

Liliana Patrícia Teixeira da Costa

“Alterações Encefálicas no 2º Trimestre de Fetos com Trissomia 21”

Avaliação de casos de Interrupção Médica de Gravidez



Mestrado em Medicina e Oncologia Molecular
Faculdade de Medicina da Universidade do Porto

Setembro de 2016

Liliana Patrícia Teixeira da Costa

**Alterações Encefálicas no 2º Trimestre
de fetos com Trissomia 21**

Avaliação de casos de Interrupção Médica de Gravidez

Tese de Mestrado apresentada ao Curso
de Mestrado de Medicina e Oncologia
Molecular, para obtenção do grau de
Mestre sob orientação do Professor
Doutor José Manuel Lopes e da Mestre
Susana Guimarães

Porto

Setembro de 2016

Dedicatória:

Aos meus pais, pois sem eles,
não poderia realizar mais um grande sonho!

Agradecimentos:

Durante o tempo de investigação e pesquisa sobre esta tese, não só adquiri experiência, como também tive oportunidade de conhecer algumas pessoas que me transmitiram os seus conhecimentos.

Aos meus Orientadores, Professor Doutor José Manuel Lopes e Mestre Susana Guimarães, que procuraram sempre ensinar-me e apoiar-me, o meu muito obrigado, por estarem sempre disponíveis para me ensinarem e corrigirem os meus erros.

Ao coordenador do Mestrado de Medicina e Oncologia Molecular, Professor Henrique Almeida, pelo ensinamento e teoria transmitida.

À instituição que me acolhe, Faculdade de Medicina da Universidade do Porto - FMUP, o meu muito obrigado.

Ao Serviço de Anatomia Patológica do Centro Hospitalar São João, nomeadamente à Professora Doutora Fátima Carneiro, que permitiu a realização de todo o trabalho prático integrado no âmbito desta tese.

Ao corpo técnico do Serviço de Anatomia Patológica do Centro Hospitalar São João, nomeadamente à Dr.^a Sandra Relvas e Dr.^a Helena Pereira, que me ajudaram na realização das técnicas de Imuno-Histoquímica, ao Dr. Armando Castro, Dr. Armindo Pereira e Dr. Manuel Moutinho, pela ajuda, apoio e motivação que sempre prestaram na realização deste trabalho.

À Dr.^a Otília Brandão, pelo apoio, ajuda e ensinamentos que sempre me deu neste trabalho e em toda a minha vida profissional.

Ao Dr. Nuno Botelho, que trabalha comigo e me ajudou em tudo o que precisei para o desenvolvimento desta tese de mestrado.

À Dr.^a Cátia Silva que além de colega de trabalho, é mais que uma amiga. Pelos seus ensinamentos, ajuda, apoio incondicional, motivação, companheirismo, incentivo, amizade, paciência e total ajuda na superação dos obstáculos que ao longo desta caminhada foram surgindo, a ela o meu muito obrigado.

Ao Serviço de Genética do Centro Hospital São João – Faculdade de Medicina do Porto, o meu agradecimento à Professora Doutora Filipa Carvalho, pela prontidão de ajuda que me deu na cedência dos cariótipos necessários ao meu trabalho.

Ao Mestre Miguel Moreira que me ajudou na realização dos dados estatísticos.

Ao Emanuel Brás, que me apoiou neste desafio a que me propus.

A todos os que (mesmo não mencionando o nome, sabem quem são) de uma forma ou outra me proporcionaram e me incentivaram à realização do Mestrado de Medicina e Oncologia Molecular.

E um agradecimento de forma muito especial, aos meus Pais, por acreditarem sempre em mim e naquilo que faço e por todos os ensinamentos de vida. Espero que esta etapa, que agora termino, possa, de alguma forma, retribuir e compensar todo o carinho, apoio e dedicação que, constantemente, me oferecem. A eles, dedico todo este trabalho.

*“ O estudo da Anatomia Patológica está cada vez mais presente no dia-a-dia,
e a sua evolução marcará um dia a diferença!”*

Liliana Costa



Liliana Patrícia Teixeira da Costa
Alterações Encefálicas no 2º Trimestre de Fetos com Trissomia 21

Mestrado em Medicina e Oncologia Molecular

Trabalho efetuado sob a Orientação de:

Professor Doutor José Manuel Lopes
Mestre Susana Guimarães

Setembro 2016

Faculdade de Medicina da Universidade do Porto 2013/2016
Unidade Curricular “Dissertação/Tese de Mestrado”

Projeto do 2º ano de Mestrado de Medicina e Oncologia Molecular

DECLARAÇÃO DE REPRODUÇÃO

Nome: Liliana Patrícia Teixeira da Costa

Endereço eletrónico: lilianaptcosta@gmail.com

Telefone ou Telemóvel: +351 969174766

Número de Aluna: 200908131

Título da Tese: Alterações Encefálicas no 2º Trimestre de Fetos com Trissomia 21

Orientadores: Professor Doutor José Manuel Lopes,

Mestre Susana Guimarães

Ano de conclusão: 2016

É autorizada a reprodução integral desta Monografia para efeitos de investigação e de divulgação pedagógica, em programas e projetos coordenados pela FMUP.

Faculdade de Medicina da Universidade do Porto, Setembro 2016

Projeto do 2º ano de Mestrado de Medicina e Oncologia Molecular
DECLARAÇÃO DE INTEGRIDADE

Unidade Curricular “Dissertação/Tese de Mestrado”

Eu, Lílíana Patrícia Teixeira da Costa, com o número de aluna 200908131, estudante do 2º ano do Mestrado em Medicina e Oncologia Molecular, na Faculdade de Medicina da Universidade do Porto, declaro ter atuado com absoluta integridade na elaboração deste projeto de opção.

