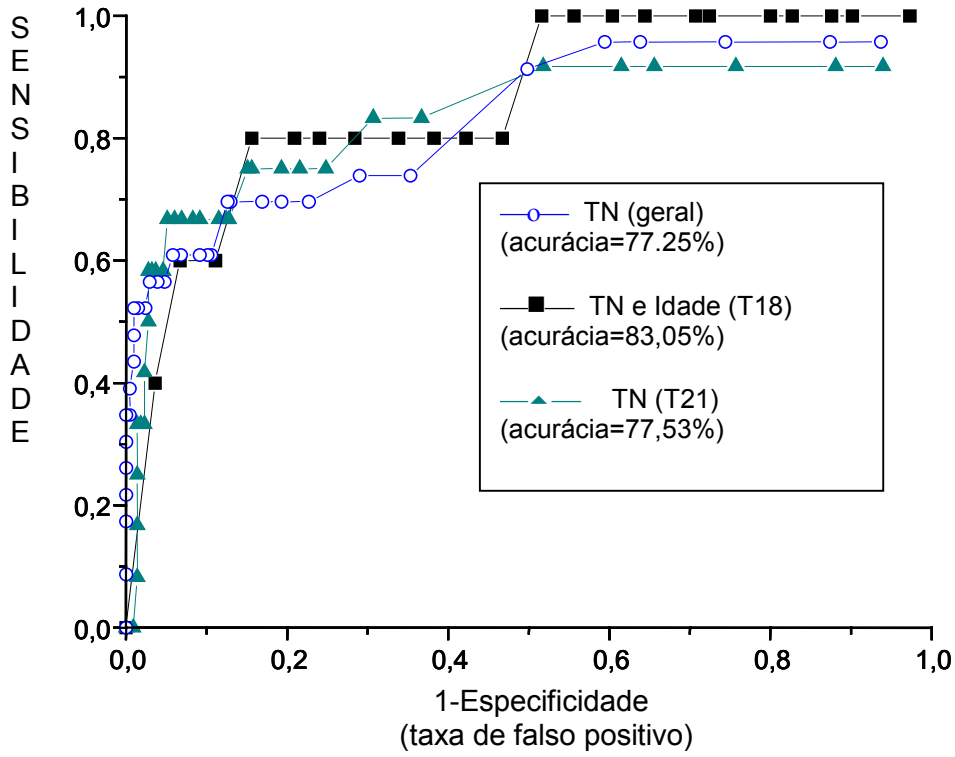

Figura 12. Comparação, pela Curva ROC, da acurácia no rastreamento de todas as aneuploidias, trissomia dos cromossomos 21 e 18.

5. Discussão

Este estudo demonstrou que a medida da translucência nucal entre dez e 14 semanas de gestação foi útil no rastreamento geral das cromossomopatias e para o rastreamento individual das trissomias dos cromossomos 21 e 18.

O grupo de mulheres avaliadas tinha uma idade média de 35,8 anos, sendo as de Belo Horizonte, em média, de maior idade (36,4 anos). Esse dado caracteriza a amostra como de alto risco para aneuploidias e pode ter influído positivamente na acurácia do teste. A principal indicação conhecida para a pesquisa de cariótipo fetal foi idade materna avançada. No grupo de mulheres com menos de 35 anos, a ansiedade materna foi o principal motivo que indicou a pesquisa de cariótipo fetal.

A prevalência de aneuploidias foi de 10%, muito maior nas pacientes de Belo Horizonte (12,3%) do que nas de Campinas (4,5%), o que pode ser explicado, em parte, pela idade maior das pacientes de Belo Horizonte. Neste grupo, 38 mulheres tinham mais de 40 anos. Outra justificativa para essa elevada prevalência de aneuploidias é que as duas clínicas onde se realizaram

os exames são serviços de referência para medicina fetal e, portanto, concentram casos com maior risco para cromossomopatias.

O comprimento cabeça-nádega médio no dia da medida da translucência nucal foi de 59,7mm, o que corresponde a uma idade gestacional média de 12 semanas e 2 dias. As maioria das mulheres de Belo Horizonte realizou a medida da TN na 12ª semana de gestação e em Campinas na 11ª. Essa diferença pode ser atribuída ao fato de que em Campinas a medida de TN foi usada como critério seletivo entre biópsia de vilo corial e amniocentese. A biópsia de vilo foi realizada nos casos com TN aumentada, para um diagnóstico mais precoce do cariótipo fetal. Por esse motivo, o exame de TN foi agendado precocemente para indicar qual seria o procedimento invasivo desses casos, sendo a amniocentese o procedimento mais freqüente (ANEXO 8). Em Belo Horizonte, em geral, a paciente se submetia à medida da TN no mesmo dia do procedimento invasivo, tendo sido a biópsia de vilo corial o procedimento realizado em todos os casos (ANEXO 8).

A média da medida da TN foi igual nos dois centros, dado importante, uma vez que é sabido que essa medida aumenta com a idade gestacional nos fetos normais (PANDYA *et al., 1995b;* BRAITHWAITE, MORRIS, ECONOMIDES, 1996; PAJKRT *et al., 1998a;* SCHUCHTER et al., 1998; YAGEL *et al.,* 1998*)*. Como as médias da TN e da idade gestacional foram iguais nas duas cidades, isso nos sugere uma reprodutibilidade das medidas entre os dois locais de coleta dos dados. Essa segurança de reprodutibilidade da medida da TN entre

os dois centros também pode ser reforçada pelo fato de que todos os ultra-sonografistas do estudo participaram de treinamento teórico-prático para medida da TN, tendo realizado pelo menos 50 medidas anteriores às deste estudo.

A proporção entre fetos com cromossomopatias e cariótipo normal foi a mesma nas diferentes idades gestacionais estudadas. A literatura mostra um decréscimo no número de alterados em idade gestacionais mais avançadas devido a abortamentos espontâneos (HOOK *et al., 1988;* SNIJDERS *et al.,* 1994; SNIJDERS *et al.,* 1999). Os estudos que mostram essa característica são populacionais e com grande número de casos. A amostra deste estudo é pequena e pode ser uma justificativa para tal discordância.

A proporção entre fetos com cariótipo normal e alterado foi igual nas diferentes faixas etárias. Mesmo após dicotomizar a idade materna em $\geq$ 35 anos e < 35 anos essa tendência persistiu, o que é discordante da literatura que mostra um aumento do risco de alterações cromossômicas com o avançar da idade materna (HOOK *et al., 1988;* SNIJDERS *et al.,* 1994; SNIJDERS *et al.,* 1999). A característica da amostra estudada, que pode ter levado a essa discordância, é que o grupo de mulheres com menos de 35 anos apresentava malformações em gestações anteriores, aneuplodias anteriores (ANEXO 2), o que as tornou gestantes de risco maior para cromossomopatias (NICOLAIDES *et al., 1993;* SNIJDERS & NICOLAIDES 1996b; NOBLE, 1998), e que por esses motivos realizaram a pesquisa do cariótipo fetal.

