

ALFA FETOPROTEÍNA E DESENVOLVIMENTO EMBRIONÁRIO

Romário de Araújo MELLO
(PUCCAMP)

ABSTRACT

Alfafetoprotein (AFP) is a major serum glycoprotein during embryonic and early postnatal life. A number of diverse biologic functions have been attributed to AFP, including osmotic and carrier function and immunosuppressive activity.

INTRODUÇÃO

A alfa fetoproteína (AFP) foi o primeiro antígeno onco fetal reconhecido e o primeiro marcador tumoral com uso amplo na medicina clínica. Foi demonstrado em 1963 que esta glicoproteína estava presente em grandes quantidades no soro de camundongos recém-nascidos e no soro de camundongos adultos para os quais foram transplantados hepatomas. Nos dez anos seguintes a AFP ficou estabelecida como a principal proteína sérica do feto humano e foi demonstrado que é produzida por alguns tumores humanos, especialmente os hepatomas. O interesse clínico na AFP foi centralizado nesta utilidade como marcador tumoral até que Brock e Sutcliffe relataram que AFP estava elevada em amostras de líquido amniótico de gestações com defeitos do tubo neural (DFTN), tanto espinha bífida quanto anencefálica. Nesse relato os autores sugeriram que os níveis elevados de AFP também poderiam ser encontrados em amostras de soro materno de gestações afetadas por DFTN. Essas observações eram de grande interesse e importância especialmente no Reino Unido, onde a frequência de gestações afetadas por DFTN atinge 8/1000 nascimentos. Outros relatos dessa área rapidamente confirmaram a confiabilidade diagnóstica dos níveis de AFP no líquido amniótico para o diagnóstico antenatal dos DFTN. No ano seguinte já estava em uso o teste clínico dos níveis de AFP no líquido amniótico no Reino Unido, Estados Unidos e Escandinávia.

Esse procedimento foi reservado às pacientes sabidamente de alto risco para DFTN por estarem afetadas elas próprias ou um ou mais de seus filhos; abordagem que poderia, na melhor das hipóteses, prevenir apenas 5% das gestações. Por conseguinte, está

na hora de discutir as aplicações das dosagens de AFP no soro materno e no líquido amniótico à prática obstétrica atual.

FISIOLOGIA DA AFP NA GRAVIDEZ AFP NO FETO

A AFP pode ser essencial ao feto humano, pois é sintetizada desde os primórdios do desenvolvimento embrionário até o termo, primeiro pelo saco vitelino que produz grandes quantidades de AFP, numa taxa equivalente à do fígado fetal. Após 30 dias, o saco vitelino atresia-se e o fígado fetal torna-se o principal sítio de síntese da AFP (uma quantidade muito pequena de AFP também é produzida pelo intestino fetal).

Ao terceiro mês de gestação, a AFP é a principal proteína sérica fetal com concentrações de 3mg/ml ou mais. Do segundo trimestre em diante, o fígado produz quantidades crescentes de albumina, porém a síntese de AFP continua até o termo. À medida que tanto o tamanho do feto quanto a taxa de produção de albumina aumentam rapidamente na segunda metade da gestação, a concentração relativa de AFP sérica diminui.

A AFP é muito similar à albumina quanto à composição e ao tamanho, com um peso molecular de 69000. A homologia entre as suas seqüências de aminoácidos sugere que essas duas proteínas tenham tido um precursor comum. Diferente da albumina, a AFP é uma glicoproteína com 3 a 4% de carboidratos e migra com as alfa-1-globulina na eletroforese. A AFP é mais antiga proteína conhecida na evolução e tem sido identificada em todas as espécies estudadas de mamíferos, pássaros e tubarões.

As AFPs mamíferas fazem reação cruzada em seu estado natural, sugerindo que esta proteína pode suportar poucas mutações. Apesar desta evidência de que a AFP é importante para toda a vida fetal avançada, sua função principal é desconhecida. Sua produção em lugar da albumina até fase adiantada da gestação e a cessação abrupta da síntese de AFP no ser humano após o parto sugere que seu papel seja mais complexo do que simples manutenção da pressão osmótica ou como proteína de ligação. Algumas evidências in vitro sugerem que a AFP é uma proteína imunossupressora, mas os estudos in vivo da imunocompetência do feto humano e em seres humanos com níveis elevados de AFP não confirmam essa explicação do papel principal da AFP.