Neste sentido, confirmo que NÃO incorri em plágio (ato pelo qual um indivíduo, mesmo por omissão, assume a autoria de um determinado trabalho intelectual, ou partes dele). Mais declaro que todas as frases que retirei de trabalhos anteriores pertencentes a outros autores foram referenciadas, ou redigidas com novas palavras, tendo colocado, neste caso, a citação da fonte bibliográfica.

Faculdade de Medicina da Universidade do Porto, Setembro 2016

Página de Rosto

Alterações Encefálicas no 2º Trimestre de Fetos com Trissomia 21

Avaliação de casos de Interrupção Médica de Gravidez

Liliana Patrícia Teixeira da Costa

Faculdade de Medicina da Universidade do Porto

Endereço: Rua da Portelinha, 93

4510-638 Fânzeres - Gondomar

Telemóvel: +351 969174766

Endereço eletrónico: *lilianapcosta@gmail.com*

Resumo

A trissomia 21 é a alteração cromossômica mais frequente em humanos, afetando em Portugal cerca de um em cada 800 nascidos-vivos. É causada, na maioria dos casos, por uma cópia extra do cromossoma 21 e caracterizada por várias alterações em múltiplos órgãos e sistemas. Embora estes defeitos sejam inconsistentes na sua ocorrência e expressão, o défice cognitivo, está invariavelmente presente. As manifestações da síndrome de Down variam muito de indivíduo para indivíduo, dependendo do *background* genético e de fatores ambientais, entre outros fatores.

Os objetivos deste trabalho foram: i)- avaliar e descrever as alterações encefálicas no segundo trimestre de fetos com trissomia 21, considerando a idade gestacional (IG) de 17 semanas; ii)- comparar os achados, para os mesmos parâmetros e IG, com os de encéfalos de fetos sem aneuploidia cromossômica; iii)- analisar e comparar os resultados com os publicados na literatura de referência.

Foi realizado um estudo retrospectivo, de Janeiro de 2006 a Dezembro de 2014, para descrever as características dos casos estudados, e estabelecer a relação entre as variáveis avaliadas. Foram avaliados 18 fetos com trissomia 21, submetidos a interrupção médica de gravidez (IMG), no Centro de Diagnóstico Pré-Natal do Centro Hospitalar de São João, e comparados com 16 fetos sem aneuploidia cromossômica, submetidos a IMG por outras causas ou por abortamento espontâneo, com a mesma IG mas sem evidência de alterações neuropatológicas, hidropsia ou malformações crânio-encefálicas, de ambos os sexos, para avaliar idade materna e parâmetros biométricos, incluindo peso total do feto, comprimento crânio-cóccix, comprimento do pé, peso do encéfalo, diâmetro biparietal, diâmetro fronto-occipital e diâmetro transversal do cerebelo, e outras alterações encefálicas. Adicionalmente avaliaram-se as espessuras de 3 regiões encefálicas (região parietal pósterio-ventral - PPV, região temporal médio-inferior - TMI e hipocampo - HC) e 2 regiões cerebelares (vérnis -V e hemisfério cerebelar - C) nos fetos com trissomia 21 e nos fetos controlo. Na região do hipocampo, vérnis e hemisfério cerebelar foram avaliadas as espessuras máximas. Na região parietal pósterio-ventral e temporal médio-inferior foram avaliadas as espessuras das seguintes sub-regiões: placa cortical - PC (zona marginal e placa cortical), zona subcortical - ZSC, zona intermédia - ZI (substância branca fetal), e a zona ventricular - ZV (zona subventricular e zona ventricular).

A idade materna foi superior nos casos com T21 do que no grupo controlo. Identificaram-se diferenças crânio-encefálicas significativas entre fetos com T21 às 17 semanas de idade gestacional quando comparadas com controlos, indicando que as alterações da neurogénese se iniciam precocemente no desenvolvimento fetal. O peso do encéfalo, nos casos de T21, foi inferior ao dos controlos e esta diferença foi estatisticamente significativa, o mesmo acontecendo com o diâmetro fronto-occipital, o que reforça a convicção de que a braquicefalia é frequente nos fetos com T21; adicionalmente, a espessura dos hemisférios cerebelares foi significativamente inferior no grupo T21 do que no grupo de controlo; a espessura das sub-regiões da placa cortical e da zona intermédia na região temporal apresentaram valores superiores nos fetos com T21.

Este trabalho é único em Portugal e também, de acordo com a revisão bibliográfica, em publicações internacionais. A medição sistemática das espessuras das sub-regiões do córtex cerebral, do hipocampo e de duas regiões do cerebelo, em fetos com trissomia 21 com 17 semanas de idade gestacional, nunca tinha sido publicada, permitindo este estudo um esclarecimento mais objetivo das alterações morfométricas e biométricas em encéfalos de fetos com T21.

Sendo uma das principais causas de IMG no 2º trimestre de gravidez, a avaliação sistemática das alterações tecidulares que ocorrem na trissomia 21 pode ser muito relevante para esclarecer diferenças (com expressão variável) no desenvolvimento encefálico humano, e contribuir para a identificação precoce da gravidade do potencial défice mental, fornecendo aos pais esclarecimentos mais precisos em termos de capacidades motoras e intelectuais de fetos diagnosticados com T21, facilitadores da sua decisão informada.

