

AVALIAÇÃO ESPECTROFOTOMÉTRICA DA CONCENTRAÇÃO DE BILIRRUBINA NO LÍQUIDO AMNIÓTICO (LA) EM MULHERES Rh-NEGATIVO ISOIMUNIZADAS.

SPECTROPHOTOMETRIC EVALUATION OF THE BILIRUBIN CONCENTRATION IN THE AMNIOTIC LIQUID (AL) AT NEGATIVE - Rh ISOIMUNIZED WOMEN

Lourivaldo R. SOUSA¹, Bruna CAMPOS² e Daniel OLIVEIRA²

RESUMO - No período de setembro de 1999 a julho de 2001, efetuou-se atendimento no Ambulatório Araújo Lima da Faculdade de Ciências da Saúde da Universidade Federal do Amazonas, a 35 gestantes isoimunizadas pelo fator Rh, com Coombs indireto positivo, acima de 1/8 e/ou que apresentavam passado obstétrico negativo. Todas as pacientes preencheram um questionário e assinaram consentimento informado para a realização do estudo. Ao final, foram realizadas 43 amniocenteses em 24 pacientes. Em seis pacientes não foi possível punção para amniocentese, devido à falta de Líquido amniótico. Outras quatro pacientes desistiram antes da data do procedimento e uma paciente desistiu após a primeira amniocentese. Das 24 pacientes que realizaram amniocentese, o resultado após espectrofotometria da 1ª punção, 19 pacientes na Zona I (do Gráfico de Liley), das quais uma desistiu do estudo, como citado anteriormente, em 3 pacientes foi repetida na 31.ª semana de gestação e em seis pacientes na 31.ª e 34.ª semanas de gestação, não sendo necessário repetir em 10 pacientes; cinco na Zona II, das quais duas repetiram na 30.ª semana de gestação e uma na 30.ª e 32.ª semana de gestação. Quatro pacientes tiveram partos normais, na idade gestacional entre 35 e 40 semanas; 25 pacientes submeteram-se a partos cesarianos, sendo que 12 desses foram programados, na idade gestacional que variou entre 32 e 40 semanas. O peso dos recém-nascidos variou de 2.090g a 4.610g e o comprimento, de 40cm a 53cm. Dos recém-nascidos, 79,31% apresentaram o fator Rh positivo, em 86,96%, o Coombs direto estava positivo. Dos 29 recém-nascidos, seis foram a óbito, sendo quatro devido a seqüelas da DHPN. As respectivas mães apresentavam Coombs Indireto acima de 1/64 e espectrofotometria do líquido amniótico na Zona II de Liley, cuja idade gestacional no parto variou de 32 a 40 semanas. A decisão obstétrica de interromper a gestação mediante a curva de espectrofotometria do líquido amniótico demonstrou ser positivo para a redução da morbi-mortalidade neonatal.

Descritores: Gestantes isoimunizadas; amniocentese; bilirrubina.

¹ Professor Adjunto do DSMI, FCS/UFAM; Mestre e Doutor em Tocoginecologia pela UNICAMP.

² Acadêmicos de Medicina/FCS, UFAM, Bolsita CNPQ/PIBIC

INTRODUÇÃO

A isoimunização materna pode ocorrer em qualquer situação em que o feto porte antígeno ausente na genitora (mãe).

A isoimunização Rh cabe a responsabilidade da doença hemolítica perinatal (DHPN), não só de alto risco imediato, mas também de funestas conseqüências neurológicas remotas.

A doença hemolítica perinatal é uma afecção generalizada, acompanhada de anemia, destruição das hemácias e presença de suas formas jovens ou imaturas na circulação periférica (eritroblastos), com atividade persistente e anômala de focos extramedulares de hematopoese.

Conhecida de alguns séculos, pelas manifestações clínicas icterica e hidrópica, a DHPN assumiu, nas últimas décadas, maior importância depois da identificação do Fator Rh por Landsteiner e Wiener em 1940, o que trouxe subsídio fundamental ao esclarecimento de sua etiopatogenia.

Incompatibilidade Sangüínea

Atualmente existem outros antígenos, além daqueles do sistema Rh (C,D,E) conhecidos que podem levar a uma eritroblastose fetal leve ou acentuada, os quais são pertencentes a oito outros grupos: Lewis (K), Kell (k), Duffy (Fya), Kidd (Hja), MN (M, N, S, s, U), Luterano (Lua), Diego (Dia, Dib), Xg (Xga). Também pode ocorrer DHPN por antígenos públicos ou particulares, tendo ambos vários tipos, além do Sistema ABO, sendo nessa ocasião o grau de hemólise leve¹.

Etiopatogenia

Sabemos hoje, sem sombra de dúvida, que é a DHPN decorrente de incompatibilidade sangüínea materno-fetal. Enfermidade das múltiparas, é

comum encontrar, nos comemorativos delas, a história de um ou dois produtos sadios. Possui o conceito, nesse caso, antígeno eritrocitário, de herança paterna, ausente no organismo da gestante e capaz de imunizá-la, produzindo anticorpos específicos ao referido antígeno².

Dos numerosos antígenos de Rh, o antígeno D é o principal causador de incompatibilidade Rh. Avalia-se que 15% dos brancos e 7% dos negros não possuem o antígeno D, portanto, são ditos Rh-negativos. Entre os brancos, há um risco de, aproximadamente, 12% (85% de 15%) de um casamento entre um homem Rh-positivo e uma mulher Rh-negativa.

Um outro fator crítico que determina a magnitude da resposta de anticorpos é a dose do antígeno imunizante. Na maioria das gestações, as hemorragias transplacentárias de tal magnitude ocorrem apenas durante o parto ou abortos. A sensibilização prévia altera, significativamente, o risco de desenvolvimento da eritroblastose fetal. A primeira exposição a antígenos Rh inicialmente estimula um aumento de anticorpos de IgM, que não atravessam a placenta. Subseqüentemente, há uma elevação de anticorpos de IgG, pequena o suficiente para atravessar a placenta. Em vista da imunização primária acometer em geral durante o parto, a doença hemolítica raramente ocorre durante a primeira gestação, a menos que abortos prévios ou natimortos de um feto Rh-positivo possam induzir uma sensibilização prévia. O maior risco é encontrado na segunda gestação e em gestações subsequentes de crianças Rh-positivas, pois em mulheres pré-sensibilizadas, mesmo um pequeno sangramento transplacentário pode disparar uma resposta secundária de IgG.

Existem duas conseqüências da destruição excessiva de hemácias no neonato (Figura 1), uma é a anemia, e a outra, o acúmulo de bilirrubina icterícia.

Entretanto, a gravidade dessas alterações varia consideravelmente, dependendo do grau de hemólise e da maturidade dos sistemas orgânicos da criança.



Figura 1. Formas clínicas da DHPN.

Se a reação hemolítica for acentuada, a anemia associada à icterícia e a presença de bilirrubina não-conjugada irão ocorrer. Como a bilirrubina não-conjugada é insolúvel na água e tem afinidade por lipídios, ela se liga aos lipídios no cérebro, devido ao pouco desenvolvimento da barreira hemato-encefálica da criança, resultando em grave dano ao sistema nervoso central, chamado de icterícia nuclear (*kernicterus*). Além disso, a anemia pode estar associada à lesão hipóxica de coração e fígado, resultando em insuficiência circulatória e hepática, além de edema. Caso seja grave, os níveis de proteínas plasmáticas podem cair até 2,0 ou 2,5g/dl, devido à síntese hepática reduzida. A diminuição da pressão oncótica dentro da circulação, combinada ao aumento secundário na pressão venosa capilar, em virtude da insuficiência cardíaca, resulta em edema generalizado e ascite (anasarca). Esta última condição é chamada de hidropsia fetal⁴.

Diagnóstico

Complexo e laborioso por vezes, outras impondo-se aos olhos, deve o

diagnóstico ser instituído o mais precocemente possível, com antecipação jamais inoportuna.

Durante a prenhez ou na vigência do trabalho parturiente, é da maior relevância investigá-lo e esclarecê-lo. Por ocasionar a DHPN letalidade alta do conceito, a positividade de hipótese surgida após a análise dos comemorativos e sancionada nos exames subsidiários, importa em orientação decisiva a assistência ao parto, no planejamento e execução de terapêutica pós-natal, mais efetiva se mais cedo for tentada².

O diagnóstico pré-parto pode ser feito pela anamnese (obstétrica e hemoterápica), podendo-se ainda obter provas laboratoriais da incompatibilidade sanguínea e posteriormente, com o teste de Coombs indireto⁵.

Atualmente, por meio da amniocentese e estudo espectrofotométrico do líquido amniótico, podemos ter uma avaliação mais correta das condições fetais e maior precisão na época de antecipação do parto, pois tal método proporciona a medida do processo hemolítico que está ocorrendo no feto através da bilirrubina liberada no líquido amniótico.

Quando a situação materna já é conhecida, o obstetra deverá colher o sangue do cordão umbilical (cordocentese) para submetê-lo a exame para determinação do grupo sanguíneo, fator Rh e teste de Coombs direto. Esses exames são de grande importância, pois por meio deles se demonstra presença de anticorpos no sangue do neonato e segundo sua intensidade, pode-se prognosticar a gravidade da doença pelo Gráfico de Liley⁶ (Figura 2).

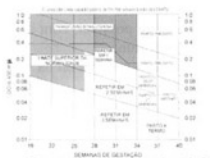


Figura 2. Gráfico de Liley.

A ultra-sonografia também tem a sua importância, pois pode rastrear as formas hidrópicas, comprovando o edema do couro cabeludo e o da placenta².

Já o diagnóstico pós-parto pode ser efetuado com a clínica do neonato vivo, cuja principal característica é a icterícia, precocemente instalada, ou, se natimorto, pela hidropsia fetal. Além disso, é utilizado o teste de Coombs direto⁷.

Teste de Coombs

É um teste para pesquisar a presença de auto-anticorpos contra componentes antigênicos ou gamaglobulina presa às hemácias. Pode ser direto ou indireto.

O teste de Coombs direto serve para revelar hemácias sensibilizadas presentes no sangue de pacientes com anemias hemolíticas; recém-nascidos. Já o teste de Coombs indireto serve para revelar a presença de anticorpos solúveis, por exemplo, em mulheres Rh-negativo grávidas de maridos Rh-positivo.

Toma-se o soro da mulher, mistura-se com hemácias Rh-positivas e adiciona-se o soro anti-Ig. Centrifuga-se a mistura e observa-se forte aglutinação. Essa reação pode ser feita quantitativamente diluindo-se o soro da mãe; isso permite o cálculo de sensibilização¹¹.

Propedêutica

Apesar da enorme evolução do problema da gestante Rh-negativa nas últimas décadas, o plano propedêutico e terapêutico atual baseia-se nos seguintes tópicos:

- 1) investigação da presença de Ac maternos pelo teste de Coombs indireto;
- 2) antecipação do parto, baseado na espectrofotometria do líquido amniótico;
- 3) transfusão intra-uterina para os casos graves, quando os riscos da doença e a prematuridade se somam;
- 4) tratamento neonatal ativo, cabendo exsangüíneo-transfusão, papel de relevo;
- 5) utilização da imunoglobulina anti-D como peça profilática indispensável.

É importante citar que só deve receber a gamaglobulina anti-D a mulher que não possuir anticorpos circulantes. Aquelas que tiverem títulos de Coombs indireto positivo, mesmo que em titulações baixas e inexpressivas, não são candidatas à terapia¹².

Apesar de todo avanço da medicina no último século, principalmente nas últimas décadas, e em que pese aos países desenvolvidos essa doença não ser problema, as mulheres do Amazonas, que não dispõem de recursos socioeconômicos e que apresentam sangue Rh negativo, ficam à mercê dos programas de saúde do Governo e acabam não recebendo a "vacina" contra a doença hemolítica perinatal. Quando, durante a gravidez ou no parto, ocorrer a passagem do sangue fetal cujo Fator Rh é positivo para o sangue materno, desenvolver-se-ão na mãe, anticorpos que irão determinar numa futura gravidez a doença no feto. Não havendo o atendimento pré-natal adequado, ocorrerá um aumento da morbidade e mortalidade perinatal, em conseqüência da doença. Em Manaus, não existe um protocolo específico para ajudar essas mães, que ficam abandonadas à própria

sorte, muitas vezes tendo repetidas perdas fetais. Este estudo visa a assistir essas mulheres durante o pré-natal, por serem de um protocolo específico, no sentido de contribuir com a redução da morbi-mortalidade neonatal dessa população alvo.

O objetivo geral deste estudo foi o de assistir todas as gestantes Rh-negativo isoimunizadas da cidade de Manaus, encaminhadas ao ambulatório para o atendimento específico; captar as gestantes Rh-negativo isoimunizadas na idade gestacional mais precoce possível; assistir o pré-natal dessas gestantes oferecendo propedêutica disponível que o caso requer; determinar a curva de bilirrubina no líquido amniótico e decidir qual o momento ideal para o parto, visando a reduzir o óbito fetal e as complicações neurológicas dos recém-nascidos comprometidos com a afecção e propor um modelo de protocolo para essas pacientes, a fim de reduzir a morbi-mortalidade dos recém-nascidos.

CASUÍSTICA

Participaram do estudo todas as pacientes encaminhadas ao Ambulatório Araújo Lima da Faculdade de Ciências da Saúde, no período de setembro de 1999 a julho de 2001, que se apresentavam imunizadas pelo Fator Rh, teste Coombs indireto positivo, com titulação acima de 1/8 e/ou que apresentavam passado obstétrico negativo (com seqüelas neonatais ou óbitos perinatais).

METODOLOGIA

Agendamento de pacientes Rh-negativo com titulação de Coombs indireto maior ou igual que 1/8 e/ou passado obstétrico negativo;

Amniocentese na 28ª semana de gestação, com a retirada de 10 ml de líquido amniótico, após preenchido

questionário e assinado termo de consentimento informado;

Espectrofotometria do líquido amniótico em diferentes comprimentos de onda, as quais variam de 300 - 700 m μ ;

Os valores obtidos foram plotados em um programa científico estatístico Origin versão 3.5, o qual determinou a curva de deflexão da bilirrubina no líquido amniótico e obteve-se a diferença de densidade óptica a 450m μ (Figura 3).

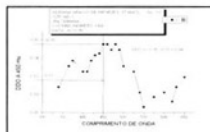


Figura 3. Curva de Liley para detectar severidade da DHPN.

Essa diferença encontrada foi levada para o gráfico de Liley, onde foi interpretada a diferença e indicada a conduta adequada para cada situação.

Como citado anteriormente, a situação do gráfico de Liley que indicou a condição fetal, determinou o número de amniocenteses realizadas e outros exames para definição com certeza da decisão obstétrica.

Após o nascimento, foram analisados os seguintes exames do sangue do cordão umbilical do RN: tipo sanguíneo, fator Rh, Coombs direto, dosagem de bilirrubina sérica, hemoglobina, hematócrito. Também avaliou-se outros dados como: sexo, peso, altura, idade pelo índice de capurro e a presença ou não de alguma complicação.

RESULTADOS

Das 35 pacientes Rh-negativo e teste de Coombs indireto positivo, com titulação acima de 1/8 e/ou com passado obstétrico negativo, cinco afastaram-se do estudo antes de qualquer procedimento e uma afastou-se do estudo após a realização da 1ª amniocentese. Das 29 pacientes estudadas, cinco (17,24%) encontravam-se na faixa etária de 15 a 20 anos; oito (27,59%), na faixa etária de 21 a 25 anos; oito (27,59%) na faixa etária de 26 a 30 anos; cinco (17,24%), na faixa etária de 31 a 35 anos e três (10,34%) na faixa etária de 36 a 40 anos.

Os aspectos laboratoriais das pacientes revelaram que, das 29 pacientes, todas Rh-negativo isoimunizadas, dezoito pertenciam ao grupo O; nove pertenciam ao grupo A e duas pertenciam ao grupo B.

Quanto à titulação do Coombs indireto, com resultado positivo para todas as pacientes, foi de 1/2 com passado obstétrico negativo para 3 pacientes; 1/8 para 1 paciente; 1/16 para 6 pacientes; 1/32 para 5 pacientes; 1/64 para 6 pacientes; 1/128 para 3 pacientes; 1/256 para 3 pacientes; 1/512 para 1 paciente e 1/1024 para uma paciente.

Quando indagadas se fizeram ou não uso da "vacina" profilática da DHPN, após o 1º parto, quatro disseram que sim e vinte cinco, que não.

Das 35 pacientes isoimunizadas, realizamos no total 43 amniocenteses em apenas 24 delas, pois tivemos seis em que não foi possível a punção por redução de líquido amniótico. Das submetidas a amniocenteses, sete pacientes submeteram-se a três amniocenteses, cinco foram submetidas a duas amniocenteses e doze submetidas a uma amniocentese. O resultado, após espectrofotometria do líquido amniótico da 1ª punção, foi de: dezanove pacientes na Zona I do Gráfico de Liley, das quais

uma desistiu do estudo, como citado anteriormente e das que deram continuidade, em três pacientes foi necessário repetir somente na 31.ª semana de gestação e em seis na 31ª e 34.ª semanas de gestação, não sendo necessário repetir em 10 pacientes; cinco na Zona II, das quais somente duas repetiram na 30.ª semana de gestação e

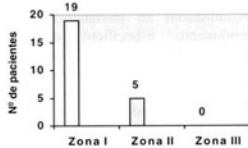


Figura 4. Resultado da 1.ª espectrofotometria.

uma na 30.ª e 32.ª semana de gestação. Nenhuma se apresentou na Zona III (Figura 4).

Das vinte e nove pacientes, todas pariram até o final do estudo, sendo quatro por partos normais e 25 cesarianas, 12 das quais programadas.

Quanto à idade dos recém-nascidos pelo Índice de Capurro, um nasceu com 32 semanas; cinco com 35 semanas; três com 36 semanas; dois com 37 semanas; seis com 38 semanas; cinco com 39 semanas e sete com 40 semanas. Quanto ao sexo, dezoito (62,07%) eram do sexo masculino e onze (37,93%), do sexo feminino. Considerando o peso ao nascimento, um pesou abaixo de 2500g, oito pesaram entre 2500g a 3000g, dez entre 3001g e 3500g, nove entre 3501g e 4000g e um acima de 4000g. No comprimento dos mesmos, tivemos três (10,34%) que mediram abaixo de 45cm, 24 (82,76%) entre 45 e 50cm e dois (6,9%) acima de 50cm. Quanto ao grupo sanguíneo, vinte foram do Grupo O, sendo que quatro Rh-negativo e 16 Rh-positivo; seis foram do Grupo A, sendo quatro Rh-positivo e dois Rh-negativo e três foram do Grupo B, todos Rh-

positivo. Todos fizeram teste Coombs direto, apresentando nove recém-nascidos com resultado negativo e vinte com resultado positivo.

Dos 29 recém-nascidos, doze apresentaram icterícia em até 48h após o parto e o restante não apresentou (Figura 5).

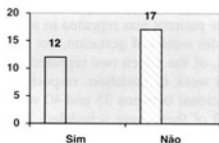


Figura 5. Icterícia até 48 horas após o parto.

Dos recém-nascidos, seis foram a óbitos, sendo que quatro devido à seqüelas da DHPN (Figura 6).

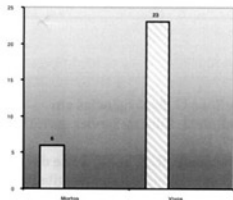


Figura 6. Conceito da última gravidez.

CONCLUSÕES

1. No período de setembro de 1999 a julho de 2001, atendeu-se 35 gestantes Rh-negativo isoimunizadas, dentro de um protocolo preestabelecido.

2. As gestantes atenderam às normas do protocolo determinado para fazer parte da pesquisa, ou seja, gestação menor que 28 semanas.

3. A todas as gestantes foram oferecidas informações sobre a doença e assinado um consentimento pós-informado dos procedimentos, visando a salvaguardar os melhores resultados perinatais.

4. O estudo da espectrofotometria do líquido amniótico em pacientes com titulação do Coombs indireto positivo acima de 1:8 demonstrou ser um preditor positivo para o segmento de mulheres isoimunizadas, permitindo que o conhecimento da Zona de Liley favoreça a tomada de decisão obstétrica correta. Tal procedimento teve uma sensibilidade de 83,33% e uma especificidade de 88,89%. Seu valor preditivo positivo (VPP) foi de 71,43% e seu valor preditivo negativo (VPN), de 94,11%.

5. Embora conseguíssemos reduzir, drasticamente, os resultados ominosos da doença, ainda obtivemos doze neonatos com icterícia leve, que evoluíram para a normalidade e seis óbitos, dos quais dois por outras causas de deficiência no atendimento neonatal.

6. Ainda que a decisão obstétrica tenha programado o parto segundo a curva espectrofotométrica, o follow-up da neonatologia é imprescindível para que medidas complementares, como a exsanguíneo-transfusão, colaborem para a redução da morbi-mortalidade perinatal.

O presente estudo possibilita-nos oferecer à classe médica local que atua no setor público um protocolo de atendimento às mães isoimunizadas, que vislumbram ter seus filhos saudáveis.

ABSTRACT – From September of 1999 to July of 2001 assisted in Ambulatory Araújo Lima of the Faculty of Sciences of the Health of the Federal University of Amazonas, 35 isoimmunized pregnant for the Rh factor with positive indirect Coombs above 1/8 and/or that presented negative obstetric past. All the patients filled a questionnaire and y signed consent informed for the accomplishment of the study. At the end 43 amniocenteses were accomplished, in 24 patient. In 6 patients was not possible puncture for amniocentesis due to the lack of amniotic liquid. Other four patients gave up before the date of the procedure and a patient one gave up after first amniocentesis. Of the twenty-four patients that accomplished amniocenteses the result after spectrophotometry of the 1st puncture it was of: 19 patient in the Zone I (Liley's graph), of the which one gave up of the study, as mentioned previously, in three patients was repeated in to 31st week of gestation and in six patients in to 31st and 34th weeks of gestation, not being necessary to repeat in 10 patients: five in the Zone II, of the which two repeated in to 30th week of gestation and one in to 30th and 32nd week of gestation, respectively. Four patients had normal childbirths, in the age gestacional between 35 and 40 weeks; 25 patients submitted to childbirths cesareans, and 12 of these were scheduled, in the gestational age that varied between 32 and 40 weeks. The weight of the newly born varied from 2.090g to 4.610g and the length varied from 40cm to 53cm. Of the newly born 79,31%, presented the positive Rh factor, of the which 86,96% direct Coombs were positive. Of the 29 newly born, six died, being four due to sequels of DHPN. The mothers presented indirect Coombs above 1/64 and spectrophotometry of the amniotic liquid in the Zone II Liley's graph whose gestational age in the childbirth varied of 32 to 40 weeks. The obstetric decision of interrupting the gestation by means of the curve of spectrophotometry of the amniotic liquid demonstrated to be positive for the reduction of the morbi-mortality neonatal.

DESCRIPTORS: Isoimmunized pregnant; amniocetesis; bilirubin.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Grelle FC, Amaral LBD. **Texto básico para estudantes de medicina**. Ed.Livraria Atheneu, p. 630-634. 1993.
2. Rezende J. **Obstetrícia fundamental**. Editora Guanabara Koogan, p. 674-679, 1992.
3. Souza LR. **Protocolo para seguimento de gestantes com isoimunização pelo Fator Rh**. 1992, 1-7,1992.
4. Cunha SP. Isoimunização feto-materna 2 – Aspectos laboratoriais, valor do teste de Coombs indireto no soro materno. **Rev. Bras. Ginecol.. Obst.**, 48-50, 1982.
5. Mellone O. **Emergências em pediatria**. Editora Sarvier, p. 120-127, 1976.
6. Procionoy, R. S. et al.: Teste de Coombs direto e teste quantitativo do eluato no diagnóstico de DHPN. **J. Ped.**, 98-100,1977.
7. Souza LR. **Conduta frente ao Coombs indireto positivo** (Inédito). 2p, 1991.
8. Souza LR. **Protocolo de detecção de gestantes Rh-negativo e administração de gamaglobulina no pré e pós-parto na cidade de Manaus** (Inédito), 23p, 1991.

9. Marcondes E. **Pediatria básica**, 8ª edição. Editora Sarvier, p. 419-30, 1992.
10. Antunes LJ, Matos KTF. **Imunologia médica**. Livraria Atheneu, p.79, 1993.
11. Monteleone PPR. **Fundamentos e prática das imunizações em clínica médica e pediátrica**, 3ª edição. Livraria Atheneu, p.463-6, 1989.
12. Zecker I. Correlação entre a idade gestacional obtida pela regra de Nägele e a obtida pelo método de Capurro. **Pediatria Moderna**, 18 (1): 21-8, 1983.

Correspondência para:

Dr. Lourivaldo R. de Souza
Rua Monsenhor Coutinho, 656 – Centro
CEP 69010-110 Manaus-AM.