A medida de TN entre os fetos normais foi menor que a medida daqueles com cromossomopatias, como mostrou o teste de tendências utilizado. Esse dado é concordante com a literatura (NICOLAIDES *et al.*, 1994; HAFNER *et al.,*1995*;* BRAITHWAITE *et al.*, 1996; SNIJDERS & NICOLAIDES, 1996b; HAFNER *et al.,* 1998; PAJKRT *et al.,*1998a ; PAJKRT *et al.,*1998b; SCHUCHTER *et al.,* 1998) e reforça a utilidade da medida da TN no rastreamento de aneuplodias.

O melhor ponto de corte fixo para considerar um exame alterado para todas as aneuplodias foi definido, através da curva *ROC,* como sendo a medida de TN ≥ 2,5 mm. Alguns trabalhos consultados apresentam esse mesmo ponto de corte fixo (PANDYA *et al.,* 1995c; HAFNER *et al.* 1998) sendo que um número maior de autores usaram valor fixo de TN ≥ 3mm (NICOLAIDES *et al.,* 1992; NICOLAIDES *et al.,* 1994; BEWLEY *et al.*, 1995; CHA'BAN *et al.,* 1996; REYNDERS PAUKER, BENACERRAF, 1997; FARIA *et al.,* 1997).

Com a medida de TN ≥ 2,5mm o teste apresentou sensibilidade de 69,5%, especificidade de 87,4% e uma razão de verossimilhança de 5,5, para todas as aneuploidias. Tal dado é concordante com o trabalho de HAFNER *et al.*(1998), que obteve 65% de sensibilidade, porém em população com prevalência de 0,4% de aneuplodias, e ainda semelhante ao de PANDYA *et al. (*1995c), com sensibilidade de 75% e 0,2 % de prevalência de aneuplodias.

A alteração cromossômica mais freqüente foi a trissomia do cromossomo 21 (12 casos) seguida da trissomia do cromossomo 18 (5 casos) e monossomia do cromossomo X em três casos, sendo um deles um mosaicismo. A literatura

também mostra a trissomia do cromossomo 21 como a mais freqüente, sendo dez vezes mais identificada do que a trissomia do cromossomo 18 em recém-nascidos (THOMPSON *et al.,* 1993) e três vezes mais freqüente em gestações entre nove e 14 semanas (SNIJDERS *et al.* 1994), como neste estudo. A freqüência de monossomia X, segundo a literatura, é de 1,5% de todas as gestações reconhecidas, porém somente 1% dessas sobrevive após a 28ª semana de gestação (HOOK, 1981). A proporção entre as trissomias do 21 e 18 e a monossomia X deste estudo é semelhante à encontrada por SNIJDERS *et al.,* em 1998.

A utilidade da medida da translucência nucal foi testada para a trissomia do cromossomo 21 isoladamente. Primeiro, observamos qual seria acurácia de um rastreamento nesta amostra, utilizando apenas o risco atribuível à idade materna (prévio ao teste), descrito por SNIJDERS *et al.* em 1994. Para isso utilizamos três níveis de corte para considerar positivo o teste: risco $\geq$ 1/100; $\geq$ 1/200; $\geq$ 1/300. Observamos uma sensibilidade que variou de 58% a 75% com baixas especificidades (50% a 21%), razões de verossimilhança em torno de um e altas taxas de procedimentos invasivos que variaram de 50% a 78%.

A seguir, também utilizando a curva ROC, determinamos a medida de TN $\geq$ 2,5mm com um bom corte fixo para o teste. Nessa situação a TN melhorou a qualidade do rastreamento com sensibilidade de 75%, especificidade de 85%, razão de verossimilhança de 5 e com uma taxa de procedimentos invasivos que diminuíram de 72,6 % (risco atribuível à idade $\geq$ 1/200) para 18,2% .

Em seguida, multiplicamos a *odds* atribuída à idade (prévio ao exame) pela *odds* atribuída à medida da TN, gerando assim um novo risco (risco *a posteriori*). Nesta situação a curva ROC definiu um risco associado ≥ 1/1.470 como o melhor ponto de corte, com menor sensibilidade, especificidade, razão de verossimilhança e uma taxa de procedimentos invasivos que subiu de 18,2% (só pela TN) para aproximadamente 27%.

PAJKRT *et al.* (1998b), analisando uma população de alto risco (prevalência de 2,8%), apresentam resultados de acurácia menores que o nosso (69%), utilizando ponto de corte de TN ≥ 3,0mm, porém com taxa de procedimentos invasivos bem menores (4,9%). Esses mesmos autores (PAJKRT *et al.* 1998c), estudando uma população de baixo risco e assumindo o rastreamento como positivo para trissomia do cromossomo 21 com risco seqüencial ≥ 1/100, apresentaram taxa de detecção melhor do que a observada (78%) neste trabalho, com uma índice de procedimentos invasivos bem menor (8,1%). Essas diferenças entre os achados do grupo de PAJKRT e este estudo provavelmente se devem a maior prevalência de aneuploidias desta amostra, que é quatro vezes maior que a do grupo de alto risco de PAJKRT e 16 vezes maior que a do de baixo risco.

O maior estudo colaborativo de translucência nucal até hoje publicado (SNIJDERS *et al.* 1998), com 96.127 pacientes e que utilizou o risco seqüencial, tem acurácia para trissomia do cromossomo 21 melhor que a encontrada neste trabalho (82,2%), porém com necessidade de 30 procedimentos invasivos para

o diagnóstico de um afetado, contra cinco procedimentos para diagnóstico de um afetado desta amostra. O estudo colaborativo de SNIJDERS incluiu o risco relacionado à idade gestacional no cálculo do risco seqüencial, que nesta amostra não se mostrou importante. Esse pode ser o motivo da melhor acurácia desse amplo estudo. Nesta amostra houve melhor relação procedimento invasivo/ diagnóstico de afetado, provavelmente devido à alta prevalência de aneuplodias deste estudo (10%).

A utilidade da medida da translucência nucal também foi testada para a trissomia do cromossomo 18 isoladamente. Primeiro observamos qual seria a acurácia de um rastreamento nesta amostra, utilizando apenas o risco atribuível à idade materna (prévio ao teste). Observamos no corte de risco $\geq$ 1/200, uma sensibilidade de 60%, especificidade de 66,6%, com uma razão de verossimilhança de 1,8 e uma taxa de procedimentos invasivos de 34%.

Utilizando-se o ponto de corte fixo de TN $\geq$ 2,5mm, a sensibilidade do rastreamento aumentou para 80% com uma especificidade de 83%, razão de verossimihança de 4,7 e diminuição dos procedimentos invasivos de 34 % para 18,2%, mostrando-se, portanto, melhor do que utilizar somente a idade materna como método de rastreamento para T18.

Quando associamos o risco atribuído à idade ao risco da TN, observamos uma manutenção dos níveis de acurácia do teste e diminuição da taxa de procedimentos invasivos de 18,2% para 16,9%, mas com nível de corte muito elevado (1/9.090).

Como a monossomia do cromossomo X deve-se geralmente à perda do cromossomo sexual paterno, a idade materna não é determinante na sua freqüência (NICOLAIDES *et al.,* 1999). Por esse motivo, não utilizamos o critério de risco prévio ou seqüencial no seu rastreamento. A utilização do ponto fixo de 2,5mm não foi útil, nesta amostra, no rastreamento da monossomia X e das poliploidias, apresentando sensibilidade de 66%, especificidade de 17,6% e razão de verossimilhança de 0,8 para monossomia X.

Os critérios de seleção da amostra procuraram minimizar o viés de verificação (BEGG & MCNEIL, 1998), somente incluindo no estudo casos onde a indicação do teste não tenha sido a medida de TN aumentada e utilizando o cariótipo como diagnóstico de certeza. No entanto, houve um elevado número de casos onde não conhecíamos a indicação para pesquisa do cariótipo fetal, podendo a medida da TN aumentada ter sido o motivo da realização deste.

Os estudos com grandes amostras publicados utilizaram a TN como indicativo de cariótipo fetal e cariótipo só para as pacientes de risco elevado (idade materna avançada, malformações anteriores), reservando a avaliação fenotípica perinatal para os casos de baixo risco e com TN pequenas (NICOLAIDES *et al.,* 1992; NICOLAIDES *et al.,* 1994; BEWLEY *et al.*, 1995; PANDYA *et al.,* 1995c; CHA'BAN *et al.,* 1996; FARIA *et al.* 1997; REYNDERS *et al.,* 1997; HAFNER *et al.,* 1998; SNIJDERS *et al.,* 1998). Sabe-se que fetos com TN aumentada, bem como com cromossomopatias, têm maior taxa de abortamento (SNIJDERS *et al.,* 1999) e, portanto, a avaliação dos fenótipos dos RN pode ter subestimado o número de fetos com cromossomopatias, entre

dez e 14 semanas, que naturalmente foram abortados depois, superestimando a sensibilidade do teste como descrito por PAJKRT *et al.* (1998b), e levando ao que BEGG E MCNEIL, (1998) chamam de viés de verificação.

O aumento da medida da translucência nucal em fetos entre dez e 14 semanas, mostrou-se relacionado com o aumento de alterações cromossômicas neste estudo, tendo sido útil no rastreamento das cromossomopatias como um todo e individualmente, com melhor acurácia para as trissomias dos cromossomos 18 e 21.

É importante lembrar que o tamanho amostral deste estudo foi calculado para as cromossomopatias como um todo, e que a análise individualizada dos resultados para as trissomias dos cromossomos 21 e 18 pode ter um poder estatístico inferior ao inicialmente definido.

Deve-se ainda ressaltar que, este estudo analisou uma amostra de risco prévio alto para aneuploidias, o que em geral melhora a acurácia dos testes de rastreamento. Por esse motivo não se pode generalizar essa acurácia encontrada para populações onde o risco prévio, relacionado à idade e variáveis obstétricas, é menor.

Não observamos, neste estudo, melhora da acurácia do rastreamento das trissomias dos cromossomos 21 e 18, associando-se a TN ao risco atribuível à idade, sendo o ponto de corte fixo de TN $\geq$ 2,5mm o melhor ponto para o rastreamento de todas as cromossomopatias e também para as trissomias dos cromossomos 21 e 18. A associação do risco da TN com o risco relacionado à

idade pode não ter sido útil pelo elevado número de aneuplodias em pacientes jovens (seis entre as com menos de 35 anos), que apresentam riscos potenciais baixos e como a associação desse risco ao da TN permitiu apenas a identificação dos alterados, assumindo positividade para riscos associados baixos (1/1.470 para trissomia do cromossomo 21 e 1/9.090 para trissomia do cromossomo 18).

A literatura encontra-se hoje em um dilema:

A : dispõe de dados metodologicamente confiáveis, por indicar a pesquisa do cariótipo em todos os casos para gestantes de alto risco, onde testes de rastreamento têm bom desempenho.

B : dispõe de trabalhos com grande número de pacientes de baixo risco, para quem o rastreamento seria mais útil, com falhas metodológicas, como usar o resultado da medida da TN como indicativo da pesquisa de cariótipo ou ainda só avaliar os recém-nascidos fenotipicamente, perdendo os casos de abortamento que fatalmente ocorreram entre a medida da TN e a 40ª semana de gestação, e que podem ter influído favoravelmente na acurácia do teste.

Uma limitação do rastreamento de cromossomopatias no primeiro trimestre é que identificamos muitos fetos que espontaneamente evoluiriam para abortamento ou óbito fetal (SNIJDERS *et al.,* 1998). Sabe-se que 30% dos fetos com trissomia do cromossomo 21, 80% com trissomias do cromossomo 18 e aproximadamente 99% com monossomias X são abortados ou evoluem

para o óbito espontaneamente até 40 semanas, sendo as poliploidias extremamente raras em RN (HOOK, 1981; SNIJDERS *et al.* 1995). Se transferíssemos essas porcentagens para a amostra deste estudo e assumíssemos a taxa máxima de perdas para cada aneuploidia, o rastreamento de aneuploidias pela TN identificaria oito casos de fetos com trissomia do cromossomo 21 que nasceriam vivos, 1 caso com trissomia do cromossomo 18 e nenhum caso com poliploidias ou monossomia X. Os testes de rastreamento nos países onde o abortamento por cromossomopatias é permitido, tem se concentrado na pesquisa da trissomia do cromossomo 21 devido à sua baixa letalidade.

No Brasil, a interrupção da gestação em fetos com alterações cromossômicas não está previsto em lei. No entanto, a utilização de métodos de rastreamento, que se comprovem eficientes, asseguram ao casal a possibilidade de conhecimento precoce de alterações cromossômicas fetais, preparando-os psicologicamente e permitindo uma assistência pré-natal e neonatal mais adequada às necessidades do casal e do feto, além de permitir ao casal conhecimento de riscos em futuras gestações.

A medida da translucência nucal mostrou boa acurácia neste estudo em população com alta prevalência de aneuploidias, podendo, portanto, ser indicada nessa circunstância.

Sugerimos um estudo prospectivo em população de baixo risco para:

A - Observar a acurácia do teste, utilizando a medida identificada neste estudo (TN $\geq$ 2,5mm) como ponto de corte fixo.

B - Associação do risco da TN com o da idade materna em uma população com prevalência de aneuploidias baixa, comparando a porcentagem de aneuploidia esperada com a observada, nas diferentes idades maternas, para definir se essa associação melhora a acurácia do teste.

C - Utilização do cariótipo fetal para todos os casos estudados, mesmo os casos de abortamento e óbito fetal.