Palavras-chave: Trissomia 21, interrupção médica de gravidez, encefalopatia, morfogénese, biometria

Abstract

Trisomy 21 is the most common chromosomal disorder in humans, affecting in Portugal approximately one in every 800 live births. It is caused in most cases by an extra copy of chromosome 21 and characterized by several changes in multiple organs and systems. Although these defects are inconsistent in their occurrence and expression, cognitive impairment is invariably present. Down syndrome manifestations may be variable between cases, depending on the genetic background and environmental factors, among others.

The objectives of this study were: i)- to assess and describe the brain changes in the second trimester of fetuses with trisomy 21, considering the gestational age (GA) of 17 weeks; ii)- to compare findings, for the same parameters and GA, with brains of fetuses without chromosomal aneuploidy; iii)- to analyze and compare with those found in literature reports.

A retrospective study was conducted from January 2006 to December 2014, in order to describe the characteristics of the studied cases, and establish the relationship between the evaluated parameters. Eighteen fetuses with trisomy 21, submitted to medical termination of pregnancy (MTP) in the Center of Prenatal Diagnosis of Hospital de São João, were evaluated and compared with 16 fetuses without chromosomal aneuploidy submitted to MTP due to other causes or spontaneous miscarriage in the same gestational age but without evidence of neuropathological changes, hydrops or cranial or encephalic malformations, of both sexes, to evaluate maternal age and biometric parameters including total weight of the fetus, crown-rump length, foot length, brain weight, biparietal diameter, fronto-occipital diameter and transverse diameter of the cerebellum, and other brain alterations. An evaluation of three brain regions (posterolateral-ventral parietal region, mid-lower temporal region and hippocampus) and 2 cerebellar regions (vermis and cerebellar hemisphere) in all T21 and control fetuses was also performed. The evaluated thicknesses in the hippocampus, vermis and cerebellar hemisphere was the maximum. The posterolateral-ventral parietal region and mid-lower temporal region thickness in the following sub-regions were also evaluated: cortical plate (marginal zone and cortical plate), subplate, intermediate zone (fetal white matter), and ventricular zone (ventricular and subventricular zone).

Maternal age was higher in T21 cases compare to controls. There were significant craneo-encephalic differences between T21 and control fetuses, indicating that neurogenic alterations start early in the fetus development. Encephalus weight of T21 cases was lower, but not significant compare to controls as as well as fronto-occipital diameter, supporting the assumption that brachycephaly is frequent in T21; furthermore, cerebellar hemisphere thickness was significantly lower in T21; the cortical plate and intermediate zone subregions of the temporal region were higher in T21 fetuses.

This work is unique in Portugal as well as in reported papers, according to the literature review. The systematic assesment of cortical encephalus subregions, hippocampus and the two cerebellar regions in T21 fetuses (17 gestational weeks) was so far never reported, and allowed a more accurate morphometric and biometric evaluation of T21 encephalus.

Considering that T21 is a main cause of MTP at the second pregnancy trimester, the systematic tissue evaluation in this setting may be relevant to clarify variable expression features during human encephalus development, and assist the early identification of the potential degree of intellectual and motor deficit, in order to offer parents accurate information and help their informed consent decision about their T21 fetuses.

Keywords: Trisomy 21, medical termination of pregnancy, encephalopathy, morphogenesis, biometry

Índice

Resumo.....	XIII
Abstract.....	XV
Índice.....	XVII
Introdução	1
Revisão Bibliográfica	2
1. Dados históricos	3
2. Caracterização genética da síndrome de Down	3
2.1 Trissomia 21 - Mais Comum	4
2.2 Translocação Robertsoniana	4
2.3 Mosaicismo	5
2.4 Duplicação de uma porção do cromossoma 21.....	5
3. Fatores de risco	5
4. Trissomia 21 em Portugal e a nível internacional.....	6
5. Diagnóstico pré-natal.....	6
6. Embriologia do sistema nervoso central	9
7. Estrutura do sistema nervoso central entre as 16 e as 18 semanas de IG.....	13
8. Na síndrome de Down.....	14
Material e Métodos	18
1. Casos	18
2. Técnica de Autópsia	19
2.1. Fixação.....	20

3. Avaliação Morfométrica.....	21
3.1 Avaliação macroscópica dos encéfalos dos casos de trissomia 21	21
3.2 Avaliação microscópica dos encéfalos dos casos de trissomia 21.....	22
Técnica de hematoxilina e eosina	22
3.3 Avaliação macroscópica dos encéfalos dos casos de controlo	27
3.4 Avaliação microscópica dos encéfalos dos casos de controlo	28
5. Análise Estatística	32
Variáveis e sua categorização	33
Resultados.....	35
Discussão.....	51
Conclusão.....	55
Benefícios pessoais	57
Bibliografia	59

Índice de Figuras

Figura 1- Evisceração do encéfalo (A a M)	20
Figura 2- Registo macroscópico de encéfalo de um caso de trissomia 21 (caso 13) aspeto superior (A), inferior (B), lateral (C) e medial (D).....	21
Figura 3- Corte do encéfalo de um caso de trissomia 21 (caso 13).....	22
Figura 4- Corte do cerebelo de um caso de trissomia 21 (caso 13).....	22

Figura 5- Histologia (H&E, digitalização) do encéfalo de um caso de trissomia 21 (caso 11). Representação das regiões encefálicas avaliadas: parietal póstero-ventral (PPV); temporal médio- inferior (TMI); hipocampo (HC).....	24
Figura 6- Histologia (H&E, digitalização) do cerebelo de um caso de trissomia 21 (caso 8): Representação das regiões cerebelares avaliadas.....	24
Figura 7- Histologia (H&E, x25) do córtex, na região parietal póstero-ventral (PPV) de um caso de trissomia 21 (caso 11): Representação das sub-regiões corticais cuja espessura foi avaliada: placa cortical (PC); zona subcortical (ZSC); zona intermédia (ZI); zona ventricular (ZV).....	25
Figura 8- Histologia (H&E, x25) do córtex, na região Temporal Médio-inferior (TMI) de um caso de trissomia 21 (caso 11). Representação das sub-regiões corticais cuja espessura foi avaliada: placa cortical (PC); zona subcortical (ZSC); zona intermédia (ZI); zona ventricular (ZV).....	25
Figura 9- Histologia (H&E, x25) do córtex, na região do Hipocampo (HC) de um caso de trissomia 21 (caso 11): Representação das sub-regiões corticais cuja espessura foi avaliada.....	25
Figura 10- Histologia (H&E, x25) do cerebelo, na região dos hemisférios cerebelares de um caso de trissomia 21 (caso 8): Representação das sub-regiões corticais cuja espessura foi avaliada.....	26
Figura 11- Histologia (H&E, x25) do cerebelo, na região do vérmis de um caso de trissomia 21 (caso 8): Representação das sub-regiões corticais cuja espessura foi avaliada.....	26
Figura 12- Registo macroscópico de encéfalo de um caso de controlo (controlo 6): aspeto superior (A), inferior (B), lateral (C) e medial (D).....	27
Figura 13- Corte de encéfalo de um caso de controlo (controlo 6).....	28
Figura 14- Corte do cerebelo de um caso de controlo (controlo 10)	28

Figura 15- Histologia (H&E, digitalização) do encéfalo de um caso de controlo (caso 6):
Representação das regiões encefálicas analisadas: parietal póstero-ventral (PPV); temporal médio-
inferior (TMI); hipocampo (HC)..... 29

Figura 16- Histologia (H&E, digitalização) do cerebelo de um caso de controlo (caso 10):
Representação das regiões cerebelares avaliadas..... 29

Figura 17- Histologia (H&E, x25) do córtex, na região parietal póstero-ventral (PPV) de um caso de
controlo (caso 6). Representação das sub-regiões corticais cuja espessura foi avaliada: placa cortical
(PC); zona subcortical (ZSC); zona intermédia (ZI); zona ventricular (ZV)..... 30

Figura 18- Histologia (H&E, x25) do córtex, na região temporal médio-inferior (TMI) de um caso de
controlo (caso 6). Representação das sub-regiões corticais cuja espessura foi avaliada: placa cortical
(PC); zona subcortical (ZSC); zona intermédia (ZI); zona ventricular (ZV)..... 30

Figura 19- Histologia (H&E, x25) do córtex, na região do hipocampo (HC) de um caso de controlo
(caso 6). Representação das sub-regiões corticais cuja espessura foi avaliada..... 30

Figura 20- Histologia (H&E, x25) do cerebelo, na região do vérmis de um caso de controlo (caso 10).
Representação das sub-regiões corticais cuja espessura foi avaliada..... 31

Figura 21- Histologia (H&E, x25) do cerebelo, na região dos hemisférios cerebelares de um caso de
controlo (caso 10). Representação das sub-regiões corticais cuja espessura foi avaliada..... 31

Índice de Tabelas

Tabela 1. Casos com Trissomia 21 – dados clínicos e paramétricos	37
Tabela 2. Casos de controlo - dados clínicos e paramétricos.....	38
Tabela 3. Média/Desvio-Padrão (DP) e mediana dos parâmetros avaliados nos casos de controlo e nos casos com T21.....	40
Tabela 4. Média/Desvio-Padrão (DP) e mediana por género e grupos nos casos de controlo e nos casos com T21	41
Tabela 5. Teste T- <i>Student</i> dos parâmetros avaliados nos casos de controlo e nos casos com T21....	43
Tabela 6. Casos com T21: valores das espessuras das regiões corticais e do hipocampo	44
Tabela 7. Casos de controlo: valores das espessuras das regiões corticais e do hipocampo	45
Tabela 8. Valores das espessuras do vérmis e dos hemisférios cerebelares nos casos com T21 e nos casos controlo.....	46
Tabela 9. Comparação das espessuras das regiões do córtex parietal póstero-ventral (PPV) do grupo de controlo com o grupo T21 (teste T- <i>Student</i>)	47
Tabela 10. Comparação das espessuras das regiões do córtex temporal médio-inferior (TMI) do grupo de controlo com o grupo T21 (teste T- <i>Student</i>)	48
Tabela 11. Comparação das espessuras das regiões do hipocampo do grupo de controlo com o grupo T21 (teste T- <i>Student</i>)	49
Tabela 12. Média/Desvio-Padrão e mediana das espessuras do vérmis e hemisfério cerebelar no cerebelo nos casos de controlo e dos casos com T21 (teste T- <i>Student</i>).....	49

Lista de Abreviaturas

T21 - Trissomia 21

SD - síndrome de Down

ADN – ácido desoxirribonucleico

PC – placa cortical

ZSC – zona subcortical

ZV - zona ventricular

ZI – zona intermédia

β -hCG - fração beta da gonadotrofina coriónica humana

PAPP-A - proteína plasmática associada à gravidez

AFP - alfa-fetoproteína

uE3 - estriol não conjugado

GFAP - proteína glial fibrilar acídica

H&E - hematoxilina e eosina

IMG - interrupção médica de gravidez

IVG - interrupção voluntária de gravidez

IG - idade gestacional

μ m – micras

CR – cajal-retzius

Sinais Convencionais

% - Percentagem

< - Menor que...

> - Maior que...

Introdução

Esta tese de mestrado foi realizada no âmbito do 2º ano de Mestrado, do curso de Mestrado em Medicina e Oncologia Molecular da Faculdade de Medicina da Universidade do Porto.

Os objetivos deste trabalho foram:

- . avaliar e descrever as alterações encefálicas no 2º trimestre de fetos com trissomia 21, considerando a idade gestacional (IG) de 17 semanas;
- . comparar os achados, para os mesmos parâmetros e IG, com os de encéfalos de fetos sem aneuploidia cromossómica;
- . analisar as eventuais diferenças encontradas considerando os resultados publicados na literatura de referência.

O trabalho organizou-se em duas partes:

- na primeira, uma revisão bibliográfica com descrição de várias alterações patológicas no sistema nervoso central de fetos com trissomia 21, bem como algumas características genéticas associadas à doença.

- na segunda, os objetivos gerais, a metodologia, a caracterização dos casos e dos controlos e dos parâmetros estudados, a análise estatística, a discussão e a interpretação/conclusão do trabalho.

Revisão Bibliográfica

A prática médica no domínio dos cuidados pré-natais e perinatais revelou nas últimas décadas um desenvolvimento considerável. Para tal, foram determinantes os progressos no diagnóstico pré-natal e o melhor conhecimento da etiopatogenia das síndromes obstétricas de alto risco, quer materno quer fetal, a melhoria das unidades de cuidados intensivos neonatais e o impacto, cada vez maior, do aconselhamento genético.

A capacidade de estabelecer a etiopatogenia das causas de abortamento precoce e tardio, a necessidade de identificação precoce de fatores de risco fetal e materno, bem como o despiste de fatores de risco para gestações futuras, são elementos determinantes no estudo da patologia obstétrica. Por outro lado, segundo *Lijnschoten G.* (1993) (1, 2) a autópsia fetal e perinatal tem-se revelado crucial, não só na confirmação do diagnóstico pré-natal, mas também na caracterização de síndromes genéticas, bem como de outras lesões imputáveis à unidade materno-feto-placentar.

A trissomia 21 (T21) caracteriza-se pela existência de três cromossomas 21. *John Langdon Down* (médico britânico) descreveu em 1862 as alterações características da trissomia 21, conhecidas como síndrome de Down (SD). A causa genética desta síndrome foi descrita em 1958 por *Jérôme Lejeune*.(3-5) É a aneuploidia cromossômica mais comum, que se caracteriza invariavelmente por défice cognitivo, mais ou menos grave, vulgarmente referido como atraso mental, e que se pensa resultar de várias alterações morfológicas, designadamente diminuição do número de células neuronais e gliais, predominantemente nas regiões neocorticais, redução do volume cortical e atraso no processo de mielinização. (6-9)

1. Dados históricos

As crianças com síndrome de Down foram frequentemente representadas na arte, mas a primeira descrição médica ocorreu apenas no século XIX. Em 1862, o médico britânico *John Langdon Down* descreve a síndrome e, baseado nas teorias racistas da época, atribuiu a sua causa a uma degenerescência responsável pela semelhança fenotípica de filhos de europeus (portadores da síndrome) com indivíduos mongóis, e sugeriu como etiologia a tuberculose dos pais com filhos afetados pela doença. (10) *J. Down* recomendava que as pessoas com a síndrome fossem treinadas, e que o incentivo ao treino fosse sempre positivo. (10)

O termo Síndrome de Down (SD) foi referido pela primeira vez pelo editor da revista *The Lancet*, em 1961. Era, até a data, denominado como mongolismo, pela semelhança observada por Down entre a expressão facial de alguns dos seus pacientes e a de indivíduos oriundos da Mongólia. Porém, a designação *mongol* ou *mongoloide*, ganhou um sentido pejorativo e até ofensivo, pelo que foi banida da terminologia científica.(4)

Na segunda guerra mundial, pessoas com qualquer tipo de deficiência (física ou mental) foram exterminadas pelos Nazis, no programa chamado *Aktion T4*. (11)

Há estimativas atuais que indicam que 91-93% dos fetos diagnosticados com SD são submetidos a interrupção médica da gravidez. (12)

2. Caracterização genética da síndrome de Down

A síndrome de Down acontece quando ocorre uma divisão celular anormal que envolve o cromossoma 21, resultando num excesso de material genético do cromossoma 21. Qualquer uma de 3 variações genéticas pode causar a síndrome, sendo que a trissomia do cromossoma 21 é a mais frequente (95% dos casos).

Os efeitos da cópia extra do gene variam muito de indivíduo para indivíduo, dependendo da extensão do segmento triplicado, do *background* genético, de fatores ambientais entre outros fatores. (13)

2.1 Trissomia 21 - Mais Comum

A trissomia 21 é considerada a causa de aproximadamente 95% dos casos, sendo 88% resultantes da não-disjunção meiótica do gâmeta materno e 8% do gâmeta paterno. (14) Neste contexto, o doente terá três cópias de todos os genes do cromossoma 21.

2.2 Translocação Robertsoniana

No fim dos anos 50 descobriu-se que 5% dos casos era causado por translocação cromossômica. Como as translocações são frequentemente herdadas, esta forma da doença é também designada por SD familiar. Nestes casos, um segmento do cromossoma 21 é transferido para um segundo cromossoma, habitualmente o cromossoma 14 ou o 15. Quando o cromossoma translocado com o segmento extra do cromossoma 21 é herdado juntamente com duas cópias normais do cromossoma 21, ocorre SD. É possível, no entanto, a ocorrência de casos que herdam a translocação do cromossoma 21 sem adquirirem a doença. Estes indivíduos, designados como portadores da translocação, herdam ambos os produtos da translocação original, tendo duas alterações cromossômicas, mas que se compensam (translocação equilibrada).

As translocações Robertsonianas podem ser de dois tipos: simples, quando apenas um cromossoma perde uma parte para um outro não homólogo; e recíproca, quando os segmentos são trocados entre dois cromossomas não homólogos.

A translocação Robertsoniana é um dos vários tipos de translocação que os citogeneticistas identificaram na SD. É causada por uma translocação entre os cromossomas 15 e 21, em que os braços longos de 2 cromossomas acrocêntricos são translocados, produzindo um único cromossoma longo e um muito curto que falha a segregação, reduzindo o número total de cromossomas no indivíduo. Pode ocorrer *de novo* ou pode ser herdada de um dos progenitores, que não apresenta as manifestações da SD, pois tem uma translocação Robertsoniana equilibrada, 45,XX (ou XY),-15,-21,+t (15,21). (15)

2.3 Mosaicismo

Cerca de 1-2% dos casos são devidos a mosaicismo, isto é, o indivíduo apresenta perfis genéticos diferentes nas suas células. Isto pode ocorrer em resultado de mutações espontâneas do ácido desoxirribonucleico (ADN), reversão espontânea de uma mutação previamente existente no ADN, alterações epigenéticas no ADN cromossómico ou por alterações cromossómicas. Admite-se que na maioria dos casos com SD, o zigoto era inicialmente trissómico, mas perde o terceiro cromossoma 21 em algumas populações celulares que se continuam a dividir durante o desenvolvimento, originando assim um mosaico.

Saliente-se que há variabilidade na fração de células trissómicas/número de células euploides, quer na totalidade do organismo quer num tecido específico do organismo e, por isso, é provável que muitos indivíduos com fenótipos aparentemente “normais” tenham uma pequena fração de células aneuploides, ou seja, com um número alterado de cromossomas.

2.4 Duplicação de uma porção do cromossoma 21

A literatura médica reporta casos em que uma região do cromossoma 21 pode apresentar um fenómeno de duplicação; ou seja, uma quantidade extra de genes neste cromossoma, mas não em todos, podendo ocorrer manifestações da síndrome de Down indetetáveis no cariótipo. (16)

3. Fatores de risco

1. Idade materna: há uma relação importante entre a idade materna e a síndrome de Down. Após os 35 anos, a mulher tem maior probabilidade de ter filhos com T21. Aos 20 anos estima-se um risco de 1:1600, aos 35 anos de 1:370, e acima dos 45 anos de 1:25. (17)

No entanto, a maioria das crianças com síndrome de Down nascem de mulheres com menos de 35 anos de idade, porque as mulheres mais jovens têm maior facilidade em engravidar. (12)

2. Ter um filho com síndrome de Down: habitualmente uma mulher que tem um filho com síndrome de Down tem cerca de 1:100 de probabilidade de ter outra criança com síndrome de Down. (12)

3. Ser portador da translocação genética para a síndrome de Down: tanto os homens como as mulheres podem passar a translocação genética para os seus filhos. (12)

Segundo Schwartzman (1999) o risco do nascimento de uma criança com síndrome de Down é cerca de 18 vezes maior numa mãe de 40 anos, quando comparada a uma mãe de 20 anos. (18, 19) Segundo Sérgio Castedo (20) na atualidade este conceito tem vindo a mudar, uma vez que a idade materna tem vindo a aumentar e, por outro lado, os casos de SD ocorrem em mães com grande variação nas idades.

4. Trissomia 21 em Portugal e a nível internacional

Dados revelados em Maio de 2013 indicam que em Portugal, um em cada 800 recém-nascidos nasce com trissomia 21. Quando a síndrome é detetada através do diagnóstico pré-natal, 95% dos casos são submetidos a interrupção médica da gravidez por opção parental. (21)

Estima-se que em Portugal, cerca de 15 mil pessoas sejam portadoras de síndrome de Down. (22)

Em 2006 foi criado o dia internacional da síndrome de Down. A data 21 de março foi escolhida pela *Down Syndrome International Association*, pelos três cromossomas 21, então: 3-21 na língua inglesa ou 21-3. (23)

5. Diagnóstico pré-natal

O diagnóstico da síndrome de Down é realizado através de um exame genético (cariótipo) que é a representação do conjunto de cromossomas de uma célula, através da análise ao sangue da mãe para verificar se a proteína plasmática associada à gravidez (PAPP-A) e a fração beta da gonadotrofina coriônica humana (β -hCG) estão ou não aumentadas (24, 25). Por norma é feita no primeiro trimestre da gravidez, na décima primeira semana de vida intrauterina.

A PAPP-A é uma glicoproteína produzida especificamente pelo trofoblasto, pelo que é encontrada apenas em mulheres grávidas (24). As concentrações de PAPP-A são detetáveis a partir da oitava semana de gestação, e aumentam progressivamente durante a gravidez.(26, 27)

Nas gestações de fetos com síndrome de Down, os níveis desta proteína estão significativamente diminuídos. (28) Desta forma, a PAPP-A pode ser utilizada no rastreio de trissomia 21, especialmente durante o primeiro trimestre. (29) Quando comparada com os outros marcadores isolados, a PAPP-A oferece a taxa de deteção mais elevada no rastreio precoce de trissomia 21. (30)

A β -hCG é produzida em concentrações muito elevadas pelas células trofoblásticas da placenta; a sua concentração aumenta exponencialmente nas primeiras oito semanas de gestação, atingindo um pico na décima semana após o último período menstrual; após este período, os níveis diminuem gradualmente até ao final da gravidez. (31-33); o aumento desta hormona parece ser um dos marcadores mais sensíveis na deteção da trissomia 21. (25)

As trissomias só podem ser diagnosticadas por citogenética, através de um exame dos cromossomas chamado cariótipo. O exame é realizado em células do líquido amniótico, colhido por amniocentese. A amniocentese, contudo, sendo uma técnica invasiva, pode provocar abortamento em 1-2 % dos casos. Não é uma técnica de rastreio, que deva ser oferecida à generalidade das grávidas. Até aos anos 90, a amniocentese era realizada nas grávidas acima dos 35-37 anos, em que o risco de uma trissomia era praticamente igual ao risco de abortamento induzido pela técnica. Mas como a maioria das grávidas é mais jovem, apenas 30 % dos casos eram diagnosticados. O desenvolvimento de fórmulas estatísticas que permitem calcular o risco específico de cada gravidez, associado a marcadores bioquímicos e ecográficos, veio permitir uma nova abordagem: a amniocentese passou a ser efetuada nos casos em que o risco calculado era superior a um valor pré-definido.

Existem várias combinações possíveis de marcadores bioquímicos e ecográficos, testados e validados por estudos multicêntricos internacionais.

Rastreamento do 1º trimestre ou combinado (34)

Entre as 10 e as 13 semanas de gravidez:

- doseamento de dois marcadores bioquímicos (fração livre da β -hCG e PAPP-A)
- medição da translucência da nuca (por ecografia)

Rastreamento do 2º trimestre, sendo que o período que permite melhores resultados é entre as 16 e as 18 semanas):

Entre as 15 e as 22 semanas de gravidez

- doseamento de dois a quatro marcadores bioquímicos (α -fetoproteína, estriol livre, inibina-A e fração livre da β -hCG)

Rastreamento integrado:

Entre as 10 e as 13 semanas de gravidez

- doseamento de um marcador bioquímico (PAPP-A)
- medição da translucência da nuca (por ecografia)

Entre as 15 e as 22 semanas de gravidez

- doseamento de dois a quatro marcadores bioquímicos (α -fetoproteína, estriol livre, inibina-A e fração livre da β -hCG)

6. Embriologia do sistema nervoso central

A neurulação consiste na formação do tubo neural a partir da ectoderme no embrião. Durante a gastrulação as células migram para o interior do embrião, formando três camadas germinativas: a endoderme (mais profunda), a mesoderme e a ectoderme (mais externa), a partir das quais todos os órgãos e tecidos se originam. O sistema nervoso tem origem na ectoderme.

No fim da segunda semana pós-concepção, o embrião é uma estrutura simples, ovalada e com duas camadas. Cada uma dessas camadas contém um tipo de células primitivas diferentes: a camada superior contém as células do epiblasto; a camada inferior contém as células do hipoblasto. No fim da terceira semana, o embrião transforma-se, através de um conjunto de processos referidos como gastrulação, numa estrutura com 3 camadas. As células do epiblasto diferenciam-se em 3 linhagens celulares estaminais (*stem*), que originam todas as estruturas do embrião em desenvolvimento; as células do hipoblasto originam os tecidos extra-embriônicos. Nas 3 linhagens de células *estaminais* incluem-se as células estaminais neurais, capazes de produzir todas as células do sistema nervoso central, designadas também como células progenitoras neuronais. (35)

O primeiro passo no desenvolvimento do encéfalo envolve a formação da primeira estrutura neural bem definida, a placa neural. No final da gastrulação, as células progenitoras neurais diferenciaram-se e dispõem-se ao longo da linha média do eixo rostral-caudal, na camada superior do embrião de três camadas. Esta região designa-se placa neural. O primeiro sinal de desenvolvimento do tubo neural, consiste no aparecimento de duas cristas de cada lado da placa neural, localizando-se as células progenitoras neurais no centro da placa neural. Ao longo dos dias subsequentes, as cristas crescem, dobram-se para dentro e fundem-se, formando um tubo oco. A fusão inicia-se no centro do tubo neural em formação e estende-se em direção à extremidade rostral e à extremidade caudal. O neuroporo (*neuropore*) anterior na porção mais rostral do tubo neural e o neuroporo posterior na região mais caudal, são os últimos a encerrar. Quando o tubo neural está completo, as células progenitoras neuronais constituem uma camada única no centro, imediatamente adjacentes ao tubo rectilíneo oco. À medida que o encéfalo cresce e fica mais complexo, a conformação do tubo oco também se altera, eventualmente formando o sistema ventricular do cérebro. Como as células progenitoras neuronais estão próximas desta zona, irão constituir a zona ventricular. As células progenitoras neuronais na porção mais rostral do tubo neural irão originar o encéfalo, enquanto as células progenitoras neuronais na região mais caudal irão originar o rombencéfalo e a espinal medula.

Mas ainda antes do encerramento completo do tubo neural, a porção mais anterior do tubo expande-se substancialmente e origina 3 vesículas encefálicas primitivas ou primordiais: a mais anterior corresponde ao prosencéfalo (precursor dos hemisférios cerebrais), a do meio corresponde ao mesencéfalo e a mais posterior ao rombencéfalo (precursor do bulbo raquidiano, da protuberância e do cerebelo). O prosencéfalo divide-se então em telencéfalo e diencéfalo e o rombencéfalo em metencéfalo e mielencéfalo. O mesencéfalo não sofre mais divisões. Estas 5 subdivisões ao longo do eixo rostral-caudal do embrião, estabelecem a organização primária do sistema nervoso central. (36, 37)

O período fetal do desenvolvimento inicia-se a partir da 9ª semana pós-concepção até ao fim da gestação. O encéfalo começa como uma estrutura lisencefálica, para gradualmente adquirir um padrão maduro de giros e sulcos, que se formam de forma sequencial e organizada.

Os neurónios que formam o córtex originam-se na zona ventricular, uma camada adjacente aos ventrículos do cérebro em desenvolvimento, que possui células que se diferenciarão em todos os tipos celulares corticais.

As primeiras células dessa zona que sofrem mitose movem-se num sentido pré-determinado designado glia radial, que se alonga da zona ventricular em direção ao córtex em desenvolvimento. Essa célula inicial que se forma dá origem aos astrócitos do cérebro adulto e permite interconexões celulares com todos os outros neurónios que se vão formar posteriormente.

Os neurónios que ascendem através do sentido radial, param inicialmente numa porção designada placa cortical (local em que começa a substância cinzenta do córtex). Em seguida os próximos neurónios que aparecem, ultrapassam os primeiros e estabelecem-se em porções mais externas (superficiais) do córtex, sendo que dessa forma os últimos neurónios a formar-se localizam-se na camada I do córtex cerebral maduro.

O curso temporal desta génese de neurónios varia entre as áreas cerebrais, mas o padrão de crescimento é constante. Qualquer efeito que altere a neurogénese e a migração neuronal resulta num córtex desorganizado e defeituoso. (38)

A maioria dos neurónios é produzida na zona subventricular/ventricular (ZV) e migram radialmente a partir da ZV, no centro do cérebro, para o neocórtex em desenvolvimento, sendo que as distâncias que o neurónio deve atravessar são pequenas. Assim, os neurónios inicialmente produzidos podem usar um modo de migração referido como translocação somal.

Na translocação somal, o neurónio desenvolve um prolongamento longo basal, que é uma extensão do corpo da célula, para além do bordo da ZV na região exterior do compartimento do encéfalo. O processo basal adere à superfície pial, que é a superfície externa do encéfalo em desenvolvimento. O núcleo da célula, em seguida, move-se através do citoplasma do processo basal. À medida que o núcleo se move para cima o prolongamento neuronal torna-se mais curto e mais espesso, mas permanece ligado à superfície pial. No final da translocação somal, o núcleo da célula desloca-se da ZV para o córtex embrionário. Com o desenvolvimento o encéfalo torna-se maior e o principal modo de migração neuronal da ZV modifica-se. (38)

Por causa das grandes distâncias, os neurónios requerem uma população especial de células dentro da ZV designadas *guias gliais radiais* para sustentar a sua migração. Tal como os neurónios que migram através de translocação somal, as *guias gliais radiais* estendem um processo basal que adere à superfície pial do cérebro. No entanto, o núcleo das células gliais radiais permanece na ZV e o processo basal forma uma estrutura celular de suporte ao longo da qual podem migrar neurónios. Os neurónios que migram aderem à *guia glial radial* e movimentam-se ao longo da estrutura celular para fora, na placa cortical em desenvolvimento. (38)

Cada estrutura de suporte glial pode comportar a migração de muitos neurónios. Embora as *guias gliais radiais* tenham sido originalmente consideradas uma população especial, transitória, foi recentemente descrito que as células que produzem as estruturas de suporte são realmente as células progenitoras neurais.

Muitos estudos recentes identificaram uma segunda zona proliferativa localizada na região ventral do telencéfalo, que mais tarde irá desenvolver-se em gânglios da base. (38)

Durante o desenvolvimento embrionário e fetal, três compartimentos nesta região, as eminências ganglionares medial, lateral e caudal, são a fonte de uma importante classe de interneurónios corticais inibitórios. Ao contrário dos neurónios que migram a partir da ZV, estes neurónios transpõem longas distâncias, utilizando um modo de migração que foi denominado como *migração tangencial*, porque o percurso de migração realiza-se tangencialmente ao contorno do desenvolvimento cortical. (38)

A migração dos neurónios para o neocórtex em desenvolvimento resulta na formação de uma estrutura ordenada em 6 camadas. Com uma exceção, os neurónios que migram mais cedo formam camadas mais profundas do córtex e os neurónios que migram mais tarde formam camadas sucessivamente mais superficiais, de tal maneira que a ordem da migração tem sido descrita como de dentro para fora. A exceção à regra da migração de dentro para fora são os primeiros neurónios que migram.

Estes primeiros neurónios que saem da zona proliferativa formam uma estrutura primitiva designada pré-placa (PP). Assim que a PP está completa os neurónios que migram dividem-na em duas regiões separadas, a zona marginal e a placa de ligação. Esses neurónios começam a formar uma nova região, entre a zona marginal e a placa de ligação, que é a placa cortical emergente (PC). Os primeiros neurónios a chegar ao PC são as células que irão formar a camada cortical, a camada mais profunda do córtex; posteriormente, as células migratórias formarão as camadas mais superficiais do córtex. Tanto a zona marginal como a placa de ligação são camadas transitórias do encéfalo que desempenham um papel crítico no desenvolvimento do córtex, mas desaparecem em grande parte no final do período fetal.

A zona marginal contém um tipo de células importante, as células de Cajal-Retzius (CR), que controlam o posicionamento correto dos neurónios nas diferentes camadas de córtex. As células CR produzem um sinal molecular, designado *Reelin*, que sinaliza os neurónios para pararem a sua migração e assumirem as suas posições definitivas no córtex. (38)

Cada onda nova de neurónios que migram é independente da onda anterior de forma que cada onