
PONTIFÍCIA UNIVERSIDADE CATÓLICA DO RIO GRANDE DO SUL
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
FACULDADE DE MEDICINA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA/PEDIATRIA
DOUTORADO EM MEDICINA/PEDIATRIA

**Alterações do timo fetal
secundárias ao uso de corticoide
para maturação pulmonar.**

Gustavo Steibel
gusteibel@gmail.com

Dissertação de doutorado apresentado à
faculdade da PUCRS para obtenção do
título de Doutor em Medicina/Pediatria.

Orientador: Dr. Humberto Holmer Fiori

Porto Alegre, 2011

DADOS INTERNACIONAIS DE CATALOGAÇÃO NA PUBLICAÇÃO (CIP)

S818a Steibel, Gustavo

Alterações do timo fetal secundárias ao uso de corticóide para maturação pulmonar / Gustavo Steibel. Porto Alegre: PUCRS, 2011.

60 f.: gráf. il. tab. Inclui 2 artigos de periódico a serem submetidos à publicação.

Orientador: Prof. Dr. Humberto Holmer Fiori.

Tese (Doutorado) – Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul. Faculdade de Medicina. Programa de Pós-Graduação em Medicina/Pediatria e Saúde da Criança.

1. TIMO/efeitos de drogas . 2. AVALIAÇÃO. 3. FETO. 4. CORTICÓIDES. 5. LESÃO PULMONAR/induzido quimicamente. 6. PULMÃO/crescimento & desenvolvimento. 7. LÍQUIDO AMNIÓTICO/ultrassonografia. 8. ESTUDOS DE COORTE. I. Fiori, Humberto Holmer. II. Título.

C.D.D. 618.32
C.D.U. 616.438:612.647(043.2)
N.L.M. WK 400

Rosária Maria Lúcia Prenna Geremia
Bibliotecária CRB 10/196

Dedicatória

À Nicole, minha alma gêmea.

*Às minhas filhas **Martina** e **Rafaela**, razão da minha vida.*

*Aos meus **Pais**, que me servem de exemplo.*

AGRADECIMENTOS

Ao **Dr. Humberto H. Fiori**, pela oportunidade de desenvolver uma dissertação de Doutorado e pelos seus conselhos no âmbito profissional.

Ao **Dr. Renato Machado Fiori**, chefe do serviço de Neonatologia, meu pediatra quando criança e quem sempre me recebeu com muita atenção.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal (**CAPES**), pela oportunidade de realizar o doutorado como bolsista.

À secretária **Carla**, sempre muito prestativa nestes anos de doutorado.

Ao **Dr. Lucas Teixeira**, o qual, no estacionamento do hospital, pela primeira vez, me falou sobre as novas descobertas feitas sobre o timo fetal.

Às **mães** que participaram da pesquisa e contribuíram com o material de meu estudo.

SUMÁRIO

CAPÍTULO I

1 INTRODUÇÃO	9
1.1 JUSTIFICATIVA.....	12
1.2 OBJETIVO	13
1.3 REFERÊNCIAS.....	14

CAPÍTULO II

ARTIGO DE REVISÃO	16
-------------------------	----

CAPÍTULO III

ARTIGO ORIGINAL	38
-----------------------	----

CAPÍTULO IV

CONCLUSÕES	57
------------------	----

ANEXOS

ANEXO - TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO	59
--	----

LISTA DE TABELAS

CAPÍTULO II

Tabela II-1 - Perímetro do Timo fetal.....	21
Tabela II-2 - Diâmetro do Timo fetal	22
Tabela II-3 - Volume do Timo fetal	23

CAPÍTULO III

Tabela III-1 - Descrição da população em amostra.....	46
Tabela III-2 - Variação do tamanho do timo	47

LISTA DE FIGURAS

CAPÍTULO II

Figura II-1- Visualização do timo fetal na ultrassonografia..... 20

CAPÍTULO III

Figura III-1- variação do diâmetro em milímetros..... 48

Figura III-2- variação do perímetro em milímetros 48

LISTA DE ABREVIATURAS

CA	Corticóide antenatal
HHA	Hipotálomo-hipófise- adrenal
IG	Idade gestacional
PE	pré-eclâmpsia
PUCRS	Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul
RN	Recém-nascido
RNPT	Recém-nascido pré-termo
Ruprema	Ruptura prematura de membranas amnióticas
SRIF	Síndrome da resposta inflamatória fetal
TPP	Trabalho de parto pré-termo

CAPÍTULO I

1 INTRODUÇÃO

O timo é um órgão linfoide complexo, antes negligenciado, que desempenha, no recém-nascido (RN) e possivelmente no feto, uma função imunológica importante.¹ Sua organogênese inicia na terceira fenda branquial e, na 9ª semana de gestação, os linfócitos e as células hematopoiéticas migram dos vasos sanguíneos embrionários para o meio das células epiteliais. Após a 12ª semana de gestação, o timo desce para o mediastino anterior e torna-se um órgão lobulado e encapsulado.²

Um estudo realizado com recém-nascidos pré-termo (RNPT) correlacionou a redução do timo ao nascer com o diagnóstico de corioamnionite.³ Em outro estudo, na África, verificou-se que crianças com um timo diminuído no sexto mês de vida apresentavam taxas de mortalidades superiores à de crianças com timo normal.⁴ Vale lembrar que a principal causa de morte infantil no continente africano ainda é a infecciosa. Devido a esses e outros estudos, o timo despertou o interesse de pesquisadores e passou a ser investigado como um possível marcador de doença.

Com a melhora dos aparelhos de ultrassonografia, a avaliação do timo fetal se tornou possível. Na 14ª semana de gestação, o timo já pode ser

identificado pela ultrassonografia transvaginal.² Frente a esse avanço tecnológico, começaram a surgir publicações que correlacionaram a diminuição do timo fetal com patologias obstétricas como a corioamnionite , a síndrome de resposta inflamatória fetal (SRIF), a pré-eclâmpsia (PE), o crescimento intrauterino restrito (CIUR), a ruptura das membranas (Ruprema).^{5-9, 10}

Estudos em humanos sugerem que a adversidade intra-uterina estaria associada com alterações no eixo hipotálamo-hipófise- adrenal (HHA). Assim, acredita-se que o aumento dos níveis de cortisol circulante secundário ao desequilíbrio do eixo HHA induza à involução do timo e funcione como parte da resposta adaptativa fetal que visa à sua sobrevivência.¹¹

Sabe-se que o timo é um órgão linfoepitelial sensível aos glicocorticoides e que pode sofrer modificações estruturais significativas em um intervalo curto de até 72 horas.¹² Estudos em mamíferos demonstraram uma redução do peso do timo induzida pelo uso de corticoide, ainda que o real impacto dos glicocorticoides sobre o timo seja um assunto controverso.^{13,14} É importante ressaltar que o corticoide para maturação pulmonar fetal é amplamente utilizado naquelas gestantes entre 24-34 semanas que apresentam patologias como as descritas acima e reduz significativamente a morbidade e mortalidade perinatal.¹⁵ Sendo assim, o corticoide, nessas situações, se torna um possível fator de confusão quando avaliamos o tamanho do timo fetal.

A avaliação do bem estar fetal é um desafio antigo da prática obstétrica e a medida do timo pode ser um exame diagnóstico promissor na avaliação do

feto. Atualmente, não existem marcadores clínicos confiáveis que elejam adequadamente os fetos que estão em sofrimento intra-útero. O surgimento de um marcador ultrassonográfico confiável, capaz de diagnosticar uma infecção intrauterina em um estágio inicial, por exemplo, poderia levar a uma intervenção clínica precoce e diminuir a morbidade e a mortalidade perinatal.

No entanto, ainda são necessários estudos para comprovar a real utilidade da medida do timo fetal na propedêutica obstétrica, assim como para determinar se as alterações do timo fetal são causa ou efeito das patologias obstétricas.

Nesta tese de doutorado, nos capítulos seguintes, apresentamos dois artigos. No primeiro artigo de revisão, agrupamos as principais publicações realizadas sobre o timo fetal nos últimos 10 anos. Nele encontramos os artigos sobre diferentes formas de medir o timo, curvas de normalidades e a associação de patologias obstétricas que cursam com a redução do timo. No segundo artigo, apresentamos os resultados de nosso estudo, onde o timo fetal foi avaliado em 25 gestantes com patologias obstétricas que necessitaram de corticoterapia para maturação pulmonar.

1.1 JUSTIFICATIVA

Nos últimos anos, alguns trabalhos associaram a diminuição do timo fetal com patologias obstétricas que cursam com estresse fetal (CIUR, PE, TPP e RUPREMA). A maioria destas patologias utiliza o corticóide para maturação pulmonar fetal antes da 34^º semana de gestação.

Como o timo é um órgão sensível aos corticosteroides, julgamos importante avaliarmos as possíveis alterações ultrassonográficas deste órgão após a administração do corticóide.

1.2 OBJETIVO

Determinar as alterações na medida ultrassonográfica do timo fetal em gestantes que receberam CA para maturação pulmonar.

