MARISA AKEMI TAKENO

**Avaliação ultrassonográfica das dimensões
do timo fetal na insuficiência placentária**

Dissertação apresentada à Faculdade de Medicina
da Universidade de São Paulo para obtenção do
título de mestre em Ciências

Programa de Obstetrícia e Ginecologia

Orientadora: Prof^ª. Dr^ª. Roseli Mieko Yamamoto
Nomura

São Paulo

2013

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)

Preparada pela Biblioteca da
Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo

©reprodução autorizada pelo autor

Takeno, Marisa Akemi

Avaliação ultrassonográfica das dimensões do timo fetal na insuficiência
placentária / Marisa Akemi Takeno. -- São Paulo, 2013.

Dissertação(mestrado)--Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo.
Programa de Obstetrícia e Ginecologia.

Orientadora: Roseli Mieko Yamamoto Nomura.

Descritores: 1.Timo 2.Ultrassonografia pré-natal 3.Insuficiência placentária
4.Transtornos da nutrição fetal 5.Hipóxia fetal

USP/FM/DBD-414/13

*"Tudo vale a pena
Se a alma não é pequena."*

Fernando Pessoa

Dedicatória

Aos meus pais, que não mediram esforços para que os meus sonhos se realizassem. A vocês devo simplesmente tudo que sou e conquistei.

À minha irmã, pelo companheirismo e apoio constante.

Agradecimentos

À minha orientadora, Dra. **Roseli Mieko Yamamoto Nomura**,
que, além de ser exemplo de profissional ético, íntegro e
cuidadoso, é uma pessoa extremamente carismática e
generosa. Meus sinceros agradecimentos pela atenção,
dedicação, paciência, estímulo e rigor, que tornaram possível
a finalização deste trabalho.

Ao Professor **Marcelo Zugaib**, por permitir que eu fizesse parte dessa instituição, tão reconhecida por sua excelência, tanto no ensino aos alunos, quanto no atendimento aos pacientes.

Ao Dr. **Seizo Miyadahira**, por todos os ensinamentos sobre Vitalidade fetal, e pela avaliação cuidadosa do trabalho no exame de qualificação.

À Dra. **Rossana Pulcineli Vieira Francisco**, também presente na qualificação, pelos apontamentos enriquecedores, e pelo incentivo a todos os alunos da pós-graduação.

À Dra. **Maria de Lourdes Brizot**, por compartilhar seu profundo conhecimento sobre Medicina Fetal, e pelas sugestões valiosas que contribuíram para o aprimoramento deste trabalho.

Aos Doutores **Mário Henrique Burlacchini Carvalho**, **Adolfo Liao**, **Antonio Amorim**, **Javier Miguelez**, **Lisandra Stein Bernardes** e todos do setor da Medicina Fetal, por contribuírem para a minha formação profissional.

Aos Doutores **Silvio Martinelli**, **Renata Lopes Ribeiro** e **Alexandre Massao Nozaki**, pelas manhãs de muito aprendizado sobre Vitalidade Fetal na enfermaria.

Ao pessoal da **Liga do pré-natal**, por me ajudar a coletar os dados das pacientes do grupo controle.

Às colegas da pós-graduação **Mariane Maeda**, **Juliana Niigaki**, **Renata Saffioti** e **Verbênia Costa**, pelo auxílio inestimável na execução desta pesquisa.

Às queridas **Marcela Veira Xavier** e **Mariana Azevedo Carvalho**, pela amizade de longa data. Agradeço o companheirismo, apoio e

carinho, que foram essenciais para que eu me mantivesse firme nesta jornada.

Às amigas **Mariana Miyadahira, Janaína Negrão, Maria Claudia Nogueira, Carolina Maia, Bruna Barbosa, Milena Ribeiro, Renata Dourado, Karen Hettfleisch, Carolina Fiori, Carolina Villas Boas, Lorena Mesquita Caldas, Thais Borghi, Stela Sgavioli**: obrigada pela agradável convivência e pelo incentivo.

Aos **estagiários e alunos da pós-graduação da Medicina Fetal** mais “experientes”, por compartilharem suas experiências e, assim, enriquecer meu aprendizado.

Aos **funcionários da Clínica Obstétrica**, da secretaria, enfermagem e ambulatório, que, de alguma forma, contribuíram para o andamento do trabalho.

Às **gestantes**, generosas e pacientes, que aceitaram participar do estudo, sem esperar nada em troca, motivadas somente pelo desejo de contribuir para a pesquisa. Vocês são a razão maior para a realização deste trabalho.

Esta dissertação está de acordo com as seguintes normas, em vigor no momento desta publicação:

Referências: adaptado de *International Committee of Medical Journals Editors* (Vancouver).

Universidade de São Paulo. Faculdade de Medicina. Divisão de Biblioteca e Documentação. *Guia de apresentação de dissertações, teses e monografias*. Elaborado por Anneliese Carneiro da Cunha, Maria Julia de A. L. Freddi, Maria F. Crestana, Marinalva de Souza Aragão, Suely Campos Cardoso, Valéria Vilhena. 3a ed. São Paulo: Divisão de Biblioteca e Documentação; 2011.

Abreviaturas dos títulos dos periódicos de acordo com *List of Journals Indexed in Index Medicus*.

Sumário

Lista de abreviaturas e siglas

Lista de tabelas

Lista de figuras e gráficos

Resumo

Summary

1 INTRODUÇÃO	1
2 OBJETIVOS	7
3 REVISÃO DA LITERATURA	11
3.1 Desenvolvimento embriológico e fetal do timo	14
3.2 Fisiologia do timo	15
3.3 Avaliação das dimensões do timo fetal	18
3.4 Repercussões da insuficiência placentária no timo fetal	23
4 MÉTODOS	29
4.1 Critérios de inclusão	31
4.2 Critérios de exclusão	32
4.3 Grupos de alto risco e controle	32
4.4 Seleção de pacientes	32
4.5 Coleta de dados	33
4.5.1 Determinação da idade gestacional	34
4.5.2 Medida da circunferência cefálica e fêmur	34
4.5.3 Perfil biofísico fetal	35
4.5.4 Dopplervelocimetria	36
4.5.5 Avaliação do timo fetal	37
4.5.6 Variáveis estudadas	39
4.6 Análise estatística	40
4.7 Reprodutibilidade	41
4.7.1 Variação intraoperador	41
4.7.2 Variação interoperador	43
4.8 Caracterização da população	45
5 RESULTADOS	49
6 DISCUSSÃO	61
7 CONCLUSÕES	71
8 ANEXOS	75
9 REFERÊNCIAS	81

Listas

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

3D:	três dimensões
3VT:	três vasos (tronco comum da artéria pulmonar, artéria aorta ascendente e veia cava superior) e traqueia
ACM:	artéria cerebral média
AIG:	adequado para a idade gestacional
ANOVA:	análise de variância clássica
AU:	artéria umbilical
CA:	circunferência abdominal
CAPPesq:	Comissão de Análise de Projeto de Pesquisa
CC:	circunferência cefálica
CF:	comprimento do fêmur
DBP:	diâmetro biparietal
DOF:	diâmetro occipito-frontal
DP:	desvio-padrão
DR:	diástole reversa
DT:	diâmetro transverso
DUM:	data da última menstruação
DZ:	diástole zero
et al.:	e outros
FCF:	frequência cardíaca fetal
HCFMUSP:	Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo
HHa:	hipotálamo-hipófise-adrenal
IC:	intervalo de confiança
IG:	idade(s) gestacional(is)
IgE:	imunoglobulina E
ILA:	índice de líquido amniótico
IP:	índice de pulsatilidade
MHC:	moléculas de histocompatibilidade
p:	percentil
P:	perímetro
PBF:	perfil biofísico fetal
PFE:	peso fetal estimado
PIG:	pequeno para a idade gestacional
RCF:	restrição do crescimento fetal
RN:	recém-nascido(s)
RTE:	<i>recent thymic emigrants</i>
TCR:	<i>T cell receptor</i>

LISTA DE TABELAS

Tabela 1	Estudos que elaboraram tabelas de normalidade para medidas do timo fetal avaliado pela ultrassonografia	21
Tabela 2	Medidas de concordância intraoperador para diâmetro transversal e perímetro do timo fetal	42
Tabela 3	Medidas de concordância interoperador para diâmetro transversal e perímetro do timo fetal.....	43
Tabela 4	Características da população e dados do parto de acordo com os grupos com insuficiência placentária, gestação de alto risco e grupo controle – HCFMUSP – 2011 a 2013.....	45
Tabela 5	Dados referentes à idade gestacional no exame, avaliação do volume de líquido amniótico e dopplervelocimetria nos grupos com insuficiência placentária, gestação de alto risco e grupo controle – HCFMUSP – 2011 a 2013	46
Tabela 6	Medidas absolutas, em milímetros, do timo fetal avaliado pela ultrassonografia nos grupos com insuficiência placentária, gestação de alto risco e grupo controle – HCFMUSP – 2011 a 2013	51
Tabela 7	Resultados referentes ao diâmetro transversal do timo fetal avaliado pela ultrassonografia nos grupos com insuficiência placentária, gestação de alto risco e grupo controle – HCFMUSP – 2011 a 2013.....	52
Tabela 8	Resultados referentes ao perímetro do timo fetal avaliado pela ultrassonografia nos grupos com insuficiência placentária, gestação de alto risco e grupo controle – HCFMUSP – 2011 a 2013	53

LISTA DE FIGURAS E GRÁFICOS

Figura 1-	Imagem ultrassonográfica na região do timo fetal (T), em corte transverso do tórax, na altura dos vasos da base (Pu – tronco comum da artéria pulmonar; Ao – artéria aorta ascendente; VCS – veia cava superior).	38
Figura 2-	Medidas do diâmetro transverso (1) e do perímetro (2) do timo fetal, na altura dos vasos da base (Pu – tronco comum da artéria pulmonar; Ao – artéria aorta ascendente; VCS – veia cava superior).	39
Gráfico 1-	Gráfico de Bland-Altman representando a reprodutibilidade intraoperador das medidas do diâmetro transverso do timo fetal	42
Gráfico 2-	Gráfico de Bland-Altman representando a reprodutibilidade intraoperador das medidas do perímetro do timo fetal	43
Gráfico 3-	Gráfico de Bland-Altman representando a reprodutibilidade interoperador das medidas do diâmetro transverso do timo fetal	44
Gráfico 4-	Gráfico de Bland-Altman representando a reprodutibilidade interoperador das medidas do perímetro do timo fetal	44
Gráfico 5-	Representação do escore zeta do diâmetro transverso (A) e do perímetro (B) do timo fetal nos grupos com insuficiência placentária (IP), gestação de alto risco (AR) e grupo controle normal (NL). Traços horizontais indicam média e IC 95%. HCFMUSP – 2011 a 2013.	54
Gráfico 6-	Representação da relação do diâmetro transverso (A) e do perímetro (B) do timo fetal com o comprimento do fêmur (CF) nos grupos com insuficiência placentária (IP), gestação de alto risco (AR) e grupo controle normal (NL). Traços horizontais indicam média e IC 95%. HCFMUSP – 2011 a 2013.	55
Gráfico 7-	Representação da relação do diâmetro transverso (A) e do perímetro (B) do timo fetal com a circunferência cefálica (CC) nos grupos com insuficiência placentária (IP), gestação de alto risco (AR) e grupo controle normal (NL). Traços horizontais indicam média e IC 95%. HCFMUSP – 2011 a 2013.	56
Gráfico 8-	Valores de diâmetro transverso do timo fetal nos grupos com insuficiência placentária (IP), gestação de alto risco (AR) e gestação normal (NL) sobre os valores da curva de normalidade de Gamez et al. (2010).	57
Gráfico 9-	Valores de perímetro do timo fetal nos grupos com insuficiência placentária (IP), gestação de alto risco (AR) e gestação normal (NL) sobre os valores da curva de normalidade de Gamez et al. (2010).	58

Resumo

Takeño MA. **Avaliação ultrassonográfica das dimensões do timo fetal na insuficiência placentária** [Dissertação]. São Paulo: “Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo”; 2013.

Introdução: o timo é importante órgão linfóide do sistema imunológico. Estudos mostraram que, durante o período fetal, a atrofia desse órgão faz parte da resposta adaptativa do feto ao ambiente intrauterino adverso, como a desnutrição crônica causada pela insuficiência placentária. Essa situação pode explicar a associação entre restrição de crescimento intrauterino e as alterações no sistema imunológico após o nascimento, na infância e na adolescência. **Objetivos:** analisar as dimensões do timo fetal pela ultrassonografia em gestações com insuficiência placentária, comparando com gestações de alto risco sem insuficiência placentária e gestações de baixo risco. **Métodos:** estudo prospectivo com 30 gestações com insuficiência placentária (Doppler de artéria umbilical com índice de pulsatilidade $> p95$) comparadas com 30 de alto risco e 30 de baixo risco (grupo controle). Os critérios de inclusão foram: idade gestacional entre 26 e 37 semanas, feto único e vivo, ausência de malformações fetais, membranas íntegras, ausência de sinais de trabalho de parto, ausência de infecção materna ou fetal e não realização de corticoterapia antes da avaliação ultrassonográfica fetal. O timo fetal foi identificado na interface com os pulmões, na altura dos três vasos da base do coração, no corte do tórax fetal. Foram realizadas três medidas do diâmetro transverso (DT) e do perímetro (P) do timo, e as médias foram utilizadas para análise, transformadas em escores zeta, de acordo com a idade gestacional em que se efetuou a medida. Foram realizadas as medidas ultrassonográficas da circunferência cefálica (CC) e do comprimento do fêmur (CF) fetal, com as quais se calculou as relações DT/CF, DT/CC, P/CF e P/CC. **Resultados:** o grupo com insuficiência placentária apresentou mediana significativamente maior do escore zeta do IP da artéria umbilical quando comparado ao grupo de alto risco e controle (4,6 vs. -0,5 vs. -0,2, $p<0,001$). As medidas do timo fetal no grupo com insuficiência placentária [escore zeta do DT (média=-0,69; DP=0,83) e escore zeta do P (média=-0,73; DP=0,68)] foram significativamente ($p<0,001$) menores quando comparadas aos grupos de alto risco [escore zeta do DT (média=0,49; DP=1,13) e escore zeta do P (média=0,45; DP=0,96)] e controle [escore zeta do DT (média=0,83; DP=0,85) e escore zeta do P (média=0,26; DP=0,89)]. Nas relações estudadas, houve diferença significativa ($p<0,05$) na média dos grupos: insuficiência placentária (DT/CC=0,10, P/CF=1,32 e P/CC=0,26); alto risco (DT/CC=0,11, P/CF=1,40 e P/CC=0,30) e controle (DT/CC=0,11, P/CF=1,45 e P/CC=0,31). **Conclusão:** em gestações complicadas pela insuficiência placentária, ocorre redução das dimensões do timo fetal sugerindo que pode ser decorrente da adaptação fetal ao ambiente intrauterino adverso.