Caso este estudo proposto demonstre a utilidade da TN também em gestantes de baixo risco, poderemos, como já é preconizado pelo grupo de SNIJDERS (1998) ,com segurança ampliar a sugestão de sua aplicação para a população como um todo.

6. Conclusões

1. A medida da translucência nucal apresentou boa acurácia como marcador ultra-sonográfico de cromossomopatias fetais em mulheres entre 10 e 14 semanas de gestação.

2. As mulheres que se submeteram à medida da translucência nucal e cariótipo tinham em média 35,8 anos; a principal indicação para pesquisa de cariótipo foi idade materna $\geq$ 35 anos seguido de ansiedade do casal; a prevalência de cromossomopatias foi de 10%.

3. Não houve associação entre a idade gestacional e cromossomopatia fetal.

4. Não houve associação entre a idade materna e cromossomopatia fetal.

5. Houve associação direta entre o aumento da medida da translucência nucal e cromossomopatia fetal.

6. O melhor ponto de corte fixo para rastreamento de todas as cromossopatias foi TN $\geq$ 2,5mm.

7. A medida da translucência nucal teve boa acurácia para rastreamento individual das trissomias dos cromossomos 21 e 18, não tendo sido útil nas demais alterações cromossômicas.

8. A associação do risco prévio, relacionado à idade materna com a medida da translucência nucal, diminuiu a acurácia do rastreamento para a trissomia do cromossomo 21 e não alterou a acurácia do rastreamento para trissomia do cromossomo 18.

7. Summary

The literature shows an association among several ultrasound markers and chromosome abnormalities' risk. Among these markers, the nuchal translucency is postulated as a screening method for aneuploidies and trisomy 21 is the most investigated. A validation diagnostic test was performed retrospectively in 230 women from two private services, among 10 and 14 weeks of pregnancy measuring the nuchal translucency and using fetal karyotype as a gold standard. The results were evaluated by a univariate analysis, tendency test and logistic regression analysis to study the variables: nuchal translucency, maternal age and gestational age (evaluated by the crown rump length) as predictors of chromosome abnormalities. A receive operator characteristic curve was used to define the best cut-off point of the nuchal translucency. The maternal age and the gestational age did not predict the risk of chromosome abnormalities. The nuchal translucency showed accuracy similar to the literature descriptions. The cut-off point with the best balance between sensitivity and specificity, was 2,5mm or greater.

8. Referências Bibliográficas

BEGG, B.C. & MCNEIL,B.J. - Assessment of radiologic tests: Control of bias and other design considerations. ***Radiology, 167***:565-9, 1988

BERQUÓ, E.S.; SOUZA, J.M.P.; GOTLIEB, S.L.D. - **Bioestatística.** São Paulo, E.P.U.,1981.

BENACERRAF, B.R. ; BARSS, V.A. ; LABODA, L.A. - A sonographic sign for the detection in the second trimester of the fetus with Down´s syndrome. ***Am. J. Obstet. Gynecol., 151***:1078-9, 1985.

BENACERRAF, B.R. ; GELMAN, R. ; FRIGOLETTO, F.D. - Sonographic identification of second trimester fetuses with Down´s syndrome. ***N. Engl. J. Med., 317***:1371-6,1987.

BEWLEY, S. ; ROBERTS, L.J. ; MACKINSON, A.M. ; RODECK, C.H. - First trimester fetal nuchal translucency: Problems with the general population. ***Br. J. Obstet. Gynaecol., 102***:386-8, 1995.

BILARDO, C.M.; PAJKRT, E.; DE GRAAF, I.M.; MOL, B.W.J.; BLEKER, O.P. ;- Outcome of fetuses with enlarged nuchal translucency and normal karyotype. ***Ultrasound Obstet. Gynecol., 11***:401-6, 1998.

BRAITHWAITE, J.M. & ECONOMIDES, D.L. - The measurement of nuchal translucency with transabdominal and transvaginal sonography - Sucess rate, repeatability and levels of agreement. ***Br. J. Radiol., 68***:720-3, 1995.

BRAITHWAITE, J.M.; MORRIS, R.W.; ECONOMIDES, D.L. – Nuchal translucency measurements: frequency distribution and changes with gestation in a general population. ***Br. J. Obstet. Gynaecol., 103***:1201–4, 1996.

BRAMBATI, B.; CISLAGHI, C.;TULUI, L.; ALBERTI, E.; AMIDANI, M.; COLOMBO, U.; ZULIANI, G. - First - trimester Down´s syndrome scrrening using nuchal translucency: a prospective study in patients undergoing chorionic villus sampling. ***Ultrasound Obstet. Gynecol., 5***:9-14, 1995.

BRIZOT, M.L.; CHIBA,C.H.; ZUGAIB, M. - Rastreamento ultra-sonográfico de aneuploidias no primeiro trimestre: translucência nucal In:ZUGAIB.M. - **Medicina Fetal.** 2ed., São Paulo, Atheneu, 1997a. p.574-89.

BRIZOT, M.L.; CHIBA,C.H.; ZUGAIB, M. - Rastreamento bioquimico de malformações estruturais e cromossomopatias In: ZUGAIB, M. - **Medicina Fetal.** 2ed. São Paulo, Atheneu, 1997b. p.601-21.

BRONSHTEIN, M. ; ROTTEM, S. ; YOFFE, N. ; BLUMENFELD, Z. – First trimester and early second-trimester diagnosis of nuchal cystic hygroma by transvaginal sonography: Diverse prognosis of the septated from the nonseptated lesion. ***Am. J. Obstet. Gynecol., 161***: 78-82, 1989.

CHA'BAN, F,K.; VAN SPLUNDER, P. ; LOS, F.J. ; WLADIMIROFF, J. W. - Fetal outcome in nuchal translucency with emphasis on normal fetalkaryotype. ***Prenat. Diagn., 16***:537–41, 1996.

COMAS, C.; MARTINEZ, J.M.; OJUEL, J.; CASALS, E.; PUERTO, B.; BORREL, A.; FORTUNY, A. - First-trimester nuchal edema as a marker of aneuploidy. ***Ultrasound Obstet. Gynecol., 5***:26-9, 1995.

CUCKLE, H.S.& WALD, N.J. - Principles of scrrening. IN WALD, N.J. **Antenatal and neonatal screening**. Oxford: Oxford university, 1984. p.1-15.

FARIA, M. ; QUINTINO, S. ; PETTERSEN, H. - Rastreamento ultra-sonográfico de anomalias cromossômicas através da medida da translucência nucal - Análise de 231 fetos. ***Rev. Bras. Ginec. Obstet., 19***:19-30, 1997.

GRECO, P.; LOVERRO, G.; VIMERCATI, A.; MARZULLO, A; CARUSO, G.; SELVAGGI, L. - Pathological significance of first-trimester fetal nuchal oedema. ***Prenat. Diagn., 16***:503-9, 1996.

HAFNER, E.; SCHUCHTER, K.; PHILIPP, K. - Screening for chromosomal abnormalitities in an unselected population by fetal nuchal translucency. ***Ultrasound Obstet. Gynecol., 13***:330-3, 1995.

HAFNER, E.; SCHUCHTER, K.; LIEBHART, E.; PHILIPP, K. - Results of routine fetal nuchal translucency measurement at weeks 10 -13 in 4233 unselected pregnant women. ***Prenat. Diagn., 18***:29-34, 1998.

HERMAN, A. ; MAYMON, R. ; DREAZEN, E. ; CASPL., E. ; BUKOVSKY, I.; WEINRAUB, Z. - Image magnification does not contribute to the repeatability of caliper placement in measuring nuchal translucency thickness. ***Ultrasound Obstet. Gynecol., 11***:266-0, 1998a.

HERMAN, A.; MAYMON, R.; DREAZEN, E.; CASPI, E.; BUKOVSKY, I.; WEINRAUB, Z.-Nuchal translucency audit:: a novel image-scoring method. ***Ultrasound Obstet. Gynecol., 11***:398-403, 1998b.

HOOK, E.B. & FABIA, J.J. - Frequency of Down syndrome in livebirths by single year maternal age interval: Results of Massachusetts study. ***Teratology, 17***:228-28, 1978.

HOOK, E.B. - Prevalence of chromosome abnormalities during human gestation and implications for study of environmental mutagens. ***Lancet, 6***:169-72, 1981.

HOOK, E.B.; CROSS, P.K.; JACKSON, L.; PERGAMENT, E.; BRAMBATI,B. - Maternal age-specific rates of 47, + 21 and other citogenetic abnormalities diagnosed in the first trimester of pregnancy in chorionic villus biopsy specimens: comparison with rates expected from observations at amniocentesis. ***Am. J. Genet., 42***:797-807, 1988.

JOHNSON, M.P.; JOHNSON, A.; HOLZGREVE, W.; ISADA, N.B.; WAPNER, R.J.; TREADWELL, M.C.; HEEGER, M.S.; EVANS, M.I.; - First-trimester simple hygroma: Cause and outcome. ***Am. J. Obstet. Gynecol., 168***:156-61,1993.

KAISENBERG, C.S.; NICOLAIDES, K.H.; BRAND-SABERI, B.; - Lymphatic vessel hypoplasia in fetuses with Turner syndrome. ***Hum. Reprod., 3***: 823-6, 1999.

KORNMAN, L.H.; MORSSINK,L. P.; BEEKHUIS,J.R.; DE WOLF, B.T.H.M.; HERINGA, M.P.; MANTINGH, A. - Nuchal translucency cannot be used as a screening test for chomosomal abnormalities in the first trimester of pregnancy in a routine ultrasound practice. ***Prenat. Diagn., 16***:797-805, 1996.

MERKATZ, I.R.; NITOWSKY, H.M.; MACRI, J.N.; JOHNSON, W. E. – An association between low maternal serum alpha-fetoprotein and fetal chromosomal abnormalities. ***Am. J. Obstet. Gynecol., 148***:886-94, 1984.

MOSCOSO,G. – Fetal nuchal translucency: a need to understand the physiological basis. ***Ultrasound Obstet. Gynecol., 5***:381–3, 1995.

NICOLAIDES, K.H.; AZAR, G.; BYRNE, D.; MANSUR, C.; MARKS, K. – Fetal nuchal translucency: ultrasound screening for chromosomal defects in first trimester of pregnancy. ***Br. Med. J., 304***:867-9, 1992.

NICOLAIDES, K.H.; SHAWWA, L.; BRIZOT, M.L.; SNIJDERS, R.J.M. - Ultrasonographically detectable markers of fetal chromosomal defects. ***Ultrasound Obstet. Gynecol., 3***: 56-69, 1993.

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. Gynaecol., 101***:782-6, 1994.

NICOLAIDES, K.H.; SEBIRE, N.J.; SNIJDERS, R.J.M. - Nuchal translucency and chromosomal defects. In:**The 11 – 14 weeks scan - The diagnosis of fetal abnormalities.** New York and London, the Parthenon publishing group, 1999. p.3-63.

NOBLE, J. – Natural history of Down's syndrome: a brief review for those involved in antenatal screening. ***J. Med. Screen, 5***:172–7, 1998.

PAJKRT, E.; DE GRAFF, I.M.; MOL, B.W.J.; VAN LITH, J.M.M.;BLEKER, O.P.; BILARDO, C.M. - Weekly nuchal translucency measurements in normal fetuses. ***Obstet. Gynecol., 91*:**208-11, 1998a.

PAJKRT, E. ; MOL, B.W.J. ; VAN LITH, J.M.M. ; BLEKER, O.P. ; BILARDO, C.M.- Screening for Down´s syndrome by fetal nuchal translucency measurement in a righ-risk population. ***Ultrasound Obstet. Gynecol., 12***:156 - 162,1998b.

PAJKRT, E.; VAN LITH, J.M.M.; MOL, B.W.J.; BLEKER, O.P.; BILARDO, C.M. - Screening for Down´s syndrome by fetal nuchal translucency measurement in a general obstetric population. ***Ultrasound Obstet. Gynecol., 12***:163-9, 1998c.

PANDYA, P.P.; ALTMAN, D.G.; BRIZOT, M.L.; PETTERSEN, H.; NICOLAIDES, K.H. - Repeatability of measurement of fetal nuchal translucency thickness**.** ***Ultrasound Obstet. Gynecol., 5***:334-7, 1995a.

PANDYA, P.P.; SNIJDERS, R.J.M.; JOHNSON, S.P.; BRIZOT, M.L. – Screening for fetal trisomies by maternal age and fetal nuchal translucency thickness at 10 to 14 weeks of gestation. ***Br. J. Obstet.Gynaecol, 102***:957-62, 1995b.

PANDYA, P.P.; GOLDBERG, H.; WALTON, B.; RIDDLE, A.; SHELLEY, SNIJDERS, R.J.M.; NICOLAIDES, K.H. - The implementation of first-trimester scanning at 10 - 13 week ´s gestation and the measurement of fetal nuchal translucency thickness in two maternity units. ***Ultrasound Obstet. Gynecol., 5***:20-5, 1995c.

PANDYA, P.P.; JOHNSON, S.P.; MALLIGIANIS, P.; NICOLAIDES, K.H. - First-trimester fetal nuchal translucency and screening for chromosomal abnormalities. In:JURKOVIC, D. & JAUIAUX. A, (eds). - **Ultrasound and early pregnancy.** London and New York, Parthenon publishing.1996. p.81-94.

REYNDERS, C. S.; PAUKER, S. P.; BENACERRAF, B. R. – First trimester isolated fetal nuchal lucency: significance and outcome. ***J. Ultrasound Med., 16***:101–5, 1997.

ROBERTS, L.J.; BEWLEY, S.; MACKINSON, A.M. - First trimester fetal nuchal translucency: Problems with screening the general population. 1 . ***Br. J. Obstet. Gynaecol., 102***:381-5, 1995.

ROBINSON, H.P. & FLEMING, J.E. - A critical evaluation of sonar crown-rump length measurements. ***Br. J. Obstet. Gynaecol., 82***:702-10, 1975.

SCHAEFER, M. ; LAURICHESSE-DELMAS, H. ; VILLE, Y. - The effect of nuchal cord on nuchal translucency measurement at 10 - 14 weeks. **UltrasoundObstet. Gynecol., 11:** 271 - 273, 1998.

SCHAFER, H. – Efficient confidence bounds for ROC curves. ***Statistic Med., 13***:1551–61, 1994.

SCHUCHTER, K.; WALD, N.; HACKSHAW, A.K.; HAFNER, E.; LIEBHART, E. The distribution of nuchal translucency at 10 - 13 weeks of pregnancy. ***Prenat. Diagn., 18***:281-6, 1998.

SNIJDERS, R.J.M. ; HOLZGREVE, W. ; CUCKLE, H. ; NICOLAIDES, K.H. Maternal age-specific risks for trisomies at 9 -14 weeks´gestation. ***Prenat. Diagn., 14***:543-52, 1994.

SNIJDERS, R.J.M. ; SEBIRE, N. J. ; CUCKLE, H. ; NICOLAIDES, K.H. - Maternal age-specific risks for chromosomal defects. ***Fetal Diag. Ther., 10***:356-67, 1995.

SNIJDERS, R.J.M. & NICOLAIDES, K.H. - Assessment of risks. In:- **Ultrasound markers for fetal chromosomal defects**. New York and London, the Parthenon publishing group, 1996a. p.63–120.

SNIJDERS, R.J.M. & NICOLAIDES, K.H. - First-trimester fetal nuchal translucency. In:- **Ultrasound markers for fetal chromosomal defects**. New York and London, the Parthenon publishing group, 1996b. p.121-56.

SNIJDERS, R.J.M.; NOBLE, P.; SEBIRE, N.; SOUKA, A.; NICOLAIDES, K.H. - UK multicentre project on assessment of risk of trisomy 21 by maternal age

and fetal nuchal-translucency thickness at 10 - 14 weeks of gestation. Fetal medicine foundation first-trimester screening group. ***Lancet, 352***:337-8, 1998.

SNIJDERS, R.J.M. ; SUNDBERG, K. ; HOLZGREVE, W. ; HENRY, G. ; NICOLAIDES, K.H. – Maternal age and gestation-specific risk for trisomy 21. ***Ultrasound Obstet. Gynecol., 13***:167–70, 1999.

SOUKA, A.P. ; SNIJDERS, R.J.M. ; NOVAKOV, A. ; SOARES, W. ; NICOLAIDES, K.H. - Defects and syndromes in chromosomally normal fetuses with increased nuchal translucency thickness at 10 - 14 weeks of gestation. ***Ultrasound Obstet. Gynecol., 11***:391-400, 1998.

SZABÓ, J. & GELLEN, J. - Nuchal fluid accumulation in trisomy 21 detected by vaginosonography in first trimester. ***Lancet, 3***:1133, 1990.

SZABÓ, J. ; GELLEN, J. ; SZEMERE, G. - First-trimester ultrasound screening for fetal aneuploidies in women over 35 and under 35 years of age. ***Ultrasound Obstet. Gynecol., 3***:161-3, 1995.

TAIPALE, P. ; HIILESMA, A. ; SALONEN, R. ; YLOSTALO, P. - Increased nuchal translucency as a marker for the chromosomal defects. ***N. Engl. J. Med., 23***:1654-58, 1997.

THOMPSON, M.W.; MCINNES, R.R.; WILLARD, H.F. - Citogenética clínica: princípios gerais e anormalidades autossômicas. In:**Thompson & Thompson genética médica.** 5ed. Rio de Janeiro, Guanabara Koogan, 1993. p.138-68.

VAN VUGT, J.M.G.; TINNEMANS, B.W.S.; VAN ZALEN-SPROCK, R.M.; - Outcome and early childhood follow-up of chromosomally normal fetuses

with increased nuchal translucency at 10 - 14 weeks gestation. ***Ultrasound Obstet. Gynecol., 11***:407-9, 1998.

WALD, N.J.; CUCKLER, H.S.; DENSEM, G.W. Maternal serum unconjugated oestriol as an antenatal screening test for Down´s Syndrome. ***Br. J. Obstet. Gynaecol., 95***:334-41, 1988a.

WALD, N.J.; CUCKLER, H.S.; DENSEM, G.W. - Maternal serum screening for Down´s syndrome in early pregnancy. ***Br. Med. J. 297***:883-7, 1988b.

WHITLOW, B.J. & ECONOMIDES, D.L. - The optimal gestational age to examine fetal anatomy and measure nuchal translucency in the first-trimester. ***Ultrasound Obstet. Gynecol., 11***:258-61, 1998.

YAGEL, S.; ANTEBY, E.Y.; ROSEN, L.; YAFFE, E.; RABINOWITZ, R. Assessment of first-trimester nuchal translucency by daily reference intervals. ***Ultrasound Obstet. Gynecol., 11***:262–5, 1998.

9. Bibliografia de Normatizações

1. HERANI, M.L.G. - Normas para apresentação de dissertações e teses. BIREME, São Paulo, 1991. 45p.

2. Normas e procedimentos para publicação de dissertações e teses. Faculdade de Ciências Médicas, UNICAMP. Ed. SAD - OF. CIR/ PRPG/06/95 - Normas ABNT. 1995. 8p.

10. Anexos

Anexo 1 - Ficha de coleta de dadosMedida da translucência nucal como marcador ultra-sonográfico de cromossomopatia fetal

FORMULÁRIO Nº: Nº DE IDENTIFICAÇÃO DA CLÍNICA ( )
RESPONSÁVEL PELA COLETA DOS DADOS_____

1 - PACIENTE:_____
(nome completo)
2 - Idade:_____anos 3 - Data do Nascimento:____/____/____
(no dia da medida da translucência)

4 - DUM: ____/____/____ 5 - DATA DA USG: ____/____/____
(1ºdia da última menstruação) (USG da medida da translucência nucal)

6 - MEDIDA DO COMPRIMENTO CABEÇA-NÁDEGA (CCN): MM ☐
(no dia da medida da translucência nucal)

7 - IDADE GESTACIONAL PELO CCN: SEMANAS E DIAS ☐ ☐

8 - TRANSLUCÊNCIA NUCAL: MM E DÉCIMOS ☐ ☐

9 - INDICAÇÃO PARA O CARIÓTIPO FETAL:

☐ Ansiedade do casal
☐ Idade materna avançada (maior ou igual a 35 anos)
☐ Malformação fetal em gestação anterior
☐ Malformação na gestação atual
☐ Aneuploidia em gestação anterior
☐ Outros.Especificar_____

10 - DATA DO PROCEDIMENTO INVASIVO: ____/____/____

11 - PROCEDIMENTO INVASIVO REALIZADO:

( ) Amniocentese clássica ( ) Amniocentese precoce ( ) Biópsia de Vilo( )Cordocentese ( )mat. de aborto

12 - RESULTADO DO CARIÓTIPO FETAL:

____	46 XX (FEMININO E NORMAL)
____	46 XY (MASCULINO E NORMAL)
____	TRISSOMIA DO CROMOSSOMO 21(Síndrome de Down)
____	TRISSOMIA DO CROMOSSOMO 18
____	TRISSOMIA DO CROMOSSOMO 13
____	MONOSSOMIA DO CROMOSSOMO X
____	OUTRO RESULTADO. ESPECIFICAR_____

_____

Anexo 2 - Motivo pelo qual realizou a pesquisa do cariótipo entre as mulheres com menos de 35 anos

Motivo	n	%
Ansiedade do casal	25	32,9
Malformação em gestação anterior	3	3,9
Malformação nesta gestação	3	3,9
Aneuploidia em gestação anterior	3	3,9
Pesquisa de paternidade	3	3,9
Rastreamento bioquímico positivo	2	2,7
Consangüinidade do casal	2	2,7
Pesquisa de infecções fetais	2	2,7
Higroma cístico	1	1,3
Aneuploidia em parentes de 1º grau	1	1,3
Exposição a radiações ionizantes	1	1,3
Exposição a drogas teratogênicas	1	1,3
Desconhecido	29	38,2
TOTAL	**76**	**100**

Anexo 3 - Motivo pelo qual realizou a pesquisa do cariótipo entre as mulheres com 35 anos ou mais

Motivo	n	%
Idade materna avançada	135	88
Abortamento desta gestação	1	0,5
Óbito fetal desta gestação	1	0,5
Malformação fetal anterior	1	0,5
Higroma neste feto	1	0,5
Desconhecido	15	10
TOTAL	**154**	**100**

Anexo 4 - Idade materna, idade gestacional (IG), medida da translucência nucal (TN) e cariótipo nos fetos com aneuploidias

Nº do caso	Idade Materna (anos)	Idade Gestacional (semanas)	TN (mm)	Cariótipo
1	26	11 semanas	1,0	47,XY,+21
2	26	11 semanas e 4 dias	1,7	69,XXY
3	34	14 semanas	1,8	92,XXYY
4	41	13 semanas e 4 dias	1,8	46,XX /45,X0
5	36	12 semanas e 5 dias	1,8	47,XY,+21
6	37	12 semanas e 5 dias	1,8	47,XY,+18
7	42	12 semanas	2,0	47,XY,+21
8	34	12 semanas e 4 dias	2,5	47,XY,+21
9	41	11 semanas e 6 dias	2,5	47,XX,+18
10	42	12 semanas e 4 dias	3,0	47,XY,+18
11	38	11 semanas e 3 dias	3,8	47,XX,+21
12	41	12 semanas	4,5	47,XX,+7
13	41	11 semanas e 6 dias	4,8	47,XY,+21
14	38	13 semanas e 5 dias	5,1	47,XY,+21
15	30	11 semanas e 2 dias	5,3	47,XY,+21
16	38	11 semanas e 1 dia	6,9	45,X0
17	42	12 semanas	7,2	47,XX+21
18	25	13 semanas e 5 dias	7,7	47,XX,+21
19	38	12 semanas e 3 dias	8,8	47,XX,+21
20	37	11 semanas e 2 dias	9,4	47,XX+18
21	41	13 semanas e 5 dias	10,0	47,XY,+21
22	26	13 semanas e 6 dias	12,0	45,X0
23	43	13 semanas e 5 dias	14,0	47,XY,+18

Anexo 5 - Chance de trissomia do cromossomo 21 segundo a medida de translucência nucal

TN (mm)	LOGITO	*ODDS*
1,0	0,021903	0,02239
1,5	0,028383	0,02921
1,6	0,029630	0,03054
1,7	0,030931	0,03192
1,8	0,032287	0,03336
1,9	0,033700	0,03488
2,0	0,035173	0,03645
2,1	0,036707	0,03811
2,2	0,038306	0,03983
2,3	0,039972	0,04164
2,4	0,041707	0,04352
2,5	0,043514	0,04549
2,6	0,045396	0,04755
2,7	0,047355	0,04971
2,8	0,049394	0,05196
2,9	0,051516	0,05431
3,0	0,053724	0,05677
3,5	0,066164	0,07085
4,5	0,099377	0,11034
5,1	0,12583	0,14394
6,0	0,17659	0,21445
6,9	0,24215	0,31951
7,2	0,26736	0,36493
8,8	0,42574	0,74138
9,4	0,49164	0,96711
10,0	0,55783	1,26158
12,0	0,75369	3,05987
14,0	0,88126	7,42152

Regressão logística

Anexo 6- Chance de trissomia do cromossomo 18 segundo a medida de translucência nucal

TN (mm)	LOGITO	*ODDS*
1,0	0,008049	0,008115
1,5	0,009953	0,010053
1,6	0,010384	0,010493
1,7	0,010834	0,010952
1,8	0,011303	0,011432
1,9	0,011792	0,011932
2,0	0,012301	0,012455
2,1	0,012833	0,013000
2,2	0,013387	0,013569
2,3	0,013965	0,014163
2,4	0,014567	0,014783
2,5	0,015195	0,015430
2,6	0,015850	0,016105
2,7	0,016532	0,016810
2,8	0,017243	0,017546
2,9	0,017984	0,018314
3,0	0,018757	0,019115
3,5	0,023134	0,023682
4,5	0,035072	0,036347
5,1	0,04489	0,04700
6,0	0,06464	0,06911
6,9	0,09225	0,10162
7,2	0,10359	0,11556
8,8	0,18656	0,22935
9,4	0,22874	0,29658
10,0	0,27720	0,38350
12,0	0,47462	0,90340
14,0	0,68032	2,12808

Regressão logística

Anexo 7 - Risco de trissomias do cromossomo 21 e 18 relacionado à idade materna, em gestações entre 9 e 14 semanas.

IDADE MATERNA (em anos)	TRISSOMIA 21	TRISSOMIA 18
20	1/696	1/2193
21	1/687	1/2164
22	1/675	1/2126
23	1/659	1/2077
24	1/640	1/2015
25	1/616	1/1939
26	1/586	1/1846
27	1/551	1/1735
28	1/510	1/1606
29	1/464	1/1462
30	1/415	1/1306
31	1/363	1/1143
32	1/311	1/981
33	1/262	1/825
34	1/216	1/681
35	1/175	1/552
36	1/140	1/411
37	1/111	1/348
38	1/86	1/272
39	1/67	1/211
40	1/51	1/162
41	1/39	1/124
42	1/30	1/94
43	1/23	1/72
44	1/17	1/54
45	1/13	1/41

Adaptado de SNIJDERS *et.al.,1994.*

Anexo 8 - Distribuição percentual do tipo de procedimento realizado para obtenção do material para cariótipo segundo a procedência

	Biópsia de Vilo corial n (%)	***Amniocentese n (%)***	***Cordocentese n (%)***	***Material de aborto n (%)***
Campinas	*15 (8,4)*	*48 (100)*	*01 (100)*	*03 (100)*
Belo Horizonte	*163 (91,6)*	*-*	*-*	*-*
Total	*178 (100)*	*48 (100)*	*01 (100)*	*03 (100)*

Anexo 9 - Técnica da análise laboratorial

1 - Cariótipo de sangue

O material obtido foi enviado ao laboratório de citogenética na própria seringa de coleta, devidamente vedada. O acúmulo de metáfases foi obtido através do acréscimo de colchicina ao material, numa concentração final de 1 µg/ml de meio, por um período de uma hora a 37°C. A suspensão celular foi centrifugada a 800rpm durante 10 minutos e o sobrenadante descartado. Um volume de 5ml de uma solução hipotônica a 37°C, constituída por quatro partes de água e uma de meio nutritivo, foi acrescentado aos tubos e o sedimento homogeneizado e incubado em estufa a 37°C durante 20 minutos. A seguir, a suspensão celular foi centrifugada a 800rpm por 10 minutos, o sobrenadante descartado e o sedimento resultante fixado em uma solução de metanol - ácido acético (3:1) durante 1 hora. A troca de fixador foi feita em três tratamentos sucessivos de homogeneização do material, centrifugação e retirada do sobrenadante. O sedimento resultante foi suspenso em 2ml de fixador recém-preparado, homogeneizado e distribuído em lâminas rigorosamente limpas, geladas e revestida por uma fina camada de vapor de água condensado.

Este procedimento resultou em seis a oito lâminas por amostra, sendo que cada lâmina recebeu três gotas da suspensão celular. As suspensões foram secas ao ar e coradas em solução de corante GIEMSA a 5% em tampão fosfato, com pH 6,8, durante cinco a dez minutos.

Para a avaliação cromossômica estudou-se 15 a 30 células em metáfase, com cromossomos perfeitamente individualizados.

Em todas as análises citogenéticas sempre houve análise dos cromossomos pela técnica de bandamento "B" e ou "Q".

2 - CULTURA DE AMNIÓCITOS

O líquido amniótico foi transportado na própria seringa BD ® e distribuído em tubos de centrífuga (5ml por tubo). Pelo menos 5ml de líquido foi mantido estocado para eventual relançamento (raro acontecimento). Após a centrifugação por 20 minutos a 1.000rpm, o sobrenadante foi descartado e anotou-se as características do sedimento de cada tubo. Adicionou-se a cada um dos tubos 3ml de meio de cultura (MEM alfa da Cultilab ®), misturou-se com o sedimento e distribuiu-se em 2 tubos de *Leighton*. Após sete dias verificou-se sob microscópio invertido o crescimento de colônias. Se algum tubo mostrasse campos grandes (com mais de 1000 células) adicionava-se colchicina na concentração de 1ug/ml, por 1 hora. Se os tubos mostrassem colônias pequenas, trocava-se por novo meio de cultura até o crescimento atingir o tamanho desejado.

Nos tubos em que foi acrescentado colchicina por uma hora, verteu-se o sobrenadante para um tubo de centrífuga e colocou-se 2ml de meio sem soro para lavagem do tubo. A seguir colocou-se uma solução de *Hanks* com tripsina e EDTA da Cultilab ® e sob discreta agitação observou-se o desprendimento das células aderidas ao vidro. Lavou-se o tubo com novo meio sem soro e

verteu-se todo o líquido para o mesmo tubo de centrifugação. Retirou-se o sobrenadante deixando 0,5ml de meio sob o sedimento celular.

Acrescentou-se 1 ml de solução hipotônica (KCL 0,075 M) a cada 3 minutos por quatro vezes, homogeneizando-se delicadamente o tubo ao final de cada acréscimo. Ao final do terceiro minuto, após o quarto acréscimo de solução hipotônica, acrescentou-se cerca de 0,5ml de solução fixadora (metanol : ácido acético: 3:1). Centrifugou-se a 1.000rpm por 10 minutos, retirou-se o sobrenadante e acrescentou-se 5ml de fixador e homogenizou-se os tubos.

Essa operação foi repetida por 3 vezes. Após a terceira troca de fixador, acrescentou-se 0,5ml de novo fixador e pingou-se em duas ou três lâminas como já descrito para o sangue. A sequência de coloração e análise foi a mesma descrita para o sangue fetal.

3 - VILOSIDADES CORIÔNICAS

A- Preparação direta

Após a coleta das vilosidades coriônicas, elas foram colocadas em uma placa de Petri separadas da presença de sangue ou decídua e cerca de 50% das mesmas foram aspiradas em uma seringa de 20 ml para posterior cultura. Os outros 50% foram submetidos à ação de colchicina (1mg/ml) por cerca de uma hora (preparação direta). Decorrida uma hora, as vilosidades coriônicas

da preparação direta foram separadas do meio de coleta com colchicina aspirando-se esse meio com o auxílio de uma seringa. A seguir, adicionou-se

cerca de 4ml de uma solução de citrato de sódio a 1%, provocando-se a ação hipotônica das células por cerca de 15 minutos. A seguir, pingou-se algumas gotas de fixador (metanol: ácido acético 3:1) e aspirou-se todo o sobrenadante. Colocou-se 4 ml de um novo fixador e deixou-se agir por 5 minutos. Retirou-se esse sobrenadante repetindo a operação por mais duas vezes. A partir dessas vilosidades fixadas é que se preparou as lâminas. Para isso, cada ramo das vilosidades coriônicas foi colocado em uma placa de *Petri* seca para esperar-se a vaporização do fixador. A seguir acrescentou-se 6 a 8 gotas de uma solução de ácido acético a 60% que fez com que as células das vilosidades se desprendessem para o meio líquido. Após 4 a 5 minutos, a parte líquida foi transferida para uma lâmina limpa colocada sobre uma platina aquecida e, com o auxílio da borda menor de outra lâmina, foi espalhada até que a solução secasse sobre a lâmina aquecida. Após isso, esta lâmina sofreu os processos de bandamento e coloração para análise.

B - Cultura

Os 50% de vilosidades coriônicas para cultura foram transferidos com o auxílio de uma pinça para uma outra placa de Petri, onde foi adicionado cerca de 3ml de meio completo (alfa MEM da Cultilab ®). Após 48 a 72 horas em estufa de CO2 a 37ºC, adicionou-se colchicina e a técnica foi seguida como aquela descrita para a preparação direta.