1.3 REFERÊNCIAS

1. Miller JF. The golden anniversary of the thymus. *Nat Rev Immunol*. 2011 May 27.
 2. Zalel Y, Gamzu R, Mashiach S, Achiron R. The development of the fetal thymus: an in utero sonographic evaluation. *Prenat Diagn*. 2002 Feb;22(2):114-7.
 3. De Felice C, Latini G, Del Vecchio A, Toti P, Bagnoli F, Petraglia F. Small thymus at birth: a predictive radiographic sign of bronchopulmonary dysplasia. *Pediatrics*. 2002 Aug;110(2 Pt 1):386-8.
 4. Garly ML, Trautner SL, Marx C, Danebod K, Nielsen J, Ravn H, et al. Thymus size at 6 months of age and subsequent child mortality. *J Pediatr*. 2008 Nov;153(5):683-8, 8 e1-3.
 5. Mohamed N, Eviston DP, Quinton AE, Benzie RJ, Kirby AC, Peek MJ, et al. Smaller fetal thymuses in pre-eclampsia: a prospective cross-sectional study. *Ultrasound Obstet Gynecol*. 2011 Apr;37(4):410-5.
 6. Cromi A, Ghezzi F, Raffaelli R, Bergamini V, Siesto G, Bolis P. Ultrasonographic measurement of thymus size in IUGR fetuses: a marker of the fetal immunoendocrine response to malnutrition. *Ultrasound Obstet Gynecol*. 2009 Apr;33(4):421-6.
 7. Di Naro E, Cromi A, Ghezzi F, Raio L, Uccella S, D'Addario V, et al. Fetal thymic involution: a sonographic marker of the fetal inflammatory response syndrome. *Am J Obstet Gynecol*. 2006 Jan;194(1):153-9.
 8. El-Haieg DO, Zidan AA, El-Nemr MM. The relationship between sonographic fetal thymus size and the components of the systemic fetal inflammatory response syndrome in women with preterm prelabour rupture of membranes. *Bjog*. 2008 Jun;115(7):836-41.
 9. Yinon Y, Zalel Y, Weisz B, Mazaki-Tovi S, Sivan E, Schiff E, et al. Fetal thymus size as a predictor of chorioamnionitis in women with preterm premature rupture of membranes. *Ultrasound Obstet Gynecol*. 2007 Jun;29(6):639-43.
 10. Chaoui R, Kalache KD, Heling KS, Tennstedt C, Bommer C, Korner H. Absent or hypoplastic thymus on ultrasound: a marker for deletion 22q11.2 in fetal cardiac defects. *Ultrasound Obstet Gynecol*. 2002 Dec;20(6):546-52.
-

11. Economides DL, Nicolaides KH, Linton EA, Perry LA, Chard T. Plasma cortisol and adrenocorticotropin in appropriate and small for gestational age fetuses. *Fetal Ther.* 1988;3(3):158-64.
 12. Cannizzo FT, Miniscalco B, Riondato F, Bollo E, Barbarino G, Giorgi P, et al. Effects of anabolic and therapeutic doses of dexamethasone on thymus morphology and apoptosis in veal calves. *Vet Rec.* 2008 Oct 11;163(15):448-52.
 13. Jondal M, Pazirandeh A, Okret S. Different roles for glucocorticoids in thymocyte homeostasis? *Trends Immunol.* 2004 Nov;25(11):595-600.
 14. van Baarlen J, Schuurman HJ, Huber J. Acute thymus involution in infancy and childhood: a reliable marker for duration of acute illness. *Hum Pathol.* 1988 Oct;19(10):1155-60.
 15. Miracle X, Di Renzo GC, Stark A, Fanaroff A, Carbonell-Estrany X, Saling E. Guideline for the use of antenatal corticosteroids for fetal maturation. *J Perinat Med.* 2008;36(3):191-6.
-

CAPÍTULO II

ARTIGO DE REVISÃO

RESUMO

O timo era visto como um órgão vestigial sem função aparente, porém estudos em camundongos sugeriram que o timo estava intimamente relacionado à imunidade adquirida nos primeiros dias de vida, sendo este um órgão essencial nessa fase. Na última década, com o avanço dos aparelhos de ultrassonografia, a medida do timo fetal despertou o interesse de diferentes grupos de pesquisa. Estudos observacionais em fetos e recém-nascidos correlacionaram a hipoplasia do timo fetal com a Síndrome de Di George, síndrome da resposta inflamatória fetal (SRIF), infecção intra-amniótica, pré-eclâmpsia (PE) e crescimento intra-uterino restrito (CIUR). No entanto, as intervenções clínicas baseadas nas informações advindas da avaliação do timo fetal ainda necessitam de estudos multicêntricos, com um número maior de pacientes, para comprovar a sua real utilidade na propedêutica obstétrica.

Palavras-chaves: Timo fetal; Ultrassonografia; pré-eclâmpsia; Ruprema; CIUR

INTRODUÇÃO

Há 50 anos, o timo era visto como um órgão vestigial sem função aparente, porém estudos em camundongos timectomizados modificaram esse conceito. Primeiramente, constatou-se que ratos que eram timectomizados ao nascimento rejeitavam mais lentamente os enxertos de pele. Caso esses camundongos fossem transplantados com o timo de um segundo, eles não rejeitavam os enxertos de pele provenientes dos doadores. Essas e outras observações foram os primeiros indícios que levaram os pesquisadores a sugerir que o timo estava intimamente relacionado à imunidade adquirida nos primeiros dias de vida e possivelmente na vida intrauterina, sendo ele um órgão essencial na modulação da resposta imune nessa fase.¹

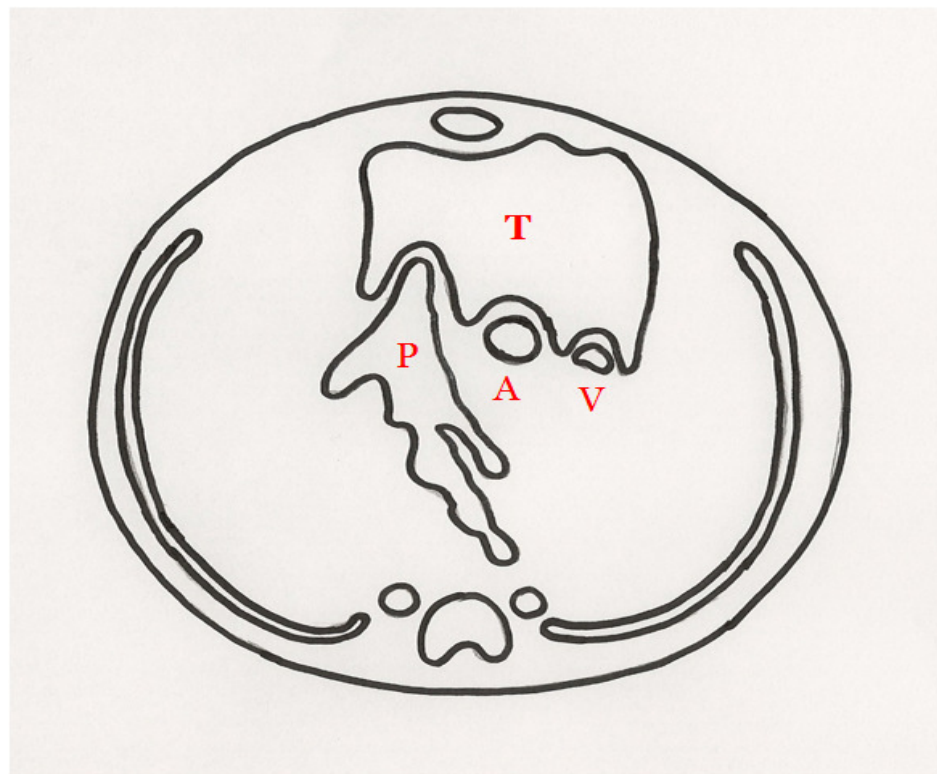
Estudos observacionais em fetos e recém-nascidos correlacionam a hipoplasia do timo com a Síndrome de Di George, síndrome da resposta inflamatória fetal, infecção intra-amniótica, pré-eclâmpsia (PE) e crescimento intra-uterino restrito (CIUR).^{2-6, 7} Essas associações despertaram o interesse dos pesquisadores, uma vez que o timo fetal poderia se tornar um marcador ultrassonográfico promissor no diagnóstico, manejo e prognóstico dessas situações clínicas.

Este artigo tem como objetivo apresentar um breve resumo das principais publicações sobre o timo fetal nos últimos 10 anos.

Formas de avaliação ultrassonográfica do timo fetal

O primeiro grupo a descrever uma curva de normalidade intra-útero do tamanho do timo foi Felker et. al. , em 1989, na universidade de Memphis, nos Estados Unidos.⁸ O diâmetro ântero-posterior do timo variou de 2 mm com 14 semanas a 20 mm com 38 semanas de gestação. No entanto, foi somente a partir da última década, com o avanço dos aparelhos de ultrassonografia, que a medida do timo despertou o interesse de diferentes grupos de pesquisa.

Além dessa, outras três curvas de normalidades foram descritas nos últimos anos. Uma publicada em 2002 avaliou o perímetro do timo entre a 14^ª e a 38^ª semana de gestação (tabela 1); outra, em 2006, avaliou o diâmetro latero-lateral entre a 17^ª e a 38^ª semana (tabela 2).^{9, 10} Ambas medem o timo em uma secção transversal do tórax fetal, entre o esterno e os grandes vasos do coração (corte dos três vasos - artéria pulmonar, aorta e veia cava superior, com a traquéia para a direita dos vasos) e entre ambos os pulmões (Figura 1). A terceira curva de normalidade, publicada em 2011, avalia o timo fetal através da ultrassonografia tridimensional (3D) e apresenta a variação do volume desse órgão em ml ao longo da gestação (tabela 3).¹¹



T- Timo fetal; P-artéria pulmonar; A- Aorta; V- Cava superior

Figura II-1- Visualização do timo fetal na ultrassonografia

Tabela II-1- Perímetro do Timo fetal

Gestational week	Thymus perimeter (mm)		
	Mean	Lower 5%	Upper 95%
14	22.42	17.97	26.87
15	26.83	22.27	31.41
16	31.25	26.57	35.94
17	35.67	30.86	40.47
18	40.08	35.16	45.00
19	44.50	39.45	49.54
20	48.91	43.75	54.07
21	53.33	48.05	58.60
22	57.74	52.34	63.14
23	62.16	56.64	67.67
24	66.57	60.93	72.20
25	70.99	65.23	76.74
26	75.40	69.53	81.27
27	79.82	73.82	85.80
28	84.23	78.12	90.33
29	88.65	82.41	94.87
30	93.06	86.71	99.40
31	97.48	91.01	103.93
32	101.89	95.30	108.47
33	106.31	99.60	113.00
34	110.72	103.89	117.53
35	115.14	108.19	122.07
36	119.55	112.49	126.60
37	123.96	116.78	131.13
38	128.38	121.08	135.66

Tabela II-2 - Diâmetro do Timo fetal

GA (weeks)	n	Predicted diameter of thymus (cm)	
		Mean	95% reference range
19	14	1.2	(0.6, 1.8)
20	22	1.4	(0.7, 2.0)
21	29	1.5	(0.9, 2.1)
22	31	1.6	(1.0, 2.3)
23	27	1.8	(1.2, 2.4)
24	16	1.9	(1.3, 2.6)
25	16	2.1	(1.5, 2.7)
26	16	2.2	(1.6, 2.9)
27	14	2.4	(1.8, 3.0)
28	18	2.5	(1.9, 3.2)
29	14	2.7	(2.0, 3.3)
30	14	2.8	(2.2, 3.5)
31	18	3.0	(2.3, 3.6)
32	17	3.1	(2.5, 3.7)
33	18	3.3	(2.6, 3.9)
34	18	3.4	(2.8, 4.0)
35	18	3.6	(2.9, 4.2)
36	19	3.7	(3.1, 4.3)
37	11	3.9	(3.2, 4.5)
38	2	4.0	(3.4, 4.6)

Tabela II-3 - Volume do Timo fetal

A idade gestacional (Semanas)	Timo fetal volume (mL)		
	Média (DP)	Centil 5	Percentil 95
17 +0-17 +6	0.9 (0.382)	0.27	1.53
18 +0-18 +6	1.15 (0.383)	0.52	1.78
19 +0-19 +6	1.53 (0.383)	0.90	2.16
20 +0-20 +6	1.61 (0.383)	0.98	2.24
21 +0-21 +6	1.95 (0.384)	1.32	2.58
22 +0-22 +6	2.36 (0.384)	1.73	2.99
23 +0-23 +6	2.90 (0.384)	2.27	3.53
24 +0-24 +6	3.67 (0.385)	3.04	4.30
25 +0-25 +6	4.09 (0.385)	3.46	4.72
26 +0-26 +6	4.59 (0.386)	3.96	5.22
27 +0-27 +6	5,37 (0,386)	4,73	6,01
28 +0-28 +6	5.47 (0.387)	4.83	6.11
29 +0-29 +6	6.21 (0.388)	5.57	6.85
30 +0-30 +6	6.47 (0.388)	5.83	7.11
31 +0-31 +6	6.52 (0.388)	5.88	7.16
32 +0-32 +6	6.76 (0.388)	6.12	7.40
33 +0-33 +6	6.97 (0.389)	6.33	7.61
34 +0-34 +6	7.81 (0.389)	7.17	8.45
35 +0-35 +6	8.72 (0.389)	8.08	9.36
36 +0-36 +6	9.13 (0.390)	8.49	9.77
37 +0-37 +6	9.67 (0.390)	9.03	10.31
38 +0-38 +6	10.31 (0.391)	9.67	10.95

Estabelecer técnicas de mensuração e valores de referências para o desenvolvimento do timo fetal é extremamente útil, à medida que auxilia na correlação com patologias que podem influenciar no seu tamanho. Embora o perímetro possa corresponder a uma medida mais fidedigna do timo, isso pode ser difícil e demorado, pois todo o perímetro do timo nem sempre é bem definido na ultrassonografia. Segundo Zalel et. al., as técnicas que apenas avaliam o diâmetro do timo têm uma precisão limitada devido à forma irregular do timo.⁹ No entanto, a medida do diâmetro latero-lateral parece ser mais fácil de reproduzir quando comparada com a medida do perímetro, uma vez que a interface lateral do timo com os pulmões é mais definida que sua parede anterior e posterior.¹⁰

Tanto na medida do perímetro como na medida do diâmetro latero-lateral, os autores foram capazes de visualizar o timo em mais de 94% das vezes, contrapondo aos 75% descrito por Felker et. al. em 1989. Essa diferença, possivelmente, está relacionada ao aprimoramento dos aparelhos de ultrassonografia constatado nos últimos anos. Já a medida do volume do timo requer um aparelho ultrassonográfico de última geração, o que dificulta a propagação dessa técnica em lugares onde esse não está disponível. Porém, o volume parece ser uma medida promissora e mais exata, já que o timo é um órgão lobulado.¹¹

Estudos demonstraram que a medida do timo não varia conforme o sexo fetal e que as curvas de normalidade em gestações gemelares são similares às curvas de fetos únicos.^{12,13}

Recentemente, um novo marcador ultrassonográfico foi descrito para facilitar a visualização do timo no tórax. Denominado de “thy-box”, esse marcador visualizado através da Dopplervelocimetria, identifica o curso das artérias mamárias internas, que contornam o timo (“thy”) em ambos os lados, formando uma espécie de caixa (“Box”), facilitando a identificação do órgão, mesmo na presença de alterações cardíacas.¹⁴

Em março de 2011, Chaoui et. al. propuseram um novo modo de avaliação do timo, a razão timo-tórax (TT-ratio). Essa medida seria mais prática que a medida do diâmetro, perímetro ou volume do timo, uma vez que não necessitaria de comparação com tabelas de referência. Esses pesquisadores

destacam que o TT-ratio pode ser facilmente realizado durante a ecocardiografia fetal. Essa medida, que representa a razão entre o diâmetro anteroposterior do timo pelo diâmetro anteroposterior do tórax fetal, se mantém constante durante a gestação ($0,4 \pm 0,043$) e uma razão inferior a 0,3 seria um forte indicador de fetos com defeitos cardíacos e deleção do 22q11 (Síndrome de Di George). Por último, os autores sugerem que essa medida poderia ser utilizada em patologias como a infecção intra-uterina, o CIUR e a pré-eclâmpsia, que estão relacionadas à hipoplasia do timo.¹⁵

Timo e síndrome de Di George

O timo se tornou motivo de interesse nas ultrassonografias obstétricas na década de 90, primeiramente, como um marcador da síndrome de Di George. Essa síndrome rara, causada pela microdeleção heterozigótica de 30-50 genes do cromossomo 22 na região q11.2, cursa com imunodeficiência, malformações cardíacas, hipoparatiroidismo e problemas cognitivos. Aproximadamente 85% dos pacientes com essa síndrome apresentam hipoplasia ou agenesia do timo. Assim, uma análise subjetiva da morfologia do timo feita por ultrassonografista experiente poderia sugerir fortemente essa anomalia.¹⁶

Porém, foi somente após o desenvolvimento de técnicas objetivas para medida do timo e a construção de curvas de normalidade que a avaliação ultrassonográfica do timo ficou em evidência. A associação da hipoplasia do timo fetal com patologias obstétricas que cursam com estresse fetal (infecção

intra-amniótica, CIUR, trabalho de parto pré-termo e PE) foi responsável pela maioria das publicações sobre este tema nos últimos anos.

TIMO e Síndrome da resposta inflamatória fetal (SRIF)

A SRIF é uma condição que se caracteriza pela elevação de citosinas pró-inflamatórias na circulação fetal. Essa síndrome inflamatória, originalmente definida como uma concentração de interleucina-6 (IL-6) >11 pg / mL no sangue fetal, é uma condição que está presente em um subgrupo de pacientes com parto pré-termo ou com ruptura prematura de membranas e pode levar ao óbito fetal. O aumento de citosinas pró-inflamatórias no sangue fetal e líquido amniótico tem sido relacionados com o desenvolvimento de leucomalácia periventricular, paralisia cerebral e sepse fetal. Além disso, ficou comprovado que o feto é capaz de apresentar uma resposta imunológica na presença não somente de uma infecção intra-amniótica, mas também durante o curso de uma infecção subclínica.¹⁷

Assim como a SRIF, a infecção intra-amniótica nem sempre é clinicamente evidente e, caso não seja reconhecida rapidamente, pode trazer consequências significativas para mãe e feto (endometrite, sepsis neonatal e morte neonatal).¹⁸ A detecção precoce e precisa dessas patologias é um importante desafio para o perinatologista. Estudos ultrassonográficos em fetos demonstraram que tanto a SRIF como a infecção intra-amniótica na ruptura

prematura de membranas (ruprema) e no trabalho de parto pré-termo (TPP) estão associadas à diminuição significativa do timo fetal. Portanto, esse pode ser um marcador ultrassonográfico não-invasivo promissor na avaliação precoce da infecção e/ou na resposta inflamatória fetal.^{5,6}

O primeiro estudo que correlacionou a SRIF com a hipoplasia do timo foi publicado por Dinero et. al. em 2005. Nesse estudo, 100% das pacientes (10/10) com infecção intra-amniótica estavam com o perímetro do timo abaixo do percentil 5 em comparação a somente 23% (5/21) das pacientes sem infecção. Esse autor sugere que a involução do timo fetal possa ser parte integrante da síndrome da resposta inflamatória fetal.⁴ Zalel et. al. relataram a associação da hipoplasia do timo fetal com corioamnionite e sepse neonatal em pacientes com ruprema pré-termo. Nesse estudo, com 21 pacientes, 62% (13/21) apresentaram o perímetro do timo abaixo do percentil 5, enquanto 38% (8/21) estavam com o timo dentro dos parâmetros de normalidade. Das pacientes que estavam com o timo abaixo do percentil 5, 69% (9/13) apresentavam sinais clínicos ou histológicos de corioamnionite.⁶ EL-Haieg et. al. , em uma coorte de 56 gestantes, associaram a involução do timo fetal com o aumento de interlecina -6 no cordão umbilical em pacientes com ruprema e trabalho de parto prematuro.⁵

Esses resultados reforçam os achados daqueles que relataram uma associação entre a involução do timo ao nascer com sepse neonatal e corioamnionite. De Felice et. al. observaram uma significativa correlação entre a redução do tamanho do timo em recém-nascidos e a presença de

corioamnionite histológica.¹⁹ Toti et. al. detectaram profundas mudanças no tamanho e na composição da timo de recém-nascidos prematuros com infecção intra amniótica que morreram logo após o nascimento.²⁰

O fenômeno da involução do timo secundária a estresse agudo foi investigado extensivamente na literatura pediátrica. A retração dramática desse órgão tem sido documentada em resposta a um número de condições estressantes, que incluem doenças agudas, infecções, traumas, desnutrição e maus tratos.^{21,22} A depleção linfocitária do timo é resultado da apoptose, induzida por altos níveis de glicocorticoides circulantes na fase aguda da doença, possivelmente, mediada pela ativação do eixo hipotálamo-hipófise-adrenal (HHA).²³ Curiosamente, um estudo recente com gestantes com diagnóstico de trabalho de parto prematuro constatou que os fetos que estavam com a glândula supra renal aumentada nasceram antes daqueles fetos sem aumento dessa glândula. Esses achados corroboram a hipótese de que o eixo HHA, possivelmente, esteja envolvido na gênese das alterações fisiopatológicas encontradas nos fetos com TPP.²⁴

As alterações do timo intra-útero frente a uma corioamnionite poucas vezes foram investigadas, mas acredita-se que a resposta do feto possa ser similar àquela descrita em recém-nascidos. Um estudo em ovelhas, onde se induziu a infecção intra-amniótica, constatou modificações estruturais do timo fetal semelhantes às descritas acima.²⁵

Timo e crescimento intra-uterino restrito

O timo parece ser um órgão-chave do sistema imunológico adaptativo dos mamíferos, e a privação de nutrientes pode resultar na diminuição deste órgão. Alterações do tamanho do timo e de sua histopatologia foram observadas em modelos animais com CIUR.^{26, 27}

A. Cromi foi o primeiro autor a demonstrar que o CIUR estaria associado com a diminuição do tamanho do timo fetal. Em seu estudo, o autor comparou o perímetro do timo fetal de 60 gestações com fetos que apresentaram CIUR (perímetro abdominal < percentil 5) com 60 fetos provenientes de gestações sem patologia. Constatou-se que 96% (58/60) dos fetos com CIUR apresentou o perímetro do timo abaixo do percentil 5 para idade gestacional, ao passo que somente 11% (7/60) dos fetos de gestações sem patologia apresentou esse achado.³

Os mecanismos pelos quais o CIUR induz a involução tímica ainda são desconhecidos. Em animais submetidos à restrição alimentar que tiveram suas suprarrenais retiradas, não se identificou a redução do timo.²⁸ Em outra pesquisa, a injeção de leptina recombinante impediu o encolhimento do timo de camundongos em jejum prolongado, além de impedir o aumento dos níveis de glicocorticoides usualmente registrados nessas situações. Esses achados suportam a especulação de que a privação nutricional induz à depleção das células do timo através de um desequilíbrio na produção de leptina (que está diminuída) e de glicocorticoides (que está aumentado).²⁹

A hipótese de o CIUR induzir alterações morfológicas do timo fetal semelhantes às observadas na infância de crianças desnutridas, até agora, foi testada somente em experimentos com animais.²⁶ No entanto, é importante lembrar que estudos que investigam o estado metabólico de fetos com CIUR revelam graus de hipoglicemia desproporcionalmente baixos quando comparados com os níveis de insulina circulante, assim como de taxas elevadas de lipólise.³⁰ Esses achados são similares ao estado metabólico encontrado em crianças que sofrem de desnutrição.³¹

Estudos em humanos sugerem que a adversidade intra-uterina, incluindo privação da alimentação, estaria associada com alterações no eixo HHA.³² Especula-se que o aumento dos níveis de cortisol circulante secundário ao desequilíbrio do eixo HHA induza à involução do timo e funcione como parte da resposta adaptativa fetal que visa à sua sobrevivência.

Ainda é muito controverso acreditar que as alterações do timo de fetos com CIUR podem influenciar sua vida extra-uterina. Entretanto, estudos prospectivos apontam que o desenvolvimento inadequado do timo intra-útero pode estar associado ao desenvolvimento de doenças auto-imunes e infecções durante a infância e a adolescência.^{33, 34, 35}

São necessárias pesquisas adicionais para explorar os reais processos que ligam o CIUR à hipoplasia do timo fetal, assim como a possível contribuição que a medida desse órgão pode nos trazer nesta situação.

Timo e pré-eclâmpsia

A pré-eclâmpsia (PE) é uma das principais causas de morbidade e mortalidade materna e neonatal, afetando 5-8% das gestações. A etiologia exata da pré-eclâmpsia permanece obscura, porém, sabe-se que fatores imunológicos baseados na rejeição do feto pela mãe, assim como um processo de invasão placentária inadequada desempenham um papel importante na origem desta patologia. A principal disfunção imunológica parece estar associada aos linfócitos T e ao aumento dos marcadores inflamatórios como o fator de necrose tumoral- α .³⁶

Mohamed et al foram os primeiros a sugerir que o timo está diminuído nas pacientes com pré-eclâmpsia, quando comparado a gestações normais. Esse autor realizou um estudo de caso-controle com 39 pacientes com pré-eclâmpsia e 70 pacientes hípidas. Embora o número reduzido de gestantes com pré-eclâmpsia, o timo das pacientes com pré-eclâmpsia se mostrou reduzido quando comparado com gestações sem patologia, independentemente da idade gestacional, peso fetal e uso de corticosteroides.²

Em um pequeno subgrupo de pacientes desse estudo, a hipoplasia do timo precedeu o aparecimento da pré-eclâmpsia, podendo o timo se tornar um possível marcador que precede o início da doença. Se o timo pequeno é causa ou efeito da pré-eclâmpsia, este fato deve ser melhor investigado. De qualquer sorte, especula-se que o timo fetal, uma vez alterado na pré-eclâmpsia, pode

ter consequências imunológicas a longo prazo no recém-nascido, uma vez que o timo é um mediador essencial da imunidade celular.²

Diferentemente das outras patologias que causam a hipotrofia do timo, a pré-eclâmpsia não apresenta um estímulo óbvio que justifique a diminuição do timo através da ativação do eixo HHA. Assim, o mecanismo pelo qual a involução do timo ocorreria na PE ainda é desconhecido. No entanto, não seria surpreendente se os mediadores inflamatórios e cortisol materno presente em quantidade aumentada na circulação materna atravessassem a placenta e causassem a involução deste órgão.²

CONCLUSÃO

É fascinante olhar para trás e perceber que as pesquisas sobre o timo, um órgão por muito tempo negligenciado, não só cederam os segredos de sua função, mas também abriram uma nova grande área de investigação.

Atualmente, não existem marcadores clínicos confiáveis que elejam adequadamente os fetos com risco iminente de infecção. O surgimento de um marcador ultrassonográfico confiável, de preferência não invasivo e capaz de diagnosticar uma infecção pré-clínica, poderia levar a uma intervenção clínica precoce e diminuir a morbidade e mortalidade perinatal.

As pesquisas que avaliam as mudanças estruturais do timo fetal frente às patologias obstétricas que cursam com estresse fetal descrevem o eixo HHA como um dos possíveis responsáveis pela hipoplasia do órgão. Se essas alterações são benéficas e auxiliam o feto na sua vida intra-uterina frente às patologias ou se esse fato é nocivo e pode gerar sequelas no longo prazo são questões que devem ser avaliadas em estudos futuros.

Diante do que foi exposto, acredita-se que a medida do timo fetal parece ser um exame diagnóstico promissor na avaliação do bem estar fetal, no entanto, as intervenções clínicas baseadas nas informações advindas dessa avaliação ainda necessitam de estudos multicêntricos com um número maior de pacientes para comprovar a sua real utilidade na propedêutica obstétrica.

REFERÊNCIA

1. Miller JF. The golden anniversary of the thymus. *Nat Rev Immunol*. 2011 May 27.
 2. Mohamed N, Eviston DP, Quinton AE, Benzie RJ, Kirby AC, Peek MJ, et al. Smaller fetal thymuses in pre-eclampsia: a prospective cross-sectional study. *Ultrasound Obstet Gynecol*. 2011 Apr;37(4):410-5.
 3. Cromi A, Ghezzi F, Raffaelli R, Bergamini V, Siesto G, Bolis P. Ultrasonographic measurement of thymus size in IUGR fetuses: a marker of the fetal immunoendocrine response to malnutrition. *Ultrasound Obstet Gynecol*. 2009 Apr;33(4):421-6.
 4. Di Naro E, Cromi A, Ghezzi F, Raio L, Uccella S, D'Addario V, et al. Fetal thymic involution: a sonographic marker of the fetal inflammatory response syndrome. *Am J Obstet Gynecol*. 2006 Jan;194(1):153-9.
 5. El-Haieg DO, Zidan AA, El-Nemr MM. The relationship between sonographic fetal thymus size and the components of the systemic fetal inflammatory response syndrome in women with preterm prelabour rupture of membranes. *Bjog*. 2008 Jun;115(7):836-41.
 6. Yinon Y, Zalel Y, Weisz B, Mazaki-Tovi S, Sivan E, Schiff E, et al. Fetal thymus size as a predictor of chorioamnionitis in women with preterm premature rupture of membranes. *Ultrasound Obstet Gynecol*. 2007 Jun;29(6):639-43.
 7. Chaoui R, Kalache KD, Heling KS, Tennstedt C, Bommer C, Korner H. Absent or hypoplastic thymus on ultrasound: a marker for deletion 22q11.2 in fetal cardiac defects. *Ultrasound Obstet Gynecol*. 2002 Dec;20(6):546-52.
 8. Felker RE, Cartier MS, Emerson DS, Brown DL. Ultrasound of the fetal thymus. *J Ultrasound Med*. 1989 Dec;8(12):669-73.
 9. Zalel Y, Gamzu R, Mashiach S, Achiron R. The development of the fetal thymus: an in utero sonographic evaluation. *Prenat Diagn*. 2002 Feb;22(2):114-7.
 10. Cho JY, Min JY, Lee YH, McCrindle B, Hornberger LK, Yoo SJ. Diameter of the normal fetal thymus on ultrasound. *Ultrasound Obstet Gynecol*. 2007 Jun;29(6):634-8.
-

-
11. Li L, Bahtiyar MO, Buhimschi CS, Zou L, Zhou QC, Copel JA. Assessment of the fetal thymus by two- and three-dimensional ultrasound during normal human gestation and in fetuses with congenital heart defects. *Ultrasound Obstet Gynecol.* 2011 Apr;37(4):404-9.
 12. De Leon-Luis J, Gamez F, Pintado P, Antolin E, Perez R, Ortiz-Quintana L, et al. Sonographic measurements of the thymus in male and female fetuses. *J Ultrasound Med.* 2009 Jan;28(1):43-8.
 13. Gamez F, De Leon-Luis J, Pintado P, Perez R, Robinson JN, Antolin E, et al. Fetal thymus size in uncomplicated twin and singleton pregnancies. *Ultrasound Obstet Gynecol.* 2010 Sep;36(3):302-7.
 14. Paladini D. How to identify the thymus in the fetus: the thy-box. *Ultrasound Obstet Gynecol.* 2011 Apr;37(4):488-92.
 15. Chaoui R, Heling KS, Lopez AS, Thiel G, Karl K. The thymic-thoracic ratio in fetal heart defects: a simple way to identify fetuses at high risk for microdeletion 22q11. *Ultrasound Obstet Gynecol.* 2011 Apr;37(4):397-403.
 16. Driscoll DA, Budarf ML, Emanuel BS. Antenatal diagnosis of DiGeorge syndrome. *Lancet.* 1991 Nov 30;338(8779):1390-1.
 17. Gotsch F, Romero R, Kusanovic JP, Mazaki-Tovi S, Pineles BL, Erez O, et al. The fetal inflammatory response syndrome. *Clin Obstet Gynecol.* 2007 Sep;50(3):652-83.
 18. Mercer BM, Moretti ML, Prevost RR, Sibai BM. Erythromycin therapy in preterm premature rupture of the membranes: a prospective, randomized trial of 220 patients. *Am J Obstet Gynecol.* 1992 Mar;166(3):794-802.
 19. De Felice C, Toti P, Santopietro R, Stumpo M, Pecciarini L, Bagnoli F. Small thymus in very low birth weight infants born to mothers with subclinical chorioamnionitis. *J Pediatr.* 1999 Sep;135(3):384-6.
 20. Toti P, De Felice C, Stumpo M, Schurfeld K, Di Leo L, Vatti R, et al. Acute thymic involution in fetuses and neonates with chorioamnionitis. *Hum Pathol.* 2000 Sep;31(9):1121-8.
 21. Savino W. The thymus gland is a target in malnutrition. *Eur J Clin Nutr.* 2002 Aug;56 Suppl 3:S46-9.
 22. Chen CM, Yu KY, Lin HC, Yeh GC, Hsu HH. Thymus size and its relationship to perinatal events. *Acta Paediatr.* 2000 Aug;89(8):975-8.
-

-
23. Haeryfar SM, Berczi I. The thymus and the acute phase response. *Cell Mol Biol (Noisy-le-grand)*. 2001 Feb;47(1):145-56.
 24. Turan OM, Turan S, Funai EF, Buhimschi IA, Campbell CH, Bahtiyar OM, et al. Ultrasound measurement of fetal adrenal gland enlargement: an accurate predictor of preterm birth. *Am J Obstet Gynecol*. 2011 Apr;204(4):311 e1-10.
 25. Kunzmann S, Glogger K, Been JV, Kallapur SG, Nitsos I, Moss TJ, et al. Thymic changes after chorioamnionitis induced by intraamniotic lipopolysaccharide in fetal sheep. *Am J Obstet Gynecol*. 2010 May;202(5):476 e1-9.
 26. Lansdown AB. Histological observations on thymic development in fetal and newborn mammals subject to intrauterine growth retardation. *Biol Neonate*. 1977;31(5-6):252-9.
 27. Lang U, Baker RS, Khoury J, Clark KE. Effects of chronic reduction in uterine blood flow on fetal and placental growth in the sheep. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*. 2000 Jul;279(1):R53-9.
 28. Fraker PJ, Osati-Ashtiani F, Wagner MA, King LE. Possible roles for glucocorticoids and apoptosis in the suppression of lymphopoiesis during zinc deficiency: a review. *J Am Coll Nutr*. 1995 Feb;14(1):11-7.
 29. Howard JK, Lord GM, Matarese G, Vendetti S, Ghatei MA, Ritter MA, et al. Leptin protects mice from starvation-induced lymphoid atrophy and increases thymic cellularity in ob/ob mice. *J Clin Invest*. 1999 Oct;104(8):1051-9.
 30. Economides DL, Nicolaides KH, Gahl WA, Bernardini I, Bottoms S, Evans M. Cordocentesis in the diagnosis of intrauterine starvation. *Am J Obstet Gynecol*. 1989 Oct;161(4):1004-8.
 31. Fowden AL, Forhead AJ. Endocrine mechanisms of intrauterine programming. *Reproduction*. 2004 May;127(5):515-26.
 32. Economides DL, Nicolaides KH, Linton EA, Perry LA, Chard T. Plasma cortisol and adrenocorticotropin in appropriate and small for gestational age fetuses. *Fetal Ther*. 1988;3(3):158-64.
 33. Ferguson AC. Prolonged impairment of cellular immunity in children with intrauterine growth retardation. *J Pediatr*. 1978 Jul;93(1):52-6.
-

34. Godfrey KM, Barker DJ, Osmond C. Disproportionate fetal growth and raised IgE concentration in adult life. *Clin Exp Allergy*. 1994 Jul;24(7):641-8.
 35. Phillips DI, Cooper C, Fall C, Prentice L, Osmond C, Barker DJ, et al. Fetal growth and autoimmune thyroid disease. *Q J Med*. 1993 Apr;86(4):247-53.
 36. Conrad KP, Miles TM, Benyo DF. Circulating levels of immunoreactive cytokines in women with preeclampsia. *Am J Reprod Immunol*. 1998 Aug;40(2):102-11.
-

CAPÍTULO III

ARTIGO ORIGINAL

RESUMO

Objetivo: Avaliar as medidas do timo fetal através da ultrassonografia 24 e 48 horas após o uso de Betametasona para maturação pulmonar em gestações entre 24 e 34 semanas.

Métodos: estudo prospectivo com 25 gestantes que receberam Betametasona intramuscular para maturação pulmonar fetal antes de 34 semanas de gestação. As medidas do perímetro e do diâmetro do timo foram realizadas antes, 24 e 48 horas após o uso do corticoide.

Resultados: o diâmetro e o perímetro do timo diminuíram após 24 e 48 horas da administração de Betametasona. As médias do diâmetro foram $25,5 \pm 3,7$; $21,7 \pm 3,6$ e $20,2 \pm 5,5$ mm e do perímetro foram $89,8 \pm 9,5$; $78,6 \pm 8,6$ e $76,6 \pm 15,0$ mm para 0, 24h e 48 h, respectivamente ($P < 0.001$).

Conclusão: O uso de Betametasona para maturação pulmonar fetal pode estar associada com a diminuição do diâmetro e do perímetro do timo fetal. Este fato pode aumentar falsamente o número de fetos com timos considerados abaixo do percentil 5, caso a medida seja realizada após o uso de corticoide.

Palavras chaves: timo fetal, ultrassonografia, infecção intra-amniótica, pré-eclâmpsia, crescimento intra-uterino restrito.

ABSTRACT

Objective: To evaluate the fetal thymus size by ultrasound 24h- 48 h after the use of Betamethasone for lung maturation in pregnancies between 24 and 34 weeks.

Methods: a prospective study of 25 pregnant women whom received Betamethasone intramuscular therapy to enhance fetal lung maturation before 34 weeks of pregnancy. Thymus perimeter and diameter were recorded during ultrasound examination before and 24h, 48 h after corticosteroid therapy.

Results: Both the diameter and the perimeter of the fetal thymus were smaller 24h and 48h after the use of Betamethasone. The means of the thymus diameters were $25,5 \pm 3,7$; $21,7 \pm 3,6$ and $20,2 \pm 5,5$ mm and of thymus perimeters were $89,8 \pm 9,5$; $78,6 \pm 8,6$ and $76,6 \pm 15,0$ mm for 0, 24h and 48 h, respectively ($P < 0.001$).

Conclusions: Betamethasone for lung maturation is possibly associated with the decrease of the thymus diameter and perimeter in 24 - 48 h. This may increase falsely the number of fetus with the thymus size below 5 th percentile if the thymus evaluation is done after the use of the corticoesteroides.

Key words: fetal thymus, ultrasound, intrauterine infection, pre-eclampsia

Alterações ultrassonográficas do timo fetal após o uso do corticoide para maturação pulmonar.

INTRODUÇÃO

O corticoide antenatal (CA) para maturação pulmonar fetal é amplamente utilizado nas gestantes com partos que ocorrem antes de 34 semanas de gestação diminuindo significativamente a morbidade e a mortalidade perinatal.^{1,2} Após a primeira dose de corticoide, além do aumento da produção de surfactante, alguns autores demonstraram, através da ultrassonografia, modificações na fisiologia fetal.³ Esses efeitos são mediados pelos receptores de corticoides distribuídos nos diferentes órgãos (cérebro, pulmão, rins, timo, etc..) do feto.⁴

O timo é um órgão epitelial misto importante no desenvolvimento da imunidade adaptativa nos primeiros anos de vida. Os linfócitos T oriundos do timo são essenciais no combate à infecção.⁵ A maioria das publicações que estudam as modificações morfológicas do timo frente ao estresse sugere que o aumento dos níveis de corticoide circulante diminui a produção das células T e pode atrofiar o timo em até 72 horas.⁶ Já outros relatam que o timo pode tanto aumentar como diminuir, frente ao aumento dos níveis de corticosteroides.⁷

A primeira vez que o timo fetal foi visualizado na ultrassonografia foi em 1989.⁸ Porém, foi somente na última década, com a melhora dos aparelhos de ultrassonografia, que o interesse dos pesquisadores se tornou evidente. Em

2002, Zalel et. al. criaram um nomograma do perímetro do timo fetal.⁹ Após isso, Cho et. al. propuseram um nomograma do diâmetro latero-lateral do timo entre 19-38 semanas de gestação, acreditando que essa seria uma forma mais fácil de avaliar este órgão.¹⁰ Mais recentemente, foi publicado um modo de avaliação do timo através da ultrassonografia tridimensional.¹¹

Não existem muitas publicações sobre a medida do timo intra-útero e seus potenciais benefícios. Di. Naro et. al. foram os primeiros a correlacionar a involução do timo fetal com a presença de infecção intra-amniótica em pacientes com trabalho de parto prematuro.¹² Após isso, a involução do timo fetal foi associada à síndrome da resposta inflamatória fetal (SRIF), ao crescimento intra-uterino restrito (CIUR), à pré-eclâmpsia (PE) e à ruptura prematura de membranas (Ruprema).¹³⁻¹⁶ Na maioria desses estudos, não foi possível identificar o exato momento da medida do timo fetal em relação ao momento do uso do CA, embora alguns tenham referido que o uso de corticoide não tenha interferido em suas avaliações.

É importante ressaltar que a maioria das pacientes selecionadas nos estudos acima citados, onde a medida do timo intra-útero pode ser útil, está com menos de 34 semanas e são candidatas a receber CA. O objetivo desse estudo foi avaliar as mudanças do timo fetal 24, 48 horas após o uso de Betametasona intramuscular para maturação pulmonar fetal nas pacientes com gestação até 34 semanas.

PACIENTES E MÉTODOS

Delineamento

O estudo foi realizado de forma prospectiva entre julho de 2009 e dezembro de 2010, com aprovação do comitê de ética e pesquisa da instituição. Todos as pacientes assinaram um termo de consentimento livre e esclarecido. A população em estudo inclui 25 gestantes que receberam CA para maturação pulmonar fetal em um hospital universitário (Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul/ Porto Alegre/ Brasil). Critérios de inclusão: gestação única entre 24-34 semanas e que utilizaram duas ampolas de Celestone® soluspan (3 mg de acetato de betametasona + 3 mg de fosfato dissódico de betametasona) para maturidade pulmonar em duas doses intramuscular com um intervalo de 24 horas. Critérios de exclusão: malformação fetal, uso de corticoide com outra finalidade, nascimento antes da segunda ultrassonografia e impossibilidade de realizar a ultrassonografia devido à janela acústica insuficiente.

Avaliação ultrassonográfica

O perímetro e o diâmetro do timo foram visualizados em um corte transversal do tórax fetal entre o esterno e os vasos da base do coração (corte

dos três vasos) e entre os pulmões. O diâmetro do timo foi realizado como descrito por CHO et. al e o perímetro conforme descrito por Zalel et. al.^{9, 10} As medidas foram armazenadas durante o exame de ultrassonografia obstétrica antes da primeira dose de corticoide e após 24 e 48 horas por um único examinador (G.S.) Cada medida foi repetida três vezes, e a média foi utilizada para a análise estatística. Durante o exame não era possível visualizar a medida do timo. A medida do timo só era conhecida após o termino do terceiro exame. O exame foi realizado via abdominal com um transdutor convexo 3,5 - 5 MHz (MD11, Philips, Seattle, USA). Foram utilizados o cine loop e os calipers na tela para realizar as medidas do timo.

A medida do perímetro e do diâmetro do timo fetal foi realizada em 50 gestações de baixo risco, antes do início do estudo, e comparada às curvas de normalidade de Cho e Zalel.^{9, 10} De acordo com a curva de normalidade de Cho et. al., quarenta e nove pacientes apresentaram o diâmetro entre o percentil 5 e 95, e uma estava abaixo do percentil 5. Conforme a curva de normalidade de Zalel et. al., quarenta e sete pacientes apresentaram o perímetro entre o percentil 5 e 95, duas abaixo do percentil 5 e uma acima do percentil 95.

Análise estatística

As variáveis foram descritas por média e desvio padrão. Para comparar as variáveis ao longo das 48h após a administração da Betametasona, foi

aplicada a Análise de Variância (ANOVA) para medidas repetidas com post-hoc de Bonferroni. Para descrever as mudanças do tamanho do timo fetal nos diferentes momentos, foram utilizadas a variação absoluta em milímetros, a variação em percentual e o tamanho de efeito padronizado (TEP).¹⁷ Este último, descrito por Cohen em 1988, é uma medida que mede a magnitude de diferenças entre médias levando em conta seus desvios padrões. O TEP é uma medida que varia de zero ao infinito, e quanto maior o seu número, maior é a magnitude de diferença entre as médias. Segundo o autor, TEPs abaixo de 0,5 são considerados de pequeno efeito, efeitos moderados de 0,5 a 0,8 e efeitos grandes acima de 0,8.

O nível de significância adotado foi de 5% ($p \leq 0,05$) e as análises foram realizadas no programa SPSS (Statistical Package for the Social Sciences) versão 18.0.

RESULTADOS

Durante o período de estudo, 25 gestantes com menos de 34 semanas de gestação preencheram os critérios de inclusão do estudo. Duas gestantes foram excluídas devido à impossibilidade de visualização do timo devido à janela acústica insuficiente (ambas apresentavam ruptura das membranas), e outras duas tiveram partos antes da segunda medida do timo. A taxa de detecção do timo fetal foi de 92% (23/25). Vinte e uma pacientes foram utilizadas para a análise estatística. A tabela 1 descreve as características da população em estudo.

Tabela III-1- Descrição da população em amostra

Variáveis	n=21
Idade materna (anos) – Média \pm DP	25,4 \pm 5,8
Nulíparas – n(%)	10 (47,6)
Idade gestacional (semanas) – Média \pm DP	29,7 \pm 2,7
Peso ao nascer (kg) – Média \pm DP	1431,7 \pm 488,7
Patologias obstétricas – n(%)	
Pré-Eclâmpsia	6 (28,5)
Trabalho de parto prematuro	10 (47,7)
Bolsa-rota	5 (23,8)

As variações do tamanho do timo fetal estão descritas na tabela 2.

Tabela III-2 - Variação do tamanho do timo

Momentos	Diâmetro	Perímetro
	Média ± DP	Média ± DP
0h	25,5 ± 3,7 ^a	89,8 ± 9,5 ^a
24h	21,7 ± 3,6 ^b	78,6 ± 8,6 ^b
48h	20,2 ± 5,5 ^b	76,6 ± 15,0 ^b
p*	<0,001	<0,001
Δ % (0h – 24h)	-14,9%	-12,5%
TEP (0h – 24h)	1,1	1,2
Δ % (0h – 48h)	-20,8%	-14,7%
TEP (0h – 48h)	1,6	1,2

* Análise de Variância (ANOVA) para medidas repetidas

^{a,b} Letras iguais não diferem pelo teste de Bonferroni a 5% de significância

Δ %: variação, em percentual, dos dois momentos avaliados

TEP: tamanho de efeito padronizado

Nos gráficos 1 e 2 está ilustrada a diminuição do timo fetal em milímetros, levando em conta o intervalo de confiança nos diferentes momentos.

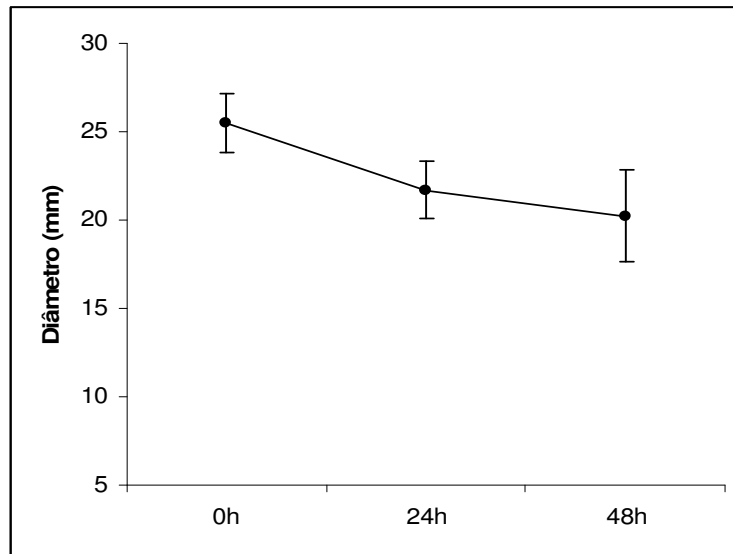


Figura III-1- variação do diâmetro em milímetros

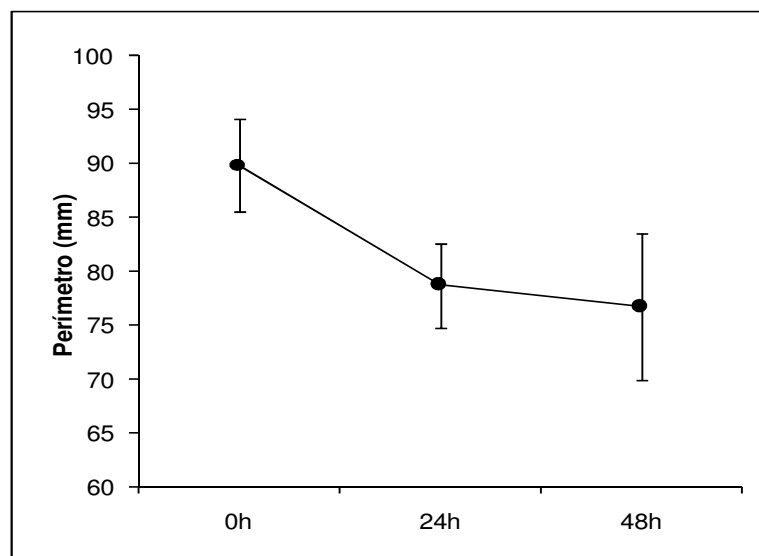


Figura III-2- variação do perímetro em milímetros

Antes da primeira dose de corticoide, 14% (3/21) das pacientes apresentava o diâmetro do timo fetal abaixo do percentil 5, e 23,8 % (5/21) estava com o perímetro abaixo do percentil 5. Após 24 horas da primeira dose,

esse número aumentou para 52,3 % (11/21) na medida do diâmetro e para 71,4% (15/21) na medida do perímetro.

O timo estava abaixo do percentil 5 no perímetro e/ou no diâmetro em 50% (3/6) das pacientes com pré-eclâmpsia, em 20% (1/5) das pacientes com ruptura de membranas e 10% (1/10) das pacientes com trabalho de parto pré-termo.

Todas as três pacientes que apresentavam diâmetro abaixo do percentil 5 também apresentavam o perímetro abaixo do percentil 5. Das cinco pacientes que apresentavam o perímetro abaixo do percentil 5, duas apresentavam o diâmetro do timo dentro da normalidade.

Todos (5/5) os fetos que estavam com o diâmetro ou o perímetro do timo abaixo do percentil 5 antes da dose de corticoide apresentaram redução do mesmo em 48 horas após o uso da medicação.

Uma paciente, com diagnóstico de PE, apresentou aumento do timo nas primeiras 24 horas, contudo, se considerarmos as 48 horas, foi constatada uma redução do timo.

DISCUSSÃO

Apesar de alguns autores acreditarem que o timo é sensível aos corticosteroides, nenhum estudo, até o momento, havia se proposto a avaliar as variações deste órgão intra-útero através da ultrassonografia após o uso de corticoide para a maturação pulmonar fetal. Sabe-se que a maioria das gestantes que se beneficiaram da medida do timo fetal são candidatas ao uso de corticoide antes da 34^ª semana e seu uso diminui significativamente a morbidade e mortalidade perinatal.¹ Assim, torna-se relevante dimensionar as reais variações morfológicas do timo fetal, que possam eventualmente confundir as informações clínicas que este órgão possa nos oferecer.

Das 21 pacientes estudadas, 100 % (21/21) apresentaram diminuição do diâmetro e do perímetro após 48 horas da primeira dose de corticoide. A única paciente que apresentou um aumento do timo nas primeiras 24 horas apresentou uma diminuição após 48 horas. Essa situação talvez possa ser justificada pela presença de um lobo acessório do timo, que não foi registrado na primeira medida, e que, ao ser medido em um segundo momento, tenha sido considerado e, conseqüentemente, aumentado o tamanho do timo.

Após o uso de corticóide a diminuição do timo foi evidente nas primeiras 24 horas, se estabilizando nas 24 horas subseqüentes. Esses achados estão de acordo com estudos em animais, que demonstram uma diminuição do timo naqueles animais submetidos à corticoterapia.⁶ Zalel e Mohamed, em uma análise de seus resultados secundários, relataram que o corticoide parecia não

influenciar no tamanho do timo fetal, no entanto, seus estudos não foram delineados para detectar tal efeito.^{13, 16}

Antes da primeira dose de corticoide, 14% das pacientes apresentava o diâmetro do timo abaixo do percentil 5 e 23% apresentava o perímetro abaixo do percentil 5. Esse número relativamente alto de pacientes com timo abaixo do percentil 5 representa uma população selecionada cujas patologias de base, possivelmente, diminuem as dimensões do timo.¹⁵ Mesmo nessa população que apresenta o timo reduzido, quando utilizamos o corticoide, percebemos uma diminuição nas dimensões do timo.

No TPP, na Ruprema, no CIUR e na PE (antes de 34 semanas), onde o parto nas próximas horas parece provável, uma das primeiras drogas a serem utilizadas é o corticoide para maturação pulmonar. Caso a ultrassonografia do timo fetal seja realizada após o uso de corticoide, a sua medida pode ser influenciada. Embora alguns autores reconheçam os efeitos do corticoide sobre o timo e tenham corrigido esse viés na análise de seus trabalhos, é importante reconhecer o impacto precoce e relevante do corticoide sobre o timo. Em nosso estudo, caso a medida do timo fosse realizada após a primeira dose de corticoide, haveria 3 a 4 vezes mais fetos com timos considerados abaixo do percentil 5.

Embora seja restrito o número de pacientes, o que limita as conclusões sobre alguns aspectos, algumas considerações sobre os subgrupos de patologias de nosso estudo são pertinentes. Das seis pacientes com PE, 50%

estava abaixo do percentil 5, resultado que concorda com os achados de Mohamed et. al., que relatam uma diminuição do timo fetal nas pacientes com pré-eclâmpsia (PE).¹³ Nas pacientes com trabalho de parto pré-termo (TPP), somente 10% (1/10) das pacientes apresentava o timo abaixo do percentil 5 fato esse que difere de Di naro et. al. No estudo desse autor, 100 % (10/10) das pacientes com TPP e infecção intra-amniótica apresentavam diminuição do timo.¹² No entanto, os fetos de nosso estudo não nasceram em 48 horas, o que possivelmente nos afasta da possibilidade de infecção fetal e nos remete a um possível diagnóstico retrospectivo de falso trabalho de parto. Das cinco pacientes com diagnóstico de ruptura das membranas pré-termo, somente 20% (1/5) apresentou o timo abaixo do percentil 5, enquanto que, no estudo de Zalel, 62% (13/21) das pacientes com Ruprema apresentaram o timo abaixo do percentil 5. Nesse estudo, as 13 pacientes receberam corticoterapia para maturação pulmonar.¹⁶

Limitações de nosso estudo incluem a ausência de um grupo controle. No entanto, não seria ético não oferecer o corticoide a um grupo de pacientes, uma vez conhecidos os benefícios dessa medicação nas situações clínicas descritas em nosso estudo. Assim, poderia se sugerir que a diminuição do timo aconteceu devido à patologia de base (PE, TPP e RUPREMA) das pacientes e não ao uso de corticoide. Acreditamos que isto seja improvável, devido a forma abrupta, da involução do timo, registrada nas primeiras 24 horas. Outra limitação é a avaliação feita por somente um operador. Tentamos minimizar

esse viés por meio do cegamento do examinador para as medidas do timo durante a avaliação do mesmo.

Uma questão que limita a aplicabilidade clínica desse marcador no Brasil é a necessidade de contar com um aparelho de alta resolução e um ultrassonografista experiente, disponível no centro obstétrico. Esse fato poderia ser minimizado com a implementação de unidades capazes de realizarem ultrassonografia à distância, porém essa prática ainda não está disponível em nosso meio.

Desse modo, este estudo sugere que o uso da Betametasona para maturação pulmonar fetal pode influenciar na diminuição do timo fetal. Essa associação deve ser considerada no momento da ultrassonografia obstétrica, e a medida do timo, se necessária, deve ser preferencialmente realizada antes da administração do corticoide. Cabe ainda ressaltar que, embora o timo fetal seja um marcador ultrassonográfico promissor para avaliação do bem estar fetal, ensaios clínicos com um maior número de pacientes são necessários para comprovar a utilidade deste na prevenção ou predição de um desfecho neonatal adverso.

REFERÊNCIAS

1. Miracle X, Di Renzo GC, Stark A, Fanaroff A, Carbonell-Estrany X, Saling E. Guideline for the use of antenatal corticosteroids for fetal maturation. *J Perinat Med.* 2008;36(3):191-6.
 2. Crowley P. WITHDRAWN: Prophylactic corticosteroids for preterm birth. *Cochrane Database Syst Rev.* 2006(3):CD000065.
 3. Koenen SV, Mulder EJ, Wijnberger LD, Visser GH. Transient loss of the diurnal rhythms of fetal movements, heart rate, and its variation after maternal betamethasone administration. *Pediatr Res.* 2005 May;57(5 Pt 1):662-6.
 4. Babovic I, Plesinac S, Opalic J, Devrnja V, Pavlovic I, Radojicic Z, et al. Intramuscular fetal corticosteroid therapy: short-term effects on the fetus. *Fetal Diagn Ther.* 2009;25(1):98-101.
 5. Moore SE, Collinson AC, Tamba N'Gom P, Aspinall R, Prentice AM. Early immunological development and mortality from infectious disease in later life. *Proc Nutr Soc.* 2006 Aug;65(3):311-8.
 6. Cannizzo FT, Miniscalco B, Riondato F, Bollo E, Barbarino G, Giorgi P, et al. Effects of anabolic and therapeutic doses of dexamethasone on thymus morphology and apoptosis in veal calves. *Vet Rec.* 2008 Oct 11;163(15):448-52.
 7. Jondal M, Pazirandeh A, Okret S. Different roles for glucocorticoids in thymocyte homeostasis? *Trends Immunol.* 2004 Nov;25(11):595-600.
 8. Felker RE, Cartier MS, Emerson DS, Brown DL. Ultrasound of the fetal thymus. *J Ultrasound Med.* 1989 Dec;8(12):669-73.
 9. Zalel Y, Gamzu R, Mashiach S, Achiron R. The development of the fetal thymus: an in utero sonographic evaluation. *Prenat Diagn.* 2002 Feb;22(2):114-7.
 10. Cho JY, Min JY, Lee YH, McCrindle B, Hornberger LK, Yoo SJ. Diameter of the normal fetal thymus on ultrasound. *Ultrasound Obstet Gynecol.* 2007 Jun;29(6):634-8.
 11. Li L, Bahtiyar MO, Buhimschi CS, Zou L, Zhou QC, Copel JA. Assessment of the fetal thymus by two- and three-dimensional ultrasound
-

during normal human gestation and in fetuses with congenital heart defects. *Ultrasound Obstet Gynecol.* 2011 Apr;37(4):404-9.

12. Di Naro E, Cromi A, Ghezzi F, Raio L, Uccella S, D'Addario V, et al. Fetal thymic involution: a sonographic marker of the fetal inflammatory response syndrome. *Am J Obstet Gynecol.* 2006 Jan;194(1):153-9.
 13. Mohamed N, Eviston DP, Quinton AE, Benzie RJ, Kirby AC, Peek MJ, et al. Smaller fetal thymuses in pre-eclampsia: a prospective cross-sectional study. *Ultrasound Obstet Gynecol.* 2011 Apr;37(4):410-5.
 14. Cromi A, Ghezzi F, Raffaelli R, Bergamini V, Siesto G, Bolis P. Ultrasonographic measurement of thymus size in IUGR fetuses: a marker of the fetal immunoendocrine response to malnutrition. *Ultrasound Obstet Gynecol.* 2009 Apr;33(4):421-6.
 15. El-Haieg DO, Zidan AA, El-Nemr MM. The relationship between sonographic fetal thymus size and the components of the systemic fetal inflammatory response syndrome in women with preterm prelabour rupture of membranes. *Bjog.* 2008 Jun;115(7):836-41.
 16. Yinon Y, Zalel Y, Weisz B, Mazaki-Tovi S, Sivan E, Schiff E, et al. Fetal thymus size as a predictor of chorioamnionitis in women with preterm premature rupture of membranes. *Ultrasound Obstet Gynecol.* 2007 Jun;29(6):639-43.
 17. Cohen J. *Statistical power analysis for the behavioral sciences* 2nd ed ed: Hillsdale, NJ: Lawrence Earlbaum Associates.; 1989.
-

CAPÍTULO IV
CONCLUSÕES

CONCLUSÕES

1. O uso de Betametasona para maturação pulmonar fetal pode estar associada à diminuição do timo fetal.
 2. Essa associação pode aumentar falsamente o número de fetos com timo abaixo do percentil < 5, caso a medida seja realizada após o uso de corticoide.
 3. As intervenções clínicas baseadas nas informações advindas da avaliação do timo fetal ainda necessitam de estudos multicêntricos com um número maior de pacientes para comprovar a sua real utilidade na propedêutica obstétrica.
-

ANEXO

ANEXO – TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

“Alterações do timo fetal secundárias ao uso de corticoide para maturação pulmonar”

Pesquisadores: Dr. Humberto Holmer Fiori, Dr. Gustavo Steibel

NOME DA PACIENTE:

Registro:

Você está sendo convidada, como voluntária, a participar desta pesquisa clínica, por estar grávida.

Objetivo: Avaliar as alterações fetais após o uso de corticoide para maturação pulmonar do feto.

Procedimentos: Será realizado uma ultrassonografia obstétrica antes do uso do corticoide e após 24 e 48 horas da administração do medicamento.

Benefícios: Para você e seu filho não haverá benefício algum.

Desconforto e Riscos: Nada será alterado na rotina do seu atendimento.

Sigilo: Seu médico irá tratar sua identidade com padrões profissionais de sigilo. Seu prontuário irá permanecer confidencial. Os participantes não serão identificados em nenhuma publicação que possa resultar deste estudo.

Participação/ Encerramento: Você é livre para recusar-se a participar ou retirar seu consentimento a qualquer momento. A participação é voluntária e a recusa em participar não acarretará em qualquer penalidade ou perda de benefícios.

Custos da Participação: Todos os procedimentos e exames laboratoriais para esta pesquisa serão fornecidos gratuitamente.

Não será disponível nenhuma compensação financeira adicional.

Declaração da Paciente:

Eu,..... fui informada dos objetivos da pesquisa acima de maneira clara e detalhada, tendo tempo para ler e pensar sobre a informação contida no termo de consentimento antes de entrar para o estudo. Recebi informação a respeito da investigação a ser realizada, esclareci minhas dúvidas e concordei voluntariamente em participar deste estudo. Além disso, sei que novas informações, obtidas durante o estudo, me serão fornecidas e terei liberdade de retirar meu consentimento de participação na pesquisa, em face dessas informações.

Fui informada de que, caso existirem danos a minha saúde, causados diretamente pela pesquisa, terei direito a tratamento médico e indenização conforme estabelece a lei.

Se necessitar de informações adicionais, o comitê de Ética em pesquisa da PUCRS está à disposição para perguntas no telefone 33203345, ou com Dr. Gustavo Steibel no telefone 33203000 (ramal 2222).

Declaro que recebi cópia do presente Termo de Consentimento.

_____/_____/_____
Nome da paciente Assinatura do paciente Data