AFP NO LÍQUIDO AMNIÓTICO

A AFP normalmente presente no líquido amniótico provém da AFP sérica filtrada pelo rim fetal. Os níveis normais de AFP no líquido amniótico são paralelos às concentrações séricas durante

toda a gestação; porém são muito inferiores. A proporção entre as concentrações no soro fetal e no líquido amniótico permanece sempre em pelo menos 100 para 1.

AFP NO SORO MATERNO

A quantidade de AFP normalmente presente no soro materno é tão pequena que sua dosagem teve de esperar o desenvolvimento da técnica de radioimunoensaio. Mulheres adultas normais não grávidas tem níveis séricos de AFP menores do que 5ng/ml.

A variação entre ensaios da maioria dos sistemas na faixa das concentrações de AFP abaixo de 10ng/ml torna difícil detectar elevações de AFP devidas à gravidez, até cerca de 12 semanas de gestação. Após o primeiro trimestre, os níveis séricos maternos de AFP elevam-se gradualmente até um pico de 500ng/ml na trigésima semana de gestação.

A elevação abrupta dos níveis séricos normais de AFP no segundo trimestre significa que a exatidão da idade gestacional é mais importante do que na interpretação dos níveis de AFP no líquido amniótico.

Os níveis séricos maternos de AFP elevam-se à medida que os níveis fetais e amnióticos diminuem com a evolução da gravidez, apesar de ser o feto a fonte da AFP materna. Este paradoxo pode ser explicado se a maior parte da AFP sérica materna tiver origem normalmente da difusão transplacentária.

A gradiente de concentração para a AFP através da barreira placentária é pelo menos 1000/1 no segundo trimestre. O aumento gradual na área de difusão e na permeabilidade placentária a grandes moléculas que começa no segundo trimestre pode ser responsável pela elevação da AFP sérica materna nessa ocasião.

APLICAÇÕES DA DOSAGEM DE AFP EM OBSTETRICIA

Vários pesquisadores procuraram seguir a evolução da AFP no líquido amniótico durante a gravidez, no sangue do cordão ao nascimento e no soro do recém-nascido nos primeiros dias do período pós-natal, durante um estudo geral sobre as variações proteicas na gestação.

Grande interesse clínico no campo da cancerologia é atribuído à AFP desde que taxas anormalmente elevadas desta proteína foram detectadas em indivíduos portadores de hepatoma primitivo e teratomas.

O material pesquisador foi:

- 327 amostras do líquido amniótico obtidas entre a décima e a quadragésima terceira semanas de gestações normais e de gestações complicadas por isoimunização Rh, diabetes, hidrânio e toxemia.

- 100 amostras de sangue do cordão umbilical obtidas de recém-nascidos cujas idades gestacionais estavam compreendidas entre 33 e 43 semanas.

- 28 amostras de sangue capilar obtidas de 17 recém-nascidos entre o terceiro e o nono dia do período pós-natal todos à termo com exceção de um prematuro de 33 semanas.

Sobre cada amostra realizaram os pesquisadores, uma dosagem de proteínas totais e uma pesquisa de AFP, esta executada pelo método de imunodifusão radial simples de Mancini e obtiveram os seguintes resultados:

A pesquisa de AFP foi negativa em 301 das amostras de líquido amniótico. Para 26 amostras de líquido amniótico foi possível detectar-se a quantitativamente AFP. Em 19 amostras examinadas e que tinham sido obtidas de gestações cuja idade gestacional variava entre 10 e 24 semanas, as taxas de AFP se situaram entre 1 e 4,7mg/100ml enquanto a concentração de proteínas totais se situou entre 150 e 1300mg/100ml; não parecendo existir relação entre as taxas de AFP e de proteínas totais. As outras 7 amostras de líquido amniótico apresentaram AFP positivas e que tenham sido obtidas de gestações com mais de 24 semanas correspondiam a 6 casos de sofrimento fetal grave, tendo levado à óbito fetal (3 casos de isoimunização Rh, um caso de toxemia gravídica e outros desconhecem-se as causas do óbito).

DIAGNÓSTICO DOS DEFEITOS DA ABERTURA DO TUBO NEURAL

Também não há dúvida de que os níveis séricos maternos elevados nas gestações com defeitos de abertura do tubo neural originam-se das quantidades aumentadas no líquido amniótico cuja transferência para a circulação materna também parece começar no segundo trimestre. Os níveis amnióticos de AFP em abortos com defeitos de abertura do tubo neural no primeiro trimestre são muito altos, porém os níveis séricos maternos de AFP não são úteis para a triagem de defeitos do tubo neural até o segundo trimestre.

Pacientes que já tenham tido uma ou mais gestações afetadas por DFTN ou que sejam elas próprias afetadas, tem alto risco de apresentarem esse defeito em gestações futuras.

Após duas gestações afetadas por DFTN o risco de recorrência eleva-se para pelo menos 10%. Não pode haver dúvida de que a amniocentese para o diagnóstico antenatal de DFTN está justificado nessas gestações de alto risco.¹

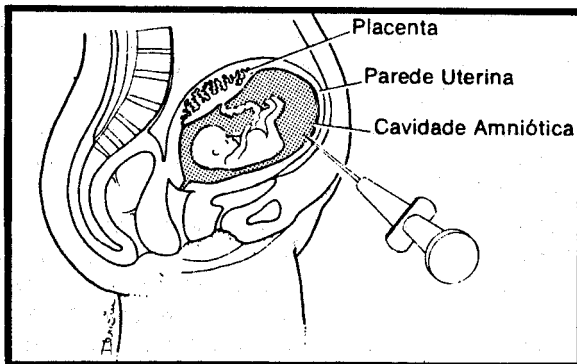
As causas mais comuns de indicação de amniocentese são as seguintes: gestante idosa (40 anos ou mais); nascimento prévio de uma criança com trissomia (p. e. síndrome de Down); anormalidades cromossômicas nos progenitores (p. e. translocação cromossômica); mulher que carrega desordens de genes recessivos ligados ao cromossoma (p. e. hemofilia); defeitos de formação do tubo neural na família; erros congênitos metabólicos; a síndrome de Meckel Gruber pode ser diagnosticada por exames de sonografia específica combinada com a medida de AFP no soro e líquido amniótico, desde 1977, 9 fetos mostrando essa síndrome foram observados, 4 casos puderam ser diagnosticados entre a décima nona e a vigésima quarta semanas de gestação; a síndrome 47XYY está relacionada com valores elevados de APF no soro materno.

AMNIOCENTESE

Uma amostra de líquido amniótico pode ser obtido inserindo-se uma agulha através da parede abdominal anterior da mãe e a parede do útero até a cavidade amniótica (Fig. 1). A seringa é, então, inserida à agulha, e o líquido amniótico é retirado. Devido ao fato de existir relativamente pouco líquido amniótico, a amniocentese é dificultada antes da décima quarta semana.

A amniocentese é relativamente desprovida de risco, especialmente quando o procedimento é feito por um obstetra experiente que é orientado pela ultra-sonografia, para localização placentária. A amniocentese é a técnica mais comum para detectar distúrbios de ordem genética e é usualmente feita na décima quinta e décima sexta semanas de gestação.²

Abaixo segue o esquema ilustrando a técnica da amniocentese (Figura 1):



A amniocentese para dosagem dos níveis de AFP devem ser o primeiro teste diagnóstico escolhido para os DFTN abertos, especialmente a espinha bífida. A confiabilidade deste teste nas pacientes de alto risco é muito impressionante. Mesmo com a dosagem de AFP em que pelo menos 10.000 amostras de líquido amniótico por ano só pudemos encontrar dois relatos convincentes de resultados falso-negativos em gestações com defeito espinhal aberto.

As pacientes devem compreender que os DFTN fechados, responsáveis por até 10% das gestações afetadas não podem ser diagnosticados. Ao contrário da raridade dos resultados falso-negativos, as elevações falso-positivas são mais comuns. Muitas destas podem ser explicadas por contaminação da amostra com sangue fetal ou pela presença de outro defeito fetal grave.

As concentrações séricas fetais de AFP são pelo menos cem vezes maiores de que as normalmente presentes no líquido amniótico, de modo que basta uma quantidade mínima de sangue contaminado para elevar os níveis de AFP até a faixa anormal no líquido amniótico.

Se uma amostra de líquido amniótico estiver visivelmente contaminado, um teste de Kleihauer e/ou uma eletroforese devem ser realizados.

Amostras de líquido amniótico de gestações com anencefalia podem conter pequenas quantidades de hemoglobina fetal na lesão aberta que é detectada pela eletroforese de hemoglobina mais sensível, porém isto não deve constituir problema sério.

Muitos outros defeitos fetais além dos DFTN abertos tem resultado em elevação dos níveis de AFP no líquido amniótico e/ou soro materno: alguns (onfalocele, gastroquise, defeitos abertos da pele, teratomas e a síndrome de Turner) estão associados com um defeito aberto ou de parede fina que pode deixar escapar componentes do soro fetal diretamente no líquido amniótico. A morte fetal com maceração produz níveis muito altos de AFP no líquido amniótico pelo mesmo mecanismo. Lesões que direta ou indiretamente impesam a deglutição fetal (obstrução intestinal, lesão cerebral grave) podem produzir níveis elevados de AFP no líquido amniótico por uma diminuição da degradação de proteínas.

Proteinúria fetal maciça é a causa do aumento dos níveis de AFP no líquido amniótico e soro materno em caso de nefrose congênita na forma Finnish.

Finalmente tem sido relatado alguns casos de obstrução urinária com aumento da bexiga ou ascite em associação com aumento dos níveis amnióticos de AFP. As concentrações urinárias fetais de AFP são um pouco maiores do que os níveis amnióticos correspondentes e em alguns casos é possível que o abdome fetal tenha sido inadvertidamente puncionado.

Após a exclusão da elevação dos níveis amnióticos de AFP devidas a DFTN, contaminação por sangue fetal ou outros defeitos fetais graves, alguns níveis anormais em gestações aparentemente normais permanecem sem explicação. Elevações falso-positivas da AFP amniótica são muito raras nas pacientes em alto risco de DFTN porque a possibilidade de um nível anormal seja devida a um DFTN, aumenta com o risco a priori da paciente. Por outro lado, a possibilidade de um nível amniótico elevado de AFP ser devido a um DFTN diminui quando o risco da paciente é baixo, e os relatos de testes falso-positivos inexplicados são mais freqüentes nas séries em populações com baixa incidência de DFTN. Nos Estados Unidos, relataram que 0,15% das amostras de líquido amniótico testadas tinham elevações falso-positivas inexplicadas.

A sofisticação cada vez maior da interpretação exigida pela dosagem da AFP no líquido amniótico, estimulou o desenvolvimento de outros métodos para o diagnóstico da espinha bífida. Esses testes são geralmente para confirmar o diagnóstico da espinha bífida sugerido por um aumento de AFP no líquido amniótico.

BIBLIOGRAFIA

- ABELEV, G. I. Alpha-fetoprotein in ontogenesis and its association with malignant tumors. *Adv. Cancer Res.* 4: 295-358, 1971.
- MASSEYELF, R.; Gilli, J.; Krebs, B.; Callaud, A. and Bonet, C. Evolution of alpha-fetoprotein serum levels throughout life in humans and rats, and during pregnancy in the rat. *Annals New York Academy of Sciences*: 17-28, 1975.
- PEDERSEN, B. N.; Bagger, P. Bang, J.; Rasmussen, W. F.; Gad, G.; Hasch, E.; Helkjaer, P. E.; Jacobsen, J. C.; Kjeldsen, J.; Kjaersgaard, E.; Petersen, P. L.; Philip, J.; Thisted, J. and Larsen, K. T. Maternal-serum-alpha-fetoprotein screening for fetal malformations in 28062 pregnancies. *Acta Obstet. Gynecol. Scand* 64: 511-514, 1985.
- Tomasi, T. B. Structure and function of alpha-fetoprotein *Ann. Rev. Med.* 28:453-465, 1977.