Descritores: Timo; Ultrassonografia pré-natal; Insuficiência Placentária; Transtornos da Nutrição Fetal; Hipóxia Fetal

Summary

Takeño MA. **Ultrasonographic evaluation of fetal thymus in pregnancies with placental insufficiency** [Dissertação]. São Paulo: “Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo”; 2013.

Introduction: thymus gland is an important lymphoid organ involved in immune response. Studies have shown that during fetal life, thymus atrophy is part of an adaptive response to a compromised intrauterine environment, like chronic malnutrition due to placental insufficiency. This may explain the association between intrauterine growth restriction and later altered immune function. **Objective:** to evaluate fetal thymus by ultrasonography in pregnancies with placental insufficiency and compare to high risk pregnancies without placental insufficiency and low risk pregnancies. **Methods:** a prospective study with 30 pregnancies with placental insufficiency (umbilical artery Doppler with pulsatility index $> p95$), compared to 30 high risk pregnancies and 30 low risk pregnancies (control group). The inclusion criteria were: gestational age ranging from 26 to 37 weeks, singleton pregnancies, absence of fetal malformations, intact membranes, not in labor, no signs of maternal or fetal infection, and no corticotherapy before the ultrasound evaluation. Fetal thymus was identified in its interface with the lungs, at the level of the tree-vessel view of the fetal thorax. Three measures of thymus transverse diameter (TD) and perimeter (P) were made, and the media were converted into zeta score according to the gestational age. Head circumference (HC) and femur length (F) were also measured and used in the calculation of the relations TD/F, TD/HC, P/F, P/HC. **Results:** the group with placental insufficiency presented median of umbilical artery PI elevated, when compared to high risk pregnancies and low risk pregnancies (4.6 vs. -0.5 vs. -0.2, $p<0.001$). Fetal thymus measurements were significantly ($p<0.001$) lower in pregnancies with placental insufficiency [TD zeta score (media=-0.69; SD=0.83) and P zeta score (media=-0.73; SD=0.68)] when compared to high risk pregnancies [TD zeta score (media=0.49; SD=1.13) and P zeta score (media=0.45; DP=0.96)] and control group [TD zeta score (media=0.83; SD=0.85) and P zeta score (media=0.26; SD=0.89)]. There was significant difference ($p<0,05$) in the relations studied among the groups: pregnancies with placental insufficiency (TD/HC=0.10, P/F=1.32 e P/HC=0.26), high risk pregnancies (TD/HC=0.11, P/F=1.40, P/HC=0.30) and control group (DT/HC=0.11, P/F=1.45, P/HC=0.31). **Conclusion:** fetal thymus measurements are reduced in pregnancies with placental insufficiency, suggesting that it is a fetal adaptive response for adverse environment.

Descriptors: Thymus Gland; Ultrasonography, prenatal; Placental Insufficiency, Fetal Nutrition Disorders; Fetal Hypoxia

Introdução

A relação entre nutrição e imunidade é tema bastante consolidado na literatura ^[1-3]. O estado de desnutrição crônica faz aumentar a morbidade e a mortalidade causadas por infecções, como varicela, tuberculose, doenças intestinais parasitárias e bacterianas, malária, herpes e pneumonia, entre outras ^[4]. Uma das razões que explica essa vulnerabilidade é o fato de a desnutrição crônica promover mudanças estruturais e funcionais de órgãos do sistema imunológico, como o timo e o baço ^[5, 6]. O mesmo pode ocorrer durante o período gestacional, de forma que a desnutrição crônica fetal passa a influenciar o desenvolvimento do sistema imunológico.

O timo é um órgão linfoide primário, responsável pela produção, seleção e maturação de linfócitos T e a sua diferenciação em células CD4 e CD8. É constituído por dois lobos, que são subdivididos em vários lóbulos. Cada um deles possui duas regiões distintas: o córtex e a medula ^[7]. O estado de inanição promove intensa atrofia do timo, inicial e principalmente da sua região cortical; e faz com que o número de linfócitos se torne bastante reduzido ^[5].

Esse órgão se forma ao final da quarta semana da fase embrionária e se desenvolve por todo o período fetal ^[7]. Durante a gestação, a desnutrição crônica pode se manifestar nos fetos nos casos de insuficiência placentária. Nessa condição patológica, a função da placenta encontra-se prejudicada, limitando a oferta de

nutrientes e oxigênio ao concepto. Dessa forma, ele não cresce adequadamente, resultando na restrição de crescimento fetal (RCF) ^[8].

O primeiro estudo que investiga a atrofia do timo na insuficiência placentária é o de Hartge et al. ^[9], publicado em 1978. Esses autores avaliam 20 casos *post-mortem* (fetos e recém-nascidos) que sofreram desnutrição crônica intrauterina e morte perinatal, ocorridos entre 1970 e 1974. Os órgãos, com enfoque no timo e glândulas adrenais, são pesados e analisados histologicamente. Verificam que, na insuficiência placentária, há redução do peso do timo abaixo do valor esperado para a redução do peso corpóreo. O quadro histológico descrito é de depleção linfocitária, chegando à exaustão. Esses e outros achados, como as lesões hipóxico-isquêmicas do cérebro, podem ser utilizados por patologistas para determinar o grau de desnutrição sofrida no ambiente intrauterino e diferenciar fetos com RCF daqueles pequenos para a idade gestacional (PIG) constitucional ^[10].

Com isso, observa-se que a insuficiência placentária pode influenciar no desenvolvimento do sistema imune. Estudos mostram que crianças que nasceram a termo com baixo peso (abaixo de 2500 gramas) apresentam maiores taxas de mortalidade e de índices de hospitalização no primeiro ano de vida ^[11], e risco aumentado de adquirirem infecções respiratórias e diarreia ^[12]. Thilaganathan et al. ^[13], em estudo que analisa o sangue fetal obtido por cordocentese, em 19 gestações com insuficiência placentária, entre 24 e 37 semanas, constatam que a contagem sérica de linfócitos T CD4 e CD8 está reduzida, em comparação com a média normal para a gestação. Recém-nascidos (RN) PIG também apresentam menor contagem de linfócitos totais e subtipos CD4 e CD8 em análise de sangue periférico, comparados àqueles que nasceram com peso adequado para a idade gestacional (AIG) ^[14, 15].

Além disso, observa-se que esses RN que sofreram RCF apresentam imunidade celular prejudicada, demonstrada pela reação de hipersensibilidade cutânea tardia ^[14].

Com o aprimoramento das tecnologias de imagem, verifica-se que o timo é órgão passível de ser avaliado no período intrauterino, principalmente pela ultrassonografia. Por se localizar no mediastino, atrás do esterno, entre os lobos pulmonares e acima do coração ^[7], ele pode ser identificado no corte do tórax fetal, na altura dos três vasos que emergem da base do coração (tronco comum da artéria pulmonar, artéria aorta ascendente e veia cava superior) ^[16]. Os primeiros autores a estudar o timo fetal pela ultrassonografia foram Felker et al., em 1989, medindo o seu diâmetro anteroposterior ^[17]. Apesar de a descrição inicial ter sido relatada na década de 80, somente nos anos 2000, com o avanço da tecnologia e dos aparelhos de ultrassonografia, surgem outros estudos avaliando as dimensões do timo no período antenatal. Algumas curvas de normalidade são realizadas para medidas de diâmetro transverso (DT) e perímetro (P) desse órgão ^[18-21]. É demonstrado também que o tamanho do timo não difere conforme o sexo fetal ^[20] ou quando comparadas gestações únicas e gemelares ^[21].

Apesar de o timo fetal ser bastante estudado pela ultrassonografia, poucos trabalhos na literatura o avaliam em situações de insuficiência placentária. Em 2008, Cromi et al. ^[22] analisam o P do timo à ultrassonografia, em fetos com RCF, observando menores valores quando comparados aos AIG. Fetos restritos com oligoâmnio e centralização também apresentam medidas menores desse órgão. Olearo et al. ^[23] utilizam o recurso tridimensional da ultrassonografia para comparar a relação volume do órgão / circunferência abdominal (CA) entre fetos com RCF e AIG, obtendo relações menores no primeiro grupo.

Observa-se que a interferência que o timo sofre, durante o seu desenvolvimento no período antenatal, pode levar a repercussões significativas na função do sistema imunológico na infância e na vida adulta. Diante da importância disso, somado à escassez de estudos na literatura, a presente pesquisa buscou estudar as dimensões do timo fetal pela ultrassonografia em gestações complicadas pela insuficiência placentária.

Objetivos

O presente estudo tem como objetivo avaliar as medidas do diâmetro transverso e perímetro do tórax fetal em gestantes com insuficiência placentária e comparar:

- a) com as medidas do tórax fetal de gestações de alto risco sem insuficiência placentária;
- b) com as medidas do tórax fetal de gestações de baixo risco;
- c) as relações com algumas medidas da biometria fetal.

Revisão de Literatura

O timo é um órgão linfoide primário de extrema importância para o sistema imunológico, pois é responsável pelo estabelecimento inicial de todo o repertório funcional de linfócitos T do organismo. Localiza-se no mediastino superior, acima do coração, atrás do esterno e à frente dos grandes vasos da base: tronco comum da artéria pulmonar, artéria aorta ascendente e veia cava superior ^[7].

É constituído por dois lobos, cada um subdividido em vários lóbulos por septos de tecido conjuntivo trabecular. Os lóbulos são considerados a unidade funcional do timo. Histologicamente, o timo pode ser dividido em duas regiões distintas: córtex e medula, onde se localiza uma variedade de células, tanto fixas quanto transitórias ^[24].

O córtex e a medula desempenham diferentes papéis no desenvolvimento dos linfócitos T. As células do timo podem ser divididas em: estromais e de origem hematopoiética. As estromais incluem as células epiteliais corticais e medulares, e células dendríticas. Os linfócitos T em desenvolvimento são denominados timócitos.

3.1 Desenvolvimento embriológico e fetal do timo

Durante a vida embrionária, os primeiros indícios de tecido tímico surgem ao final da quarta semana. Sua organogênese é dividida em cinco fases: posicionamento, indução, crescimento, padronização e diferenciação. Nas três primeiras, ocorre a formação de um órgão rudimentar e o seu estabelecimento no local definitivo, o mediastino superior. Nas fases seguintes, o timo passa por processo de desenvolvimento e diferenciação de seus tipos celulares ^[24].

O timo é formado pela interação das três linhagens embriológicas diferentes: endoderme (células epiteliais do terceiro par de bolsas faríngeas), neuroectoderme (mesênquima da crista neural) e mesoderme (células hematopoiéticas e endoteliais). Existem dois modelos de organogênese do timo. O primeiro defende a ideia de que células da ectoderme do terceiro par de bolsas faríngeas também têm participação na formação do timo, e que, futuramente, elas dariam origem à região cortical do órgão, enquanto as células endodérmicas originariam a região medular. O segundo sustenta que somente a endoderme do terceiro par de bolsas faríngeas é responsável pela formação do córtex e da medula ^[25]. Estudos experimentais em ratos sugerem que a endoderme é a responsável por promover a indução do timo, e que só ela seria suficiente para formar a maior parte dos subtipos celulares ^[26].

As células da neuroectoderme, durante o começo da organogênese, respondem à sinalização da endoderme e migram do tubo neural dorsal para o mediastino, originando a cápsula mesenquimal e o tecido conectivo perivascular que penetra os lobos tímicos. A falha na migração dessas células resulta em

comprometimento da formação do timo. A presença das células mesenquimais é essencial para o crescimento das células epiteliais e sua diferenciação ^[26].

Em torno da décima semana do desenvolvimento embrionário, o timo rudimentar – composto pelas células epiteliais do terceiro par de bolsas faríngeas rodeadas pela cápsula mesenquimal e tecido conectivo – é colonizado por células hematopoiéticas, provenientes do omento, saco vitelínico e fígado. Essas células se tornam as células precursoras de timócitos ^[7, 26].

A diferenciação entre córtex e medula do timo acontece por volta da 12^a semana e é resultado da complexa interação interdependente do desenvolvimento das células epiteliais e dos timócitos. Experimentos em ratos, bloqueando o desenvolvimento dos timócitos, mostram que a diferenciação das células epiteliais também fica prejudicada e que não ocorre a organização dos compartimentos do órgão ^[7, 26].

No timo maduro, o córtex é povoado principalmente por timócitos imaturos em proliferação, enquanto a medula, pelos timócitos maduros. O desenvolvimento das células ocorre à medida que elas migram da região periférica para a central do órgão ^[7].

3.2 Fisiologia do timo

Para garantir a sobrevivência do organismo, é necessário que seu sistema imunológico esteja preparado para combater agentes estranhos e processos infecciosos. No timo, os timócitos recebem uma diversidade de receptores (*T cell*

receptors – TCR), que são fundamentais para o reconhecimento de diferentes tipos de antígenos. Além disso, é essencial que os linfócitos T recém-formados não induzam reação contra elementos do próprio organismo ^[7].

No córtex do timo, timócitos imaturos, por meio dos TCR, interagem com moléculas de histocompatibilidade (MHC), presentes nas membranas das células epiteliais. As MHC são responsáveis por apresentar antígenos aos timócitos, tanto próprios como não próprios (estranhos). Aqueles que possuem TCR com afinidade muito alta ou muito baixa aos antígenos do MHC sofrem apoptose. Esse processo é denominado de “seleção positiva” ^[7].

Ainda no córtex, os timócitos passam a expressar em suas membranas os receptores CD4 e CD8, sendo então denominados de “duplos positivos”. Essas são as células mais comuns do timo, chegando a representar 80% do total de timócitos ^[25]. Mas logo amadurecem e se tornam “simples-positivos”, quando passam a apresentar somente o receptor CD4 ou CD8, transformando-se em linfócito T *helper* ou citotóxico, respectivamente ^[7, 27]. Os linfócitos T CD4 predominam sobre os CD8 e, juntos, representam 15% do total de timócitos no timo ^[25].

Os linfócitos T migram para a medula, onde são submetidos ao processo de “seleção negativa”. Eles interagem, por meio do contexto das MHC, com antígenos próprios apresentados por células dendríticas, macrófagos e células epiteliais; e aqueles que apresentarem uma grande afinidade também sofrem apoptose. Dessa forma, sobrevivem apenas linfócitos que promovem reação contra antígenos não-próprios e que possuem receptores para uma variedade de agentes estranhos, conferindo imunidade a diferentes tipos de processos infecciosos ^[7]. A apoptose também previne a proliferação descontrolada de linfócitos, evitando doenças

relacionadas ao sistema imunológico, como os tumores linfoides e as doenças autoimunes [28].

Sabe-se que os glicocorticoides exercem papel fundamental no processo de seleções positiva e negativa no timo. Isso ocorre porque os receptores dessas substâncias que existem nos timócitos, quando estimulados, entre outras funções, atuam no controle da morte celular programada. Muitos modelos postulam a teoria de que é o desequilíbrio entre as sinalizações emitidas pelos TCR e pelos glicocorticoides que promove a apoptose dos timócitos. No modelo de “antagonismo mútuo”, quando os TCR e os receptores de glicocorticoides são simultaneamente estimulados, eles se neutralizam e esse equilíbrio faz a seleção positiva do timócito. Quando os TCR possuem baixa afinidade pelos antígenos das MHC, eles emitem pouco sinal, fazendo com o que os sinais emitidos pelos glicocorticoides predominem, levando à apoptose da célula. Por outro lado, quando os TCR possuem alta afinidade pelos antígenos próprios, sua sinalização predomina sobre a dos glicocorticoides, também induzindo à apoptose do timócito [28, 29]. Evidências sugerem que, no próprio timo, há produção de pequena quantidade dessas substâncias, que auxiliam na regulação desse processo. É devido a essa atuação que glicocorticoides são a droga mais prescrita para o tratamento de doenças hematopoiéticas malignas, como leucemia, linfoma e tumores de células mieloides [28].

Linfócitos T CD4 e CD8 (maduros) deixam o timo na forma de “emigrantes tímicos recentes” (*recent thymic emigrants* - RTE) e passam a circular na corrente sanguínea e outros órgãos linfoides. A meia vida dessas células nos humanos ainda não é conhecida, o que torna difícil quantificar a sua produção pelo timo por dia [27].

Os linfócitos T citotóxicos têm como principal função destruir células do organismo infectadas por vírus ou células tumorais, e também estão associados ao processo de rejeição de órgãos transplantados. Os linfócitos T *helper* atuam auxiliando na ativação de outras células, como os próprios linfócitos T citotóxicos, macrófagos e linfócitos B.

Com o passar do tempo, o timo sofre processo de involução fisiológica. É nos primeiros meses de vida que ele tem o maior tamanho, em relação ao peso corpóreo ^[7]. Também é por volta do primeiro ano de vida que a produção por dia de células CD4 e CD8 atinge os seus valores máximos ^[30]. A involução tem início na puberdade, quando tecido linfoide começa a ser gradativamente substituído por tecido adiposo, declinando também o processo de linfopoiese pelo resto da vida.

3.3 Avaliação das dimensões do timo fetal

Durante a vida fetal, o timo pode ser identificado e reconhecido por meio da ultrassonografia ou da ressonância nuclear magnética.

A primeira curva de normalidade das dimensões do timo fetal estabelecida na literatura foi descrita em 1989, por Felker et al. ^[17], pela ultrassonografia. Nesse estudo, o timo é identificado em apenas 74% das pacientes estudadas e a medida realizada é o diâmetro anteroposterior do órgão. Posteriormente, com o avanço da tecnologia dos aparelhos ultrassonográficos, outros autores voltam a estudar as dimensões do timo fetal. Nesses estudos, a técnica utilizada para a identificação e medição do órgão é a mesma: na altura do tórax fetal, no corte denominado 3VT (vasos da base do coração – tronco comum da artéria pulmonar, artéria aorta

ascendente e veia cava superior – e traqueia) ^[16], o timo pode ser identificado como uma estrutura hipoeecogênica, em relação aos pulmões, localizada entre os lobos pulmonares, à frente dos vasos da base e atrás do esterno.

Após esse estudo inicial, Zalel et al. ^[18], em 2002, são os primeiros autores a estudar as dimensões do timo fetal pela ultrassonografia. Nesse trabalho, o órgão não é identificado em apenas três pacientes (menos de 1% do total estudado), devido à obesidade materna e à posição fetal desfavorável. Avaliando 403 fetos normais, desenvolvem tabela de normalidade das medidas do P do timo, entre 14 e 38 semanas de gestação. O P é medido pela função do traçado contínuo da ultrassonografia, delineando o contorno do órgão. Essa medida é utilizada por se tratar de indicador mais fidedigno do tamanho do timo, em relação ao diâmetro anteroposterior, devido à sua forma assimétrica.

Em 2007, Cho et al. ^[19] propõem estudar outro parâmetro de medida do timo fetal: o DT. Considerado mais fácil e rápido de ser mensurado do que o P pela ultrassonografia, o DT é medido posicionando os calipers de modo a estabelecer um diâmetro perpendicular a uma reta que conecta o centro do esterno até a vértebra. Os autores observam que os valores de DT do timo crescem de acordo com o aumento da idade gestacional (IG), diâmetro biparietal (DBP), comprimento do fêmur (CF) e circunferência cefálica (CC), de forma linear. Portanto, além da curva de normalidade para as medidas do DT, entre 19 e 38 semanas de gestação, o estudo apresenta as equações de regressão linear que representa as correlações entre as medidas do timo e os demais parâmetros.

A avaliação das medidas de DT e P é realizada, pela primeira vez, em conjunto, no estudo de De Leon-Luiz et al. ^[20], em 2009. Utilizando o mesmo

método de mensuração que os trabalhos anteriores, os autores avaliam 59 fetos, entre 24 e 37 semanas, e comparam tanto DT quanto P entre os sexos masculino (n=35) e feminino (n=24). Verificam que não há diferença estatística dessas medidas entre os grupos. Nesse estudo, também, são realizadas a reprodutibilidade intraobservador das medidas, a construção das curvas de normalidade dos valores e a elaboração de equações de regressão linear, representando correlação positiva entre DT e P e os seguintes parâmetros: IG, DBP, CA e CF.

Gamez et al. ^[21], em 2010, realizam estudo prospectivo observacional, avaliando DT e P do timo fetal pela ultrassonografia, e também desenvolvem curvas de normalidade para esses valores. As medidas são realizadas no mesmo corte ultrassonográfico e pelos métodos que os trabalhos anteriores utilizam. Nesse estudo, comparam medidas de timo de 678 fetos de gestações únicas com 112 fetos de gestações gemelares, entre 19 e 38 semanas; e verificam que não existe diferença estatística entre os grupos. Constata-se também que as medidas do órgão não diferem, quando comparados os gemelares monocoriônicos e dicoriônicos. A avaliação do timo fetal é possível em 97,2% das gestações únicas e 87,5% das gemelares. O estudo também demonstra que há correlação positiva entre DT e P; e entre ambas as medidas e outros parâmetros, como IG, DBP, CA, CF e perímetro torácico, apresentando as equações de regressão linear.

Tabela 1 - Estudos que elaboraram tabelas de normalidade para medidas do timo fetal avaliado pela ultrassonografia

AUTORES	ANO	MEDIDAS DO TIMO FETAL	NÚMERO DE CASOS
Felker et al.	1989	Diâmetro anteroposterior	340
Zalel et al.	2002	Perímetro	403
Cho et al.	2007	Diâmetro transverso	376
De Leon-Luiz et al.	2009	Diâmetro transverso e perímetro	35 masculinos 24 femininos
Gamez et al.	2010	Diâmetro transverso e perímetro	678 fetos únicos 112 fetos gemelares

Outras formas de avaliação do timo fetal têm sido propostas recentemente, pela ultrassonografia, além das medidas de DT e P, visando principalmente a comparação entre fetos normais com portadores de cardiopatias congênitas, que cursam comumente com hipoplasia tímica. Com esse objetivo, Chaoui et al.^[31] desenvolvem o “índice tímico-torácico” (*thymic-thoracic ratio*), em 2011. Nesse estudo, o diâmetro anteroposterior do timo é determinado utilizando-se uma reta, que liga a artéria aorta ascendente e o esterno. Em seguida, é obtida a medida do diâmetro sagital mediastinal, que consiste na distância entre a borda anterior do corpo vertebral e o esterno. O índice tímico-torácico é então calculado pela relação entre o diâmetro anteroposterior do timo e o diâmetro sagital mediastinal. Os autores constatarem que essa relação independe da IG, e que fetos com cardiopatia congênita apresentam valores menores, quando comparados aos normais. Esse método de avaliação do timo é utilizado novamente nos anos seguintes, em fetos com trissomia dos cromossomos 13, 18 e 21^[32] e cardiopatas portadores da deleção do 22q11.2^[33].

Esses estudos constataam que o índice tímico-torácico é menor nos portadores das síndromes de Edward e Down, quando comparados a fetos sem cromossomopatias; e nos fetos portadores da deleção 22q11.2, quando comparados a fetos normais e cardiopatas sem essa deleção.

A ultrassonografia em três dimensões (3D) é utilizada por Li et al. ^[34], em 2011, para avaliar os timos de fetos normais, portadores de cardiopatias congênitas e de gestações gemelares. Esse é o único estudo da literatura que desenvolve tabela de normalidade para valores de volume do órgão. Os autores comparam fetos de gestações únicas e gemelares (não verificando diferença significativa) e fetos normais e com cardiopatia congênita (verificando volumes significativamente menores no grupo com malformação) e estabelecem correlação positiva do volume tímico com a IG.

Em algumas situações, como obesidade materna e oligoâmnio, é difícil a obtenção de imagem adequada do timo fetal pela ultrassonografia, principalmente na RCF. Por esse motivo, De Leon-Luiz et al. ^[35] realizam estudo comparando medidas do DT e P obtidos pela ultrassonografia e pela ressonância nuclear magnética, e observam que não existe diferença entre os métodos. Portanto, a ressonância nuclear magnética também pode ser utilizada como ferramenta de avaliação desse órgão durante a gestação.

3.4 Repercussões da insuficiência placentária no timo fetal

A insuficiência placentária é condição patológica em que a circulação na placenta encontra-se prejudicada, restringindo cronicamente a oferta de oxigênio e nutrientes para o feto. Numa gestação normal, entre a 16^a e a 22^a semana, ocorre a segunda onda de invasão trofoblástica, em que o trofoblasto atinge o miométrio do útero, modificando a camada muscular média das artérias espiraladas. Na insuficiência placentária, há deficiência desse processo, e as artérias espiraladas mantêm a camada muscular média intacta, fazendo com que tenham menor diâmetro e maior resistência ^[36, 37]. Pode ser causada por doenças maternas, como hipertensão arterial crônica, nefropatias crônicas, cardiopatias, pneumopatias, anemias, colagenoses, trombofilias, doença hipertensiva específica da gestação, tabagismo, uso de drogas ilícitas, entre outras ^[38], ou ser de origem idiopática.

Muitas vezes, essa limitação, ao afetar o desenvolvimento fetal, causa a RCF. Nessas situações, o feto não consegue atingir o seu potencial genético de crescimento e pode ter repercussões no seu desenvolvimento ^[10].

A insuficiência placentária pode ser diagnosticada pela dopplervelocimetria, mais frequentemente nas gestações de alto risco. Quando cerca de 30% da vascularização dos vilos placentários estiver comprometida, o sonograma da artéria umbilical (AU) mostra diminuição no fluxo diastólico. A diástole zero (DZ) e a reversa (DR) aparecem quando 60 a 70% da vascularização estiver afetada, caracterizando a insuficiência placentária grave ^[39]. A vasodilatação cerebral é identificada pelo aumento do fluxo diastólico na artéria cerebral média (ACM), quando ocorre centralização fetal. Cerca de 80% dos fetos restritos apresentam

vasodilatação cerebral duas semanas antes da deterioração aguda^[40]. Esse fenômeno, por si só, não está relacionado à acidemia fetal, e mostra o estado de adaptação do feto às adversidades. Outros eventos que podem ocorrer na insuficiência placentária são: diminuição do líquido amniótico (marcador crônico) e menor pontuação nos marcadores agudos do perfil biofísico fetal (PBF)^[41].

Estudos sugerem que possa existir associação entre insuficiência placentária e o processo de atrofia tímica^[9, 10]. No contexto da centralização fetal, as glândulas adrenais recebem maior aporte sanguíneo e apresentam hiperplasia, promovendo maior produção de cortisol^[42]. Além disso, a desnutrição crônica gera situação de estresse, que promove a ativação do eixo hipotálamo-hipófise-adrenal (HHA), contribuindo também para o aumento nos níveis plasmáticos de cortisol^[43]. Esse e outros hormônios catabólicos (catecolaminas e o hormônio do crescimento) têm a produção aumentada, em detrimento da diminuição dos anabólicos (insulina e tiroxina)^[39, 44]. Em condições normais, níveis de glicocorticoides no feto são baixos e provêm principalmente da circulação materna. Eles ainda são convertidos em seus metabólitos inativos pela placenta. O aumento da produção de cortisol pelas glândulas adrenais do feto é sinal de adversidade do ambiente intrauterino. Entre outros efeitos, os glicocorticoides estimulam mudanças morfológicas e funcionais de diversos órgãos, como pulmão, fígado, rins, músculo, gordura e intestino, promovendo adaptações com melhores chances de sobrevivência, tanto dentro como fora do útero^[44].

O tecido linfóide e outros tipos celulares (como osteoclastos e osteócitos) são altamente sensíveis a glicocorticoides. No timo, principalmente os linfócitos T imaturos duplo-positivos (aqueles que expressam tanto receptores CD4 quanto CD8

nas membranas) sofrem o processo de apoptose induzido por glicocorticoides. Estes atuam nos linfócitos por meio de vários mecanismos moleculares conhecidos. No núcleo, ativam endonucleases cálcio-dependentes clivadoras de DNA ^[25]. Em adição, receptores de glicocorticoides funcionam como reguladores de transcrição e, desse modo, induzem a expressão de genes cujos produtos causam morte celular, ou interferem na transcrição de fatores que são indispensáveis à sobrevivência da célula ^[45]. A apoptose também ocorre devido a processos citoplasmáticos, como oxidação mitocondrial, ativação da protease calpaína e diminuição na concentração intracelular de potássio ^[25].

Estudos experimentais em ratos confirmam que a exposição a altas concentrações de glicocorticoides levam à redução do número total de timócitos, e isso é decorrente do aumento de morte celular e não da diminuição da proliferação ^[46]. Essa redução ocorre, principalmente, às custas de depleção nas células imaturas duplo-positivas e causam a atrofia tímica, evidenciada pela diminuição do peso do órgão ^[43, 47]. A atuação dos glicocorticoides parece estar restrita apenas aos timócitos, poupando os outros tipos celulares presentes no timo, como as células epiteliais, macrófagos e células dendríticas ^[48]. O contrário também acontece: a adrenalectomia bilateral promove hipertrofia tímica ^[45, 46], fazendo aumentar o peso desse órgão e o número de linfócitos T duplo-positivos ^[47].

Outra substância que parece envolvida na fisiopatologia da atrofia tímica, nos casos de desnutrição crônica, é a leptina. Em condições normais, a leptina é produzida pelos adipócitos e tem como principal função sinalar ao hipotálamo a quantidade de energia armazenada nos tecidos periféricos, induzindo a sensação de saciedade no indivíduo e diminuindo o consumo de alimentos ^[49]. Ela ainda

influencia muitas células do sistema imune (como macrófagos, neutrófilos, células dendríticas, células *natural killer*) e modula a produção de citocinas pelas células CD4^[43]. Estudos em animais com deficiência de receptores de leptina mostram que eles apresentam atrofia de tecidos linfoides, especialmente o timo, demonstrando que essa substância tem papel importante na preservação do sistema imunológico^[50]. Nos casos de desnutrição crônica, como nos fetos com RCF, ocorre a diminuição na produção de leptina. Teorias postulam que o desequilíbrio entre as produções de leptina (diminuída) e de glicocorticoides (aumentada) é parcialmente responsável pela depleção dos timócitos e consequente atrofia do timo^[48, 50].

Alguns corticoesteroides sintéticos administrados na gestante, como a dexametasona e a betametasona – utilizados para maturação pulmonar fetal – atravessam a membrana placentária, sem sofrer ação da enzima que inativa os glicocorticoides fisiológicos maternos^[51], podendo causar involução do timo^[43]. Os corticoides, quando administrados em doses farmacológicas, também promovem morte celular dos linfócitos duplo-positivos, enquanto os simples-positivos permanecem insensíveis^[28]. Steibel et al.^[52], em 2011, demonstram que a corticoterapia para maturação pulmonar fetal pode influenciar a involução tímica. Nesse estudo, são realizadas medidas do timo fetal (DT e P) pela ultrassonografia em três diferentes ocasiões: antes da aplicação intramuscular de betametasona, 24 e 48 horas após. As medidas aferidas após a corticoterapia são significativamente menores, quando comparadas às anteriores.

Evidências sugerem que o tamanho do timo está diretamente relacionado à competência do sistema imune^[53]. Recém-nascidos com timos pequenos medidos à ultrassonografia apresentam maior susceptibilidade a infecções no primeiro ano de

vida ^[54, 55]. Isso decorre da apoptose dos timócitos, que contribui para a redução do número absoluto de linfócitos RTE, além de comprometer a qualidade do repertório de células T maduras ^[43].

As células CD4 são responsáveis pela produção de inúmeras citocinas que, durante a resposta imunológica, ativam outras células para combater determinados patógenos. Existem dois tipos de resposta inflamatória mediados pelo sistema imunológico, de acordo com os tipos de citocinas que a célula CD4 produz: Th1 e Th2. A primeira é basicamente responsável por combater patógenos intracelulares, como vírus e bactérias (resposta imune celular). A resposta Th2 está associada à resposta eosinofílica e produção de imunoglobulinas E (IgE) pelos linfócitos B ^[56]. Estudos sugerem que crianças e adolescentes que nascem PIG possuem desbalanço nas respostas Th1 / Th2, com resposta imune celular deficiente em decorrência da redução na população de linfócitos T, favorecendo, assim, a resposta Th2, com aumento na produção de IgE ^[57, 58]. Doenças atópicas, como asma e eczema, ocorrem, com maior frequência, em indivíduos com predominância da resposta Th2 sobre a Th1, e especula-se que seja possível reduzir a incidência dessas doenças melhorando a resposta imune celular ^[56].

Apesar de os estudos mostrarem a relação entre RCF e alteração na imunidade pós-natal, poucos abordam o timo fetal na insuficiência placentária. Cromi et al. ^[22], em 2008, analisam os P de timos à ultrassonografia em 60 fetos com RCF, comparando com 60 fetos AIG. Nesse trabalho, valores menores são observados no primeiro grupo. As relações entre P do timo e DBP, CF, CA e peso fetal estimado (PFE) são avaliadas e também se mostram menores nos fetos restritos. Além disso, os autores realizam análise interna no grupo da RCF, e verificam que há

diferença estatística entre as medidas nos fetos com oligoâmnio e centralização (reduzidas), quando comparados àqueles com líquido amniótico normal e Doppler de ACM normal.

Em 2012, Olearo et al. ^[23] estudam o timo fetal pela ultrassonografia 3D e comparam a relação entre volume do órgão e CA entre fetos AIG e PIG (constitucional e RCF). Novamente, relações menores foram encontradas no segundo grupo. Ainda, fetos com RCF e Doppler alterado de AU apresentam volume do órgão menor do que os PIG constitucional.

Por fim, Damodaram et al. ^[59] realizam análise de vários órgãos em fetos com RCF pela ressonância nuclear magnética, e também observam volume de timo fetal reduzido nesses casos. Analisam 20 casos de RCF e comparam com 19 fetos com crescimento normal, na segunda metade da gestação. Concluem que o método tem acurácia na mensuração do crescimento de órgãos fetais.

As pesquisas sobre a influência das adversidades no meio intrauterino são de extrema importância no meio científico, pois auxiliam no entendimento das modificações na fisiologia fetal que podem levar ao surgimento de problemas na vida adulta. Por isso, é necessário mais pesquisas envolvendo insuficiência placentária e avaliação do timo fetal.

Métodos

Trata-se de estudo prospectivo observacional, do tipo caso-controle, realizado na Clínica Obstétrica do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo (HCFMUSP), no período compreendido entre novembro de 2011 e outubro de 2013.

O projeto de pesquisa e o termo de consentimento livre e esclarecido foram aprovados pela Comissão de Ética em Pesquisa do HCFMUSP – CAPPesq (Comissão de Análise de Projetos de Pesquisa), protocolado sob o número 0767/11 (**Anexo 1**).

4.1 Critérios de inclusão

Foram incluídas no estudo as gestantes que apresentavam:

- Gestações entre 26 e 37 semanas;
- Feto único e vivo;
- Insuficiência placentária caracterizada pela dopplervelocimetria de AU anormal ($IP > p95$);
- Membranas íntegras;
- Ausência de sinais de trabalho de parto;
- Avaliação morfológica fetal normal pela ultrassonografia;

- Ausência de infecção materna e/ou fetal;
- Não ter recebido corticoterapia antes da avaliação do timo fetal.

4.2 Critérios de exclusão

Foram excluídos da pesquisa os casos que apresentaram diagnóstico pós-natal de infecção congênita ou de anomalia do RN.

4.3 Grupos de alto risco e controle

Foram constituídos outros dois grupos de pacientes para comparação dos dados com o grupo estudo:

- Alto risco sem insuficiência placentária.
- Controle, sem comorbidades.

4.4 Seleção de pacientes

As gestantes com o diagnóstico de insuficiência placentária estavam internadas na enfermaria da Clínica Obstétrica pelo próprio diagnóstico ou por causa de alguma doença materna descompensada (por exemplo: hipertensão, diabetes, nefropatia dialítica, entre outras). As que preenchiam os critérios de inclusão do estudo foram convidadas a participar do trabalho.

O grupo de alto risco foi constituído por pacientes também internadas na enfermaria da Clínica Obstétrica, devido à doença materna descompensada ou a alguma intercorrência obstétrica. As gestantes foram escolhidas de acordo com os critérios de inclusão do estudo, à exceção do diagnóstico de insuficiência placentária.

As pacientes do grupo controle foram selecionadas no ambulatório da Liga do pré-natal, também de acordo com os critérios de inclusão, à exceção do diagnóstico de insuficiência placentária. Elas foram convidadas a participar do trabalho e tiveram o exame ultrassonográfico realizado no dia em que compareceram à consulta de pré-natal de rotina.

4.5 Coleta de dados

Após esclarecimento dos objetivos da pesquisa e dos exames a que seriam submetidas, as pacientes selecionadas assinaram o consentimento pelo termo anexo **(Anexo 2)**.

As gestantes internadas na Clínica Obstétrica eram submetidas rotineiramente à avaliação da vitalidade fetal. Nessa ocasião, foi realizada a avaliação ultrassonográfica complementar, que incluiu a estimativa do peso fetal e as medidas do tórax, o que acrescentou cerca de 15 minutos ao exame. No grupo de alto risco, a avaliação complementar foi feita somente uma vez por paciente e, no grupo com insuficiência placentária, semanalmente, e os dados coletados mais próximo ao parto foram utilizados na análise. O intervalo de tempo entre a última avaliação ultrassonográfica e o dia do parto variou entre 0 e 6 dias.

No grupo controle, a avaliação de vitalidade fetal não era rotineiramente realizada no pré-natal. O exame ultrassonográfico incluiu a estimativa do peso fetal, as medidas do timo, a realização do PBF e a dopplervelocimetria de AU e ACM. Nesse grupo, essa avaliação também ocorreu apenas uma vez por paciente, no dia em que elas compareciam à consulta.

Para a realização dos exames, foram utilizados os aparelhos de ultrassonografia disponíveis na Instituição, equipados com mapeamento colorido de fluxo, com transdutor convexo (Envisor, Philips ou Voluson Expert, General Electric Medical Systems).

4.5.1 Determinação da idade gestacional

A IG das pacientes foi calculada a partir da data da última menstruação referida (DUM) ou pela ultrassonografia realizada no primeiro trimestre da gestação. Se a diferença entre a IG menstrual e a determinada pela ultrassonografia foi menor do que uma semana, a IG menstrual era a utilizada para o estudo; e, quando maior do que uma semana, a IG foi calculada pela ultrassonografia.

4.5.2 Medida da circunferência cefálica e fêmur

Foi realizada a medida de alguns parâmetros da biometria fetal:

- Circunferência cefálica (CC): medida no corte transversal do pólo cefálico, na altura da foice do cérebro (anterior e posterior), cavidade do septo pelúcido, núcleos talâmicos e ventrículos laterais^[60]. A medida da

CC foi tomada pela fórmula $CC = (D1 + D2) \times 1,57$; onde D1 corresponde ao DBP; e D2, ao diâmetro occipito-frontal (DOF).

- CF: o fêmur foi posicionado perpendicularmente aos feixes de ultrassom do transdutor, e mediu-se o comprimento entre as diáfises, excluindo-se as epífises não calcificadas.

4.5.3 Perfil biofísico fetal

O PBF foi realizado analisando-se os seguintes parâmetros:

- Frequência cardíaca fetal (FCF) – avaliada pela cardiotocografia, foi caracterizada como normal quando a FCF basal encontrava-se entre 110 e 160 batimentos por minuto, com acelerações transitórias, variabilidade normal e ausência de desacelerações;
- Movimentos respiratórios – caracterizados como normais na ocorrência de pelo menos um episódio de 30 segundos em 30 minutos de observação;
- Movimentos corpóreos fetais – caracterizados como normais na presença de pelo menos um movimento amplo dos membros ou três discretos do tronco fetal;
- Tônus fetal – caracterizado como normal a atitude fetal de flexão, presença de movimentação corpórea satisfatória, visibilização de abertura e fechamento das mãos, constatação dos movimentos de pálpebras, língua e de sucção;

- Volume do líquido amniótico – avaliado pela mensuração do índice de líquido amniótico (ILA), pela técnica dos quatro quadrantes ^[61], e o ILA foi classificado como normal quando superior a 5,0 cm.

Cada parâmetro do PBF recebeu pontuação 2 à qualificação normal e 0, à anormal. Pela somatória dos pontos obteve-se o valor do PBF. As gestantes do grupo controle de baixo risco não foram submetidas à cardiotocografia e o PBF baseou-se apenas nos parâmetros ultrassonográficos.

4.5.4 Dopplervelocimetria

Para a análise da dopplervelocimetria, foram utilizados os aparelhos de ultrassonografia, empregando filtro de 50 Hz e volume amostral de 2 a 5 mm. O ângulo de insonação foi o menor possível, inferior a 30 graus, para análise das velocidades de fluxo. Todas as medidas foram obtidas na ausência de movimentos corpóreos ou respiratórios fetais e sempre pelo mesmo observador.

Durante o exame, a paciente manteve-se em decúbito horizontal com discreta elevação do dorso e lateralização do abdome materno para a esquerda, com o objetivo de diminuir a compressão da veia cava inferior, evitando-se assim a hipotensão materna.

De acordo com o método adotado no Setor de Vitalidade Fetal da Clínica Obstétrica, a dopplervelocimetria das AU foi realizada insonando-se o cordão umbilical próximo ao local de sua inserção na placenta. A obtenção do sonograma ocorreu em, pelo menos, três momentos diferentes durante a realização do exame, ativando-se o dispositivo de Doppler até a obtenção de ondas uniformes. Para

obtenção dos índices dopplervelocimétricos foi utilizada a demarcação manual de um ciclo cardíaco e o equipamento realizou o cálculo do índice de pulsatilidade (IP). Foi caracterizado como anormal o valor do IP da AU acima do percentil 95 para a idade gestacional ^[62]. A ausência de fluxo diastólico final na dopplervelocimetria da AU, confirmada em pelo menos três sonogramas, caracterizou o diagnóstico de DZ. A ocorrência de fluxo diastólico reverso foi denominada de DR.

A avaliação dopplervelocimétrica da ACM foi feita na porção inicial desse vaso, próximo ao polígono de Willis. Para a obtenção do sonograma, realizou-se um corte transversal do cérebro fetal, na altura dos tálamos, e, em seguida, o transdutor foi deslocado caudalmente em direção da base do crânio, visualizando-se as asas do osso esfenóide. A ACM foi identificada com o dispositivo de mapeamento colorido de fluxo e foi realizada a insonação preferencialmente na janela anterior (têmporo-occipital) para obtenção de, pelo menos, três sonogramas em momentos diferentes do exame. O ângulo de insonação foi mantido menor do que 20 graus, e obtidas ondas uniformes para a mensuração do IP. Foram considerados anormais valores de IP inferiores ao percentil 5 da curva de normalidade ^[62], indicando centralização da circulação fetal.

4.5.5 Avaliação do timo fetal

O timo fetal foi identificado no corte do tórax, na altura dos três vasos da base do coração ^[16] (**Figura 1**). Trata-se de uma estrutura hipoeecogênica em relação aos pulmões, que estão adjacentes a ele, e localiza-se atrás do esterno e à frente dos grandes vasos. O DT do timo foi medido perpendicularmente a uma linha que conecta o centro do esterno até a vértebra, e o P foi medido com a função do traçado

contínuo do ultrassom, delineando a interface entre o timo e os pulmões (**Figura 2**).

Três medidas consecutivas do órgão fetal foram obtidas e a média dos valores foi utilizada na análise final.

Os resultados das análises foram comparados com as tabelas de normalidade de DT e P de timos fetais, de acordo com a idade gestacional, apresentadas no estudo de Gamez et al. ^[21], pelo cálculo do escore zeta. Adicionalmente foram calculadas relações entre os parâmetros do timo fetal e as seguintes medidas da biometria: CF e CC.

Figura 1 - Imagem ultrassonográfica na região do timo fetal (T), em corte transverso do tórax, na altura dos vasos da base (Pu – tronco comum da artéria pulmonar; Ao – artéria aorta ascendente; VCS – veia cava superior)

Figura 2 - Medidas do diâmetro transverso (DT - 1) e do perímetro (P - 2) do timo fetal, na altura dos vasos da base (Pu – tronco comum da artéria pulmonar; Ao – artéria aorta ascendente; VCS – veia cava superior)

4.5.6 Variáveis estudadas

Dados de caracterização da população:

- Idade materna (anos);
- Cor (branca / não branca);
- Paridade (número de partos prévios);
- Idade gestacional (semanas);
- Doenças maternas.

Parâmetros da vitalidade fetal:

- PBF (0; 2; 4: alterado; 6: suspeito; 8 ou 10: normal);
- ILA (≤ 5 ; > 5);

- Dopplervelocimetria da AU (IP e escore zeta);
- Dopplervelocimetria da ACM (IP e escore zeta).

Parâmetros do timo fetal:

- DT;
- DT/CF;
- DT / CC;
- P
- P / CF;
- P / CC.

4.6 Análise estatística

Para o cálculo do tamanho da amostra, foi tomado como base o estudo de Cromi et al. (2009) ^[22]. O grupo de gestações com dopplervelocimetria de artéria umbilical alterada apresentou desvio-padrão do perímetro do timo de 0,40 e o grupo com Doppler normal apresentou desvio-padrão de 0,16. Para a detecção de diferença de 25% nas dimensões do timo fetal, com alfa de 0,05 (bidirecional) e poder de 0,80 (beta=0,20), e com o objetivo de verificar magnitude de diferença de 25%, será necessário incluir, pelo menos, 24 casos em cada grupo.

Para a análise de variáveis quantitativas, foram feitos os cálculos de médias, desvios-padrão e mediana; e a observação de valores mínimos e máximos. Para as variáveis qualitativas, foram calculadas frequências absolutas e relativas.

A comparação entre as médias dos três grupos foi obtida utilizando-se a análise de variância clássica (ANOVA), para variáveis quantitativas paramétricas. Para as não-paramétricas, a comparação entre as medianas foi feita pelo teste de Kruskal-Wallis. Para comparação entre as proporções, foi utilizado o teste qui-quadrado.

Os valores absolutos dos índices dopplervelocimétricos foram convertidos em escore-zeta. Trata-se de parâmetro estatístico que indica quantos desvios-padrão o valor observado está em relação à média para cada idade gestacional. Para o cálculo do escore-zeta é necessário aplicar a seguinte fórmula:

$$z = (x - \mu)/DP$$

Onde:

z: escore-zeta

x: valor absoluto de uma avaliação

μ : média

DP: desvio-padrão

O nível de significância adotado para os testes foi de 5%.

4.7 Reprodutibilidade

4.7.1 Variação intraoperador

Para avaliar a concordância intraoperador foram utilizados 20 exames. Em cada avaliação, foram realizadas três medidas consecutivas de cada parâmetro (DT e P do timo fetal) pelo mesmo operador. Foram utilizadas correlações intraclasse acompanhadas de gráficos de Bland-Altman para verificação de possíveis padrões.

Para todas as medidas realizadas a concordância está próxima de 1, o que significa a sua reprodutibilidade intraobservador (**Tabela 2**).

Tabela 2 - Medidas de concordância intraoperador para diâmetro transversal e perímetro do timo fetal

Medida	Correlação intraclasse	IC 95%	
		Inferior	Superior
Diâmetro transversal	0,97	0,93	0,99
Perímetro	0,97	0,93	0,99

As reprodutibilidades intraoperadores para o DT e o P do timo fetal estão representadas nos **Gráficos 1 e 2**, respectivamente.

Gráfico 1 - Gráfico de Bland-Altman representando a reprodutibilidade intraoperador das medidas do diâmetro transversal do timo fetal

Gráfico 2 - Gráfico de Bland-Altman representando a reprodutibilidade intraoperador das medidas do perímetro do timo fetal

4.7.2 Variação interoperador

Para avaliar a concordância interoperador, foram utilizadas 30 avaliações, feitas por dois operadores. Cada operador realizou duas medidas dos parâmetros DT e P do timo fetal. Foram utilizadas correlações intraclass acompanhada de gráficos de Bland-Altman para verificação de possíveis padrões.

Para todas as medidas realizadas, a concordância está próxima de 1, o que indica a sua reprodutibilidade interoperador (**Tabela 3**).

Tabela 3 - Medidas de concordância interoperador para diâmetro transversal e perímetro do timo fetal

Medida	Correlação intraclass	IC 95%	
		Inferior	Superior
Diâmetro transversal	0,84	0,67	0,92
Perímetro	0,79	0,55	0,90

Os **Gráficos 3 e 4** apresentam as reprodutibilidades interoperadores do DT e P do timo fetal, respectivamente.

Gráfico 3 – Gráfico de Bland-Altman representando a reprodutibilidade interoperador das medidas do diâmetro transverso do timo fetal

Gráfico 4 – Gráfico de Bland-Altman representando a reprodutibilidade interoperador das medidas do perímetro do timo fetal

4.8 Caracterização da população

Foram avaliadas 30 pacientes em cada grupo. As características da população estudada e os dados do parto estão contemplados na **Tabela 4**.

Tabela 4 - Características da população e dados do parto de acordo com os grupos com insuficiência placentária, gestação de alto risco e grupo controle – HCFMUSP – 2011 a 2013

Características	Insuficiência Placentária (n = 30)	Gestação de Alto Risco (n = 30)	Controle Normal (n = 30)	p
Idade materna (anos)	27,4 (7,1)	29,9 (7,4)	28,5 (6,0)	0,138
Cor				
Branca	13 (43,3%)	13 (43,3%)	12 (40%)	0,956
Não-Branca	17 (56,7%)	17 (56,7%)	18 (60%)	
Paridade				
0	20 (66,7%)	13 (43,3%)	15 (50%)	0,285
1	4 (13,3%)	8 (26,7%)	10 (33,3%)	
2	1 (3,3%)	6 (20%)	3 (10%)	
3 ou +	5 (16,7%)	3 (10%)	2 (6,7%)	
Diagnósticos maternos				
Hipertensão arterial	7 (23,3%)	12 (40%)	0 (0%)	< 0,001*
Diabetes	3 (10%)	9 (30%)	0 (0%)	0,002**
Cardiopatia	4 (13,3%)	4 (13,3%)	0 (0%)	0,111
Nefropatia	3 (10%)	1 (3,3%)	0 (0%)	0,198
Lúpus eritematoso	1 (3,3%)	4 (13,3%)	0 (0%)	0,064
Anemia falciforme	1 (3,3%)	2 (6,7%)	0 (0%)	0,355
IG no nascimento (semanas)	34 (28 - 37)	37 (32 - 40)	40 (37 - 41)	<0,001***
Peso do recém-nascido	1375 (770 - 2480)	2890 (1970 - 4040)	3296 (2465 - 3900)	<0,001***
Sexo do recém-nascido				
Feminino	10 (33,3%)	15 (50%)	19 (63,3%)	0,067
Masculino	20 (66,7%)	15 (50%)	11 (36,7%)	

Dados expressos em média (DP), mediana (mínimo - máximo) ou n (%)

* Partição do qui quadrado: (IP + AR) vs. NI p<0,001; IP vs. AR p=NS

** Partição do qui quadrado: (IP + AR) vs. NI p=0,008; IP vs. AR p=0,023

*** IP vs. AR p < 0,05, IP vs. NI p < 0,05, AR vs. NI p < 0,05

Observa-se que não houve diferença entre os grupos quanto à idade materna, cor e paridade. A doença materna mais frequente nos grupos da insuficiência placentária e de alto risco foi a hipertensão arterial, em suas diversas formas (hipertensão arterial crônica, doença hipertensiva específica da gestação, síndrome HELLP). Em relação aos dados de parto das pacientes, houve diferença significativa da IG ao nascimento e peso dos RN entre os três grupos.

A **Tabela 5** mostra dados referentes à IG ao exame, PBF, ILA e Doppler de AU e ACM, comparando os grupos estudados.

Tabela 5 - Dados referentes à idade gestacional no exame, avaliação do volume de líquido amniótico e dopplervelocimetria nos grupos com insuficiência placentária, gestação de alto risco e grupo controle – HCFMUSP – 2011 a 2013

	Insuficiência Placentária (n = 30)	Gestação de Alto Risco (n = 30)	Controle Normal (n = 30)	P
Idade gestacional ao exame (semanas)	33,7 (27,7; 36,9)	34,9 (28,7; 37,1)	31,9 (26,4; 37,0)	0,008*
PBF				
8 ou 10	23 (76,7%)	29 (96,7%)	30 (100%)	0,003**
≤ 6	7 (23,3%)	1 (3,3%)	0 (0%)	
ILA				
> 5,0 cm	25 (83,3%)	29 (96,7%)	30 (100%)	0,024***
≤ 5,0 cm	5 (16,7%)	1 (3,3%)	0 (0%)	
Medida do ILA (cm)	9,1 (0 ; 15,0)	14,0 (3,0 ; 29,7)	13,0 (8,4 ; 21,3)	< 0,001****
Dopplervelocimetria				
AU (escore zeta)	4,6 (2,7 ; 28,6)	-0,5 (-2,1 ; 0,8)	-0,2 (-1,8 ; 1,2)	< 0,001****
ACM (escore zeta)	-2,6 (-4,6 ; 0,5)	0,1 (-2,3 ; 3,3)	-0,6 (-2,2v; 2,5)	< 0,001****

Dados expressos em mediana (mínimo; máximo), média (desvio-padrão) ou n (%)

* IP vs. AR p=NS, IP vs. NL p=NS, AR vs. NL p < 0,05

** Partição do qui quadrado: (IP + AR) vs. NL p=0,036; IP vs. AR p=NS; AR vs. NL p=NS

*** Partição do qui quadrado: (IP + AR) vs. NL p=NS; IP vs. AR p=0,04; AR vs. NL p=NS

**** IP vs. AR p < 0,05, IP vs. NL p < 0,05, AR vs. NL p = NS

PBF – perfil biofísico fetal; ILA – índice de líquido amniótico; AU – artéria umbilical; ACM – artéria cerebral média

Dentro do grupo da insuficiência placentária, do total de 30 pacientes com Doppler de AU alterado, 6 (20%) tinham o diagnóstico de DZ e 3 (10%), de DR.

Resultados

Os resultados obtidos na análise das dimensões do timo fetal, em milímetros, nos grupos com insuficiência placentária, gestação de alto risco e controle, estão demonstrados na **Tabela 6**, na qual podem ser observados os valores da média, desvio-padrão, mediana, valores mínimo e máximo, tanto do DT como do P do timo fetal.

Tabela 6 - Medidas absolutas, em milímetros, do timo fetal avaliado pela ultrassonografia nos grupos com insuficiência placentária, gestação de alto risco e grupo controle – HCFMUSP – 2011 a 2013

	Insuficiência Placentária (n = 30)	Gestação de Alto Risco (n = 30)	Controle Normal (n = 30)
Diâmetro transverso, mm			
Média	26,64	32,72	31,62
Desvio-padrão	4,11	5,32	4,50
Mediana	27,15	32,55	31,43
Mínimo	18,20	21,97	23,63
Máximo	34,40	42,40	39,57
Perímetro, mm			
Média	72,32	91,56	89,96
Desvio-padrão	10,35	13,49	14,05
Mediana	71,52	91,48	89,37
Mínimo	48,90	61,93	67,47
Máximo	89,70	122,33	117,20

A comparação das medidas de DT, expressas em escore zeta (utilizando como referência os valores do estudo de Gamez et al. ^[21]), e as relações DT / CF e DT / CC estão expostas na **Tabela 7**. Tanto o escore zeta quanto a relação DT / CC se mostraram estatisticamente diferentes entre os três grupos, sendo que o grupo da insuficiência placentária teve valores menores.

Tabela 7 - Resultados referentes ao diâmetro transverso do timo fetal avaliado pela ultrassonografia nos grupos com insuficiência placentária, gestação de alto risco e grupo controle – HCFMUSP – 2011 a 2013

	Insuficiência Placentária (n = 30)	Gestação de Alto Risco (n = 30)	Controle Normal (n = 30)	P
DT (escore zeta)	-0,689 (0,832)	0,487 (1,125)	0,830 (0,853)	< 0,001*
Relação DT / CF	0,485 (0,073)	0,501 (0,073)	0,509 (0,054)	0,392
Relação DT / CC	0,096 (0,011)	0,107 (0,017)	0,109 (0,011)	0,001*

Dados expressos em média (desvio-padrão)

* IP vs. AR p < 0,05; IP vs. NL p < 0,05; AR vs. NL p < 0,05

DT – diâmetro transverso; CF – comprimento do fêmur; CC – circunferência cefálica

Os resultados referentes ao P do timo fetal estão expostos na **Tabela 8**. Tanto o escore zeta (utilizando como parâmetro de normalidade os valores do estudo de Gamez et al. ^[21]), quanto as relações P / CF e P / CC tiveram diferença estatística entre os três grupos. Novamente, o grupo da insuficiência placentária teve os menores valores.

Tabela 8 - Resultados referentes ao perímetro do timo fetal avaliado pela ultrassonografia nos grupos com insuficiência placentária, gestação de alto risco e grupo controle – HCFMUSP – 2011 a 2013

	Insuficiência Placentária (n = 30)	Gestação de Alto Risco (n = 30)	Controle Normal (n = 30)	P
P (escore zeta)	-0,734 (0,680)	0,447 (0,958)	0,258 (0,885)	< 0,001*
Relação P / CF	1,318 (0,198)	1,404 (0,197)	1,448 (0,184)	0,035*
Relação P / CC	0,261 (0,031)	0,299 (0,044)	0,310 (0,035)	< 0,001*

Dados expressos em mediana (mínimo; máximo) ou média (desvio-padrão)

* IP vs. AR p < 0,05; IP vs. NL p < 0,05; AR vs. NL p < 0,05

P – perímetro; CF – comprimento do fêmur; CC – circunferência cefálica

Os resultados obtidos também foram expressos em gráficos. No **Gráfico 5**, está representada a distribuição dos valores do escore zeta do DT e do P do timo fetal, nos grupos estudados, e observou-se que o grupo com insuficiência placentária apresentou menores valores desses escores.

Gráfico 5 - Representação do escore zeta do diâmetro transverso (A) e do perímetro (B) do timo fetal nos grupos com insuficiência placentária (IP), gestação de alto risco (AR) e grupo controle normal (NL). Traços horizontais indicam média e IC 95%. HCFMUSP – 2011 a 2013

A distribuição das relações DT / CF e P / CF, comparando os três grupos estudados, está representada em gráficos no **Gráfico 6**.

Gráfico 6 - Representação da relação do diâmetro transverso (A) e do perímetro (B) do timo fetal com o comprimento do fêmur (CF) nos grupos com insuficiência placentária (IP), gestação de alto risco (AR) e grupo controle normal (NL). Traços horizontais indicam média e IC 95%. HCFMUSP – 2011 a 2013

No **Gráfico 7**, estão demonstradas as relações DT / CC e P / CC, representadas em gráficos, nos três grupos.

Gráfico 7 - Representação da relação do diâmetro transverso (A) e do perímetro (B) do timo fetal com a circunferência cefálica (CC) nos grupos com insuficiência placentária (IP), gestação de alto risco (AR) e grupo controle normal (NL). Traços horizontais indicam média e IC 95%. HCFMUSP – 2011 a 2013

A **Gráfico 8** apresenta as médias obtidas das medidas do DT de todas as pacientes, no presente estudo, diagramadas sobre as curvas de média, +2DP e -2DP do estudo de Gamez et al. ^[21].

Gráfico 8 - Valores de diâmetro transverso do timo fetal nos grupos com insuficiência placentária (IP), gestação de alto risco (AR) e gestação normal (NL) sobre os valores da curva de normalidade de Gamez et al. ^[21], (2010)

No **Gráfico 9**, também estão expostas as médias do P do timo obtidas de todas as pacientes, no presente estudo, diagramadas sobre as curvas de média, +2DP e -2DP do estudo de Gamez et al. ^[21].

Gráfico 9 - Valores de perímetro do timo fetal nos grupos com insuficiência placentária (IP), gestação de alto risco (AR) e gestação normal (NL) sobre os valores da curva de normalidade de Gamez et al. ^[21], (2010)

Os **Gráficos 8 e 9** também expõem as tendências que cada grupo estudado apresentou, verificando que as medidas do grupo da insuficiência placentária, na maioria das vezes, estavam abaixo da média, enquanto as das gestações de alto risco e do grupo controle estavam próximas e discretamente acima da média.

Nota-se que de todos os resultados apresentados (escore zeta e relações), apenas a relação entre DT do timo fetal e CF não teve diferença estatisticamente significativa entre os três grupos. As relações entre DT / CC, P / CF e P / CC tiveram diferença estatística, sendo menores no grupo com insuficiência placentária.

Discussão

Os resultados do trabalho sugerem que, em situações de insuficiência placentária, as dimensões do timo fetal estão reduzidas. Esses achados são compatíveis com alguns artigos da literatura ^[9, 10, 22, 23, 59], reforçando a ideia de que a desnutrição crônica fetal, causada pela diminuição da oferta de nutrientes pela placenta, tem relação com a atrofia tímica.

Como todos os fetos do grupo da insuficiência placentária apresentavam RCF, para minimizar uma possível influência do tamanho do feto nas dimensões do timo, as relações entre as medidas do timo e parâmetros antropométricos fetais foram calculadas. Dessas relações, apenas o DT/CF não diferiu significativamente entre os três grupos estudados. As demais relações, DT/CC, P/CF e P/CC, estavam menores no grupo com insuficiência placentária em relação às gestações de alto risco e grupo controle. Dessa forma, foi possível constatar que a diferença do tamanho do órgão entre os grupos estudados era maior do que a diferença das medidas fetais. Portanto, os timos dos fetos de gestações com insuficiência placentária eram menores, mesmo após a correção do baixo peso fetal. A medida do DT, isoladamente, talvez não represente de forma fidedigna a redução das dimensões. Embora o DT seja mais fácil de mensurar do que o P, pois se trata de um órgão irregular e lobulado, os dois parâmetros devem sempre ser avaliados em conjunto.

Cromi et al. ^[22], em seu estudo, avaliam somente o P do timo fetal. Talvez tenha sido considerada essa medida mais fidedigna do órgão e, por isso, não avaliam

o DT. Os resultados da presente pesquisa foram semelhantes às de Cromi, que observam o P com menores valores em fetos com RCF, quando comparados àqueles com crescimento adequado. Esses autores também analisam, dentro do grupo estudo, a relação P observada / esperada (utilizando valores de referência do trabalho de Zalel et al. ^[18]) e observam que a relação é menor nos fetos com oligoâmnio do que aqueles com líquido amniótico normal; e menor nos casos de centralização do que naqueles com Doppler de ACM normal. Essas observações sugerem que a atrofia do órgão é mais importante quando a insuficiência placentária é mais grave.

Jackson ^[5], na década de 20, ao relatar os efeitos da desnutrição sobre o timo, cita uma série de trabalhos, ainda mais antigos, enfatizando que o estado nutricional precário influencia na involução do órgão. Por causa disso, o timo é citado como o “barômetro da nutrição”. Na desnutrição crônica, a redução do seu peso pode chegar de 90 a 100%. No contexto médico-legal, a atrofia tímica oferece indícios de morte por inanição.

A associação entre desnutrição crônica e atrofia tímica é observada, pela primeira vez, em fetos e/ou RN que haviam sofrido insuficiência placentária por Hartge et al. ^[9], averiguando a redução do peso do órgão. Cox et al. ^[10], também seguem o contexto médico-legal e diferenciam os achados de necropsia de fetos PIG constitucional daqueles com RCF. No primeiro grupo, o timo pode estar normal, enquanto, no segundo, o órgão está sempre atrofico.

Partindo do princípio de que a atrofia tímica pode indicar a precariedade do estado nutricional, talvez as medidas desse órgão, em fetos com insuficiência placentária, possam determinar o grau de desnutrição crônica intrauterina, e assim, até auxiliar na condução desses casos, norteando o momento mais adequado para a

resolução. Para isso, seriam necessários mais estudos e com maior número de gestantes para avaliar a factibilidade dessa proposta, identificando situações em que a atrofia tímica possa trazer prejuízos e maior susceptibilidade a infecções no período neonatal precoce.

Alguns trabalhos têm sido realizados para avaliar se o timo fetal pode ser utilizado como marcador ou indicador de outras situações clínicas, como a corioamnionite. Timos de dimensões pequenas (DT e P), avaliados pela ultrassonografia, parecem ter relação com corioamnionite e infecção de cordão umbilical (funisite) – confirmadas pela histologia da placenta após o parto – nos casos de rotura prematura de membranas ^[63, 64] e de trabalho de parto prematuro com membranas íntegras ^[65]. Em outro estudo ^[66], timos de RN que nasceram com muito baixo peso são avaliados pelo raio-x de tórax. O índice cárdio-tímico / torácico é menor nos casos em que há infecção confirmada pela histologia da placenta. Como a corioamnionite é difícil de ser diagnosticada nas gestações em curso por apresentar poucos sinais clínicos ou tardios, a avaliação do timo fetal poderia indicar a presença da infecção intrauterina, em momento mais precoce, evitando consequências graves ao feto / RN. A sugestão é que apareçam trabalhos que sigam esse raciocínio aplicado à desnutrição crônica, avaliando se o timo fetal pode auxiliar na condução dos casos de insuficiência placentária. Foi por causa dessas pesquisas, associando o tamanho do timo com corioamnionite, que foram incluídas, no presente estudo, somente gestantes com membranas íntegras e sem sinais de trabalho de parto prematuro.

Recentemente, um grupo australiano publica trabalho estudando as dimensões do timo fetal em gestantes com pré-eclâmpsia e verifica que o órgão apresenta

menores dimensões nessas pacientes, em comparação com grupo controle ^[67]. Também notam que algumas gestantes do grupo controle, durante o estudo, desenvolvem a doença; e que seus fetos têm timos menores em relação às outras que permanecem sadias até o final da gestação. Então, no ano seguinte, o mesmo grupo divulga novo estudo ^[68], cujos resultados sugerem que a redução do timo ocorra antes do aparecimento da pré-eclâmpsia. Como a fisiopatologia da doença está relacionada à falha da tolerância materno-fetal, mediada pelo sistema imunológico da gestante, os autores sugerem que, talvez, modificações no timo fetal seriam o evento primário que influenciaria na gênese da doença e no processo da má adaptação materno-fetal. Porém, mais estudos envolvendo número maior de pacientes e outros centros clínicos são necessários para confirmar tal hipótese. No presente estudo, não foram excluídas as pacientes que tinham o diagnóstico de pré-eclâmpsia, porém, isso não pode ser considerado um viés, pois essa complicação esteve presente tanto no grupo da insuficiência placentária quanto nas gestações de alto risco.

Pacientes que receberam betametasona ou dexametasona, antes da avaliação ultrassonográfica para fins diversos, como acelerar a maturação pulmonar, nos casos de Síndrome HELLP e pulsoterapia no lúpus eritematoso sistêmico, foram excluídas do trabalho. Esses dois corticoides passam a barreira placentária em suas formas ativas ^[51] e, assim, também promovem atrofia tímica ^[52]. Aquelas que faziam uso de prednisona foram mantidas no estudo, pois esse corticoide é inativo pelo tecido placentário antes de chegar à circulação fetal ^[51].

Doenças infecciosas, como infecção pelo HIV, malária, doença de Chagas, raiva, esquistossomose, entre outras, também podem cursar com atrofia tímica ^[49]. Por isso, gestantes que tinham diagnóstico de infecção não foram incluídas no

presente estudo. Apesar de a infecção materna não necessariamente significar acometimento fetal, optou-se por deixar esse quesito como critério de exclusão. Fetos com diagnóstico pós-natal de infecção também não foram incluídos.

Na tabela da caracterização da população, observou-se que a IG do parto e o peso do RN eram diferentes nos três grupos. Essa constatação reflete a própria classificação dos grupos estudados. Na Clínica Obstétrica do HCFMUSP, a maioria das gestantes com insuficiência placentária era submetida à avaliação da vitalidade fetal diariamente, e o parto poderia ser indicado a qualquer momento, em qualquer idade gestacional, caso algum parâmetro da vitalidade (líquido amniótico, cardiotocografia, presença de DZ ou DR ao Doppler de AU ou Doppler de ducto venoso anormal) estivesse alterado. Cada caso era avaliado individualmente, mas, geralmente, os fetos que apresentavam centralização com outros parâmetros da vitalidade normais nasciam com 34 semanas de gestação. Aqueles que apresentavam somente Doppler de AU anormal sem centralização nasciam com 37 semanas. O fato é que muitas dessas pacientes tiveram que ter o seu parto antecipado, ou levar a gravidez até, no máximo, 37 semanas, por isso, a média da IG ao nascimento desse grupo foi de 34 semanas. As pacientes de alto risco, na maioria das vezes, tinham diagnósticos de doenças que não necessariamente exigiam antecipar o parto. Mas também não tinham condições clínicas de levar a gestação até o pós-datismo, por isso, a média da IG ao nascimento desse grupo foi 37 semanas. Por fim, as gestantes do grupo controle, por não apresentar nenhuma doença, podiam aguardar o trabalho de parto espontâneo, o que aconteceu em uma IG média de 40 semanas. Outros dados de caracterização que refletem bem a diferença entre os três grupos são o PBF, medida do ILA e Doppler de AU e ACM.

Nos resultados, verificou-se que a IG ao exame diferiu entre os grupos de alto risco e o controle. Porém, essa diferença não interferiu na interpretação dos demais resultados, pois o foco do presente estudo era analisar os fetos de gestações com insuficiência placentária, e a IG do exame desse grupo não diferiu dos demais (alto risco e controle). Além disso, os valores absolutos do DT e P do timo fetal foram transformados em escore zeta, que é uma avaliação por IG. Por fim, as relações medidas do timo / medidas do feto independem da IG.

O timo fetal pode ser avaliado no período antenatal tanto pela ultrassonografia quanto pela ressonância magnética ^[59]. Neste trabalho, a escolha foi utilizar a ultrassonografia, por se tratar de um método propedêutico mais acessível e de menor custo, apesar de ser examinador-dependente. Das várias curvas de normalidade para medidas ultrassonográficas do timo fetal na literatura ^[17-21], foi eleita a de Gamez et al. ^[21], de 2010, para ser referência, pois esse estudo inclui maior número de pacientes na casuística (678 fetos únicos) e são mensurados tanto o DT quanto o P. Apesar de a ultrassonografia 3D ser método de avaliação promissor, não foi utilizada, neste estudo, primeiro, por não haver muitos trabalhos publicados avaliando o timo fetal por esse método; segundo, pelo fato de o timo ter forma tridimensional complexa, o que poderia prejudicar a reprodutibilidade do exame. Além disso, a curva de aprendizado para medir o volume do timo pela ultrassonografia 3D é muito mais longa e difícil.

Sabe-se que timos de tamanhos pequenos relacionam-se com maior mortalidade na infância ^[54, 55] e maior incidência de sepsis em RN com muito baixo peso ^[69]. Na população que nasceu a termo com baixo peso, o risco de doenças infecciosas intestinais e pulmonares, o índice de hospitalização e a taxa de

mortalidade são maiores no primeiro ano de vida, podendo chegar a quatro e sete vezes mais, respectivamente, nesses dois últimos parâmetros citados ^[11, 12]. Essa mesma população também tem a contagem de linfócitos totais e subtipos CD4 e CD8 reduzida no sangue periférico, comparada com aqueles que nasceram com peso adequado para a idade gestacional ^[14, 15]. Esses artigos, em conjunto, sugerem que no período pós-natal, a incidência de infecções é maior naqueles que tiveram baixo peso ao nascimento e que, provavelmente, isso decorre de prejuízos na imunidade celular, que é dependente da função tímica adequada. No entanto, não existe, na literatura, associação, em um mesmo trabalho, entre baixo peso, tanto o estimado pela ultrassonografia no período antenatal, quanto ao nascimento; medida do timo, fetal ou do RN; e a observação do comportamento da imunidade pós-natal, seja por medida de linfócitos no sangue periférico, ou pela incidência de infecções. Seria interessante que pesquisas contemplem todas essas características, pois, assim, seria possível consolidar a importância da avaliação do timo e propor medidas que ajudem a reduzir a mortalidade e a morbidade pós-natal na população de RN com crescimento restrito.

Conclusões

O presente estudo, realizado em gestantes com insuficiência placentária, analisou o timo fetal e permitiu concluir que:

- a) As dimensões do órgão (DT e P) são menores quando comparadas com as de gestações de alto risco sem insuficiência placentária;
- b) As dimensões do órgão (DT e P) são menores quando comparadas com as de gestações de baixo risco (grupo controle normal);
- c) As relações DT/CC, P/CF e P/CC são menores quando comparados com os demais grupos.

Anexos

Anexo 1 - Aprovação do Comitê de Ética para Análise de Pesquisa (CAPPesq) da Diretoria do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo

Hospital das Clínicas da FMUSP
Comissão de Ética para Análise de Projetos de Pesquisa
CAPPesq

Nº Protocolo: 0767/11

Título: AVALIAÇÃO ULTRASSONOGRÁFICA DAS DIMENSÕES DO TIMO FETAL NA INSUFICIÊNCIA PLACENTÁRIA E MARCADORES FUNCIONAIS

Pesquisador Responsável: Roseli Mieko Yamamoto Nomura

Pesquisador Executante: Marisa Akemi Takeno

Co-autores: Seizo Miyadahira, Silvia Yumi Bando, Maria Mirtes Sales, Magda Carneiro-Sampaio, Marcelo Zugaib

Finalidade Acadêmica: Mestrado

Departamento: OBSTETRÍCIA E GINECOLOGIA

A Comissão de Ética para Análise de Projetos de Pesquisa – CAPPesq da Diretoria Clínica do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, **APROVOU / TOMOU CIÊNCIA** na sessão datada de 09/11/2011, o protocolo acima.

A CAPPesq em obediência à Resolução CNS 196/96, solicita ao pesquisador (a) s elaboração de relatório parcial e final.

No caso de relatório parcial é necessário informar o tempo previsto para a conclusão do protocolo e breve resumo dos resultados obtidos.

CAPPesq, 11 de Novembro de 2011

PROF. DR. EUCLIDES AYRES DE CASTILHO

Coordenador

Comissão de Ética para Análise de
Projetos de Pesquisa - CAPPesq

Anexo 2 – Termo de Consentimento Livre e Esclarecido

HOSPITAL DAS CLÍNICAS DA FACULDADE DE MEDICINA DA UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO-HCFMUSP

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

DADOS DE IDENTIFICAÇÃO DO SUJEITO DA PESQUISA OU RESPONSÁVEL LEGAL

1. NOME:
 DOC. DE IDENTIDADE Nº: SEXO: M ☐ F ☐ DATA NASCIMENTO:/...../.....
 ENDEREÇO Nº APTº:
 BAIRRO: CIDADE:
 CEP: TELEFONE: DDD (.....)

2. RESPONSÁVEL LEGAL
 NATUREZA (grau de parentesco, tutor, curador etc.)
 DOC. DE IDENTIDADE: SEXO: M ☐ F ☐ DATA NASCIMENTO:/...../.....
 ENDEREÇO: Nº APTº:
 BAIRRO: CIDADE:
 CEP: TELEFONE: DDD (.....)

DADOS SOBRE A PESQUISA

1. TÍTULO DO PROTOCOLO DE PESQUISA: AVALIAÇÃO ULTRASSONOGRÁFICA DAS DIMENSÕES DO TIMO FETAL NA INSUFICIÊNCIA PLACENTÁRIA

PESQUISADOR: ROSELI MIEKO YAMAMOTO NOMURA

CARGO/FUNÇÃO: MÉDICA – INSCRIÇÃO CONSELHO REGIONAL Nº ...CRM-SP 59.590

UNIDADE DO HCFMUSP: DIVISÃO DE CLÍNICA OBSTÉTRICA

2. AVALIAÇÃO DO RISCO DA PESQUISA:

RISCO MÍNIMO ☒ RISCO MÉDIO ☐ RISCO BAIXO ☐ RISCO MAIOR ☐

3. DURAÇÃO DA PESQUISA: 2 ANOS

INFORMAÇÕES SOBRE A PESQUISA

1 – O objetivo deste estudo é avaliar um órgão do feto chamado timo, tanto em pacientes internadas e de alto risco quanto em pacientes não internadas e sem doenças. Este órgão pode estar alterado nos casos em que existem problemas no crescimento fetal.

2 – A avaliação do timo fetal é realizada pelo exame de ultrassonografia, no mesmo momento do exame que faz a estimativa do peso fetal, a avaliação do Doppler obstétrico e perfil biofísico fetal. O timo será avaliado medindo-se o seu tamanho, e esse procedimento pode demorar cerca de 10 minutos;

3 – No exame de ultrassonografia, caso o timo fetal esteja alterado, o resultado será discutido com você e o acompanhamento será efetuado;

4 – Como procedimentos alternativos, você pode optar em não participar da pesquisa, e faremos todos os exames que são necessários para o acompanhamento do seu caso;

5 – A qualquer momento você tem acesso garantido aos profissionais responsáveis pela pesquisa para esclarecimento de eventuais dúvidas. O principal investigador é a Dra Roseli Nomura, que pode ser encontrada na Clínica Obstétrica, 10º andar do Instituto Central do Hospital das Clínicas, sala 10037, na Av Enéas de Carvalho Aguiar no 255, Telefone(s) 30696209, 99373001. Se você tiver alguma consideração ou dúvida sobre a ética da pesquisa, entre em contato com o Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) – Rua Ovídio Pires de Campos, 225 – 5º andar – tel: 3069-6442 ramais 16, 17, 18 ou 20, FAX:

3069-6442 ramal 26 – E-mail: cappesq@hcnet.usp.br

- 6 – Você pode revogar este consentimento a qualquer momento e deixar de participar do estudo, sem qualquer prejuízo ao tratamento que lhe é oferecido na Instituição;
- 7 – Todas as informações obtidas serão mantidas em sigilo, seu nome não será divulgado em nenhuma publicação, e os dados serão utilizados exclusivamente para os fins desta pesquisa;
- 8 – Você poderá se manter atualizado sobre os resultados parciais desta pesquisa, podendo questionar a qualquer momento sobre as informações obtidas;
- 9 – Não há despesas pessoais para o participante desta pesquisa, incluindo exames e consultas. Também não há compensação financeira relacionada à sua participação;
- 10 – Em caso de dano pessoal, diretamente causado pelos procedimentos propostos nesta pesquisa (nexo causal comprovado), você tem direito a tratamento médico na Instituição, bem como às indenizações estabelecidas pela legislação brasileira.

Acredito ter sido suficientemente informado a respeito das informações que li ou que foram lidas para mim, descrevendo o estudo “**AValiação Ultrassonográfica das Dimensões do Timo Fetal na Insuficiência Placentária**”. Eu discuti com o com os pesquisadores sobre a minha decisão em participar nesse estudo. Ficaram claros para mim quais são os propósitos do estudo, os procedimentos a serem realizados, seus desconfortos e riscos, as garantias de confidencialidade e de esclarecimentos permanentes. Ficou claro também que minha participação é isenta de despesas e que tenho garantia do acesso a tratamento hospitalar quando necessário. Concordo voluntariamente em participar deste estudo e poderei retirar o meu consentimento a qualquer momento, antes ou durante o mesmo, sem penalidades ou prejuízo ou perda de qualquer benefício que eu possa ter adquirido, ou no meu atendimento neste Serviço.

Assinatura do paciente/representante legal _____ Data ____/____/____

Assinatura da testemunha _____ Data ____/____/____

para casos de pacientes menores de 18 anos, analfabetos, semi-analfabetos ou portadores de deficiência auditiva ou visual.

Declaro que obtive de forma apropriada e voluntária o Consentimento Livre e Esclarecido deste paciente ou representante legal para a participação neste estudo.

Assinatura do responsável pelo estudo _____ Data ____/____/____

Referências

1. Scrimshaw NS, Taylor CE, Gordon JE. Interactions of nutrition and infection. *Monogr Ser World Health Organ.* 1968;57:3-329.
2. Beaton GH, Bengoa JM. Nutrition in Preventive Medicine - The major deficiency syndromes, epidemiology, and approaches to control. *World Health Organization.* 1976; 62.
3. Katona P, Katona-Apte J. The interaction between nutrition and infection. *Clin Infect Dis.* 2008;46(10):1582-8.
4. Purtilo DT, Connor DH. Fatal infections in protein-calorie malnourished children with thymolymphatic atrophy. *Arch Dis Child.* 1975;50(2):149-52.
5. Jackson CM. *The effects of inanition and malnutrition upon growth and structure.* Philadelphia: P. Blakiston's Son & Co.; 1925.
6. McFarlane H, Hamid J. Cell-mediated immune response in malnutrition. *Clin Exp Immunol.* 1973; 13(1): 153-164.
7. Lima FA, Carneiro-Sampaio M. O papel do timo no desenvolvimento do sistema imune. *Pediatrics (São Paulo).* 2007;29(1):33-42.
8. Zugaib M. *Zugaib Obstetrícia.* 2ª ed. São Paulo: Manole; 2012.
9. Hartge R, Jenkins DM, Kohler HG. Low thymic weight in small-for-dates babies. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol.* 1978;8(3):153-5.
10. Cox P, Marton T. Pathological assessment of intrauterine growth restriction. *Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol.* 2009;23(6):751-64.

11. Lira PI, Ashworth A, Morris SS. Low birth weight and morbidity from diarrhea and respiratory infection in northeast Brazil. *J Pediatr*. 1996; 128(4): 497-504.
12. Ashworth A. Effects of intrauterine growth retardation on mortality and morbidity in infants and young children. *Eur J Clin Nutr*. 1998;52:S34-41.
13. Thilaganathan B, Plachouras N, Makrydimas G, Nicolaides KH. Fetal immunodeficiency: a consequence of placental insufficiency. *Br J Obstet Gynaecol*. 1993;100(11):1000-4.
14. Ferguson AC. Prolonged impairment of cellular immunity in children with intrauterine growth retardation. *J Pediatr*. 1978;93(1):52-6.
15. Chatrath R, Saili A, Jain M, Dutta AK. Immune status of full-term small-for-gestational age neonates in India. *J Trop Pediatr*. 1997;43(6):345-8.
16. Yagel S, Cohen SM, Achiron R. Examination of the fetal heart by five short-axis views: a proposed screening method for comprehensive cardiac evaluation. *Ultrasound Obstet Gynecol*. 2001;17(5):367-9.
17. Felker RE, Cartier MS, Emerson DS, Brown DL. Ultrasound of the fetal thymus. *J Ultrasound Med*. 1989;8(12):669-73.
18. Zalel Y, Gamzu R, Mashiach S, Achiron R. The development of the fetal thymus: an in utero sonographic evaluation. *Prenat Diagn*. 2002;22(2):114-7.
19. Cho JY, Min JY, Lee YH, McCrindle B, Hornberger LK, Yoo SJ. Diameter of the normal fetal thymus on ultrasound. *Ultrasound Obstet Gynecol*. 2007;29(6):634-8.

-
20. De Leon-Luis J, Gámez F, Pintado P, Antolin E, Pérez R, Ortiz-Quintana L, Santolaya-Forgas J. Sonographic measurements of the thymus in male and female fetuses. *J Ultrasound Med.* 2009;28(1):43-8.
 21. Gamez F, De Leon-Luis J, Pintado P, Perez R, Robinson JN, Antolin E, Ortiz-Quintana L, Santolaya-Forgas J. Fetal thymus size in uncomplicated twin and singleton pregnancies. *Ultrasound Obstet Gynecol.* 2010;36(3):302-7.
 22. 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;33(4):421-6.
 23. Olearo E, Oberto M, Oggè G, Botta G, Pace C, Gaglioti P, Todros T. Thymic volume in healthy, small for gestational age and growth restricted fetuses. *Prenat Diagn.* 2012;32(7):662-7.
 24. Rodewald HR. Thymus organogenesis. *Annu Rev Immunol.* 2008;26:355-88.
 25. Savino W, Dardenne M. Neuroendocrine control of thymus physiology. *Endocr Rev.* 2000;21(4):412-43.
 26. Manley NR. Thymus organogenesis and molecular mechanisms of thymic epithelial cell differentiation. *Semin Immunol.* 2000;12(5):421-8.
 27. Blackburn CC, Manley NR. Developing a new paradigm for thymus organogenesis. *Nat Rev Immunol.* 2004;4(4):278-89.
 28. Herold MJ, McPherson KG, Reichardt HM. Glucocorticoids in T cell apoptosis and function. *Cell Mol Life Sci.* 2006;63(1):60-72.

29. Vacchio MS, Ashwell JD. Glucocorticoids and thymocyte development. *Semin Immunol*, 2000;12(5):475-85.
30. Ye P, Kirschner DE. Reevaluation of T cell receptor excision circles as a measure of human recent thymic emigrants. *J Immunol*. 2002;168(10):4968-79.
31. 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;37(4):397-403.
32. Karl K, Heling KS, Sarut Lopez A, Thiel G, Chaoui R. Thymic-thoracic ratio in fetuses with trisomy 21, 18 or 13. *Ultrasound Obstet Gynecol*. 2012;40(4):412-7.
33. Bataeva R, Bellsham-Revell H, Zidere V, Allan LD. Reliability of fetal thymus measurement in prediction of 22q11.2 deletion: a retrospective study using four-dimensional spatiotemporal image correlation volumes. *Ultrasound Obstet Gynecol*. 2013;41(2):172-6.
34. 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;37(4):404-9.
35. De Leon-Luis J, Ruiz Y, Gamez F, Pintado P, Oyelese Y, Pereda A, Ortiz-Quintana L, Santolaya-Forgas J. Comparison of measurements of the transverse diameter and perimeter of the fetal thymus obtained by magnetic resonance and ultrasound imaging. *J Magn Reson Imaging*. 2011;33(5):1100-5.

-
36. Brosens I, Robertson WB, Dixon HG. The physiological response of the vessels of the placental bed to normal pregnancy. *J Pathol Bacteriol.* 1967; 93(2):569-79.
 37. Pijnenborg R, Bland JM, Robertson WB, Brosens I. Uteroplacental arterial changes related to interstitial trophoblast migration in early human pregnancy. *Placenta.* 1983;4(4):397-413.
 38. Valero De Bernabé J, Soriano T, Albaladejo R, Juarranz M, Calle ME, Martínez D, Domínguez-Rojas V. Risk factors for low birth weight: a review. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol.* 2004;116(1):3-15.
 39. Baschat AA. Fetal responses to placental insufficiency: an update. *BJOG.* 2004;111(10):1031-41.
 40. Figueras F, Gardosi J. Intrauterine growth restriction: new concepts in antenatal surveillance, diagnosis, and management. *Am J Obstet Gynecol.* 2011;204(4):288-300.
 41. Barker DJ. In utero programming of chronic disease. *Clin Sci (Lond).* 1998;95(2):115-28.
 42. Economides DL, Nicolaides KH, Campbell S. Metabolic and endocrine findings in appropriate and small for gestational age fetuses. *J Perinat Med.* 1991;19(1-2):97-105.
 43. Gruver AL, Sempowski GD. Cytokines, leptin, and stress-induced thymic atrophy. *J Leukoc Biol.* 2008;84(4):915-23.
 44. Fowden AL, Forhead AJ. Endocrine mechanisms of intrauterine programming. *Reproduction.* 2004;127(5):515-26.

45. Ashwell JD, Lu FW, Vacchio MS. Glucocorticoids in T cell development and function. *Annu Rev Immunol.* 2000;18:309-45.
46. Pazirandeh A, Xue Y, Prestegard T, Jondal M, Okret S. Effects of altered glucocorticoid sensitivity in the T cell lineage on thymocyte and T cell homeostasis. *FASEB J.* 2002;16(7):727-9.
47. Tarcic N, Ovadia H, Weiss DW, Weidenfeld J. Restraint stress-induced thymic involution and cell apoptosis are dependent on endogenous glucocorticoids. *J Neuroimmunol.* 1998;82(1):40-6.
48. Pazirandeh A, Jondal M, Okret S. Glucocorticoids delay age-associated thymic involution through directly affecting the thymocytes. *Endocrinology.* 2004;145(5):2392-401.
49. Savino W, Dardenne M, Velloso LA, Dayse Silva-Barbosa S. The thymus is a common target in malnutrition and infection. *Br J Nutr.* 2007;98:S11-6.
50. Savino W, Dardenne M. Nutritional imbalances and infections affect the thymus: consequences on T-cell-mediated immune responses. *Proc Nutr Soc.* 2010;69(4):636-43.
51. van Runnard Heimel PJ, Franx A, Schobben AF, Huisjes AJ, Derks JB, Bruinse HW. Corticosteroids, pregnancy, and HELLP syndrome: a review. *Obstet Gynecol Surv.* 2005;60(1):57-70.
52. Steibel G. *Alterações do timo fetal secundárias ao uso de corticóide para maturação pulmonar* (Tese). Porto Alegre: Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul; 2011.
53. Jeppesen DL. The size of the thymus: an important immunological diagnostic tool? *Acta Paediatr.* 2003;92(9):994-6.

-
54. Garly ML, Trautner SL, Marx C, Danebod K, Nielsen J, Ravn H, Martins CL, Balé C, Aaby P, Lisse IM. Thymus size at 6 months of age and subsequent child mortality. *J Pediatr*. 2008;153(5):683-8.
 55. Aaby P, Marx C, Trautner S, Rudaa D, Hasselbalch H, Jensen H, Lisse I. Thymus size at birth is associated with infant mortality: a community study from Guinea-Bissau. *Acta Paediatr*. 2002;91(6):698-703.
 56. Berger A. Th1 and Th2 responses: what are they? *BMJ*. 2000;321(7258):424.
 57. McDade TW, Kuzawa CW, Adair LS, Beck MA. Prenatal and early postnatal environments are significant predictors of total immunoglobulin E concentration in Filipino adolescents. *Clin Exp Allergy*. 2004;34(1):44-50.
 58. Moore SE. Nutrition, immunity and the fetal and infant origins of disease hypothesis in developing countries. *Proc Nutr Soc*. 1998;57(2):241-7.
 59. Damodaram MS, Story L, Eixarch E, Patkee P, Patel A, Kumar S, Rutherford M. Foetal volumetry using magnetic resonance imaging in intrauterine growth restriction. *Early Hum Dev*. 2012;88:S35-40.
 60. Shepard M, Filly RA. A standardized plane for biparietal diameter measurement. *J Ultrasound Med*. 1982;1(4):145-50.
 61. Phelan JP, Smith CV, Broussard P, Small M. Amniotic fluid volume assessment with the four-quadrant technique at 36-42 weeks' gestation. *J Reprod Med*. 1987;32(7):540-2.
 62. Arduini D, Rizzo G. Normal values of Pulsatility Index from fetal vessels: a cross-sectional study on 1556 healthy fetuses. *J Perinat Med*. 1990;18(3):165-72.

-
63. 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;115(7):836-41.
 64. Musilova I, Hornychova H, Kostal M, Jacobsson B, Kacerovsky M. Ultrasound measurement of the transverse diameter of the fetal thymus in pregnancies complicated by the preterm prelabor rupture of membranes. *J Clin Ultrasound*. 2013;41(5):283-9.
 65. Di Naro E, Cromi A, Ghezzi F, Raio L, Uccella S, D'Addario V, Loverro G. Fetal thymic involution: a sonographic marker of the fetal inflammatory response syndrome. *Am J Obstet Gynecol*. 2006;194(1):153-9.
 66. 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;135(3):384-6.
 67. Mohamed N, Eviston DP, Quinton AE, Benzie RJ, Kirby AC, Peek MJ, Nanan RK. Smaller fetal thymuses in pre-eclampsia: a prospective cross-sectional study. *Ultrasound Obstet Gynecol*. 2011;37(4):410-5.
 68. Eviston DP, Quinton AE, Benzie RJ, Peek MJ, Martin A, Nanan RK. Impaired fetal thymic growth precedes clinical preeclampsia: a case-control study. *J Reprod Immunol*. 2012;94(2):183-9.
 69. De Felice C, Vacca P, Presta G, Rosati E, Latini G. Small thymus at birth and neonatal outcome in very-low-birth-weight infants. *Eur J Pediatr*. 2003;162(3): 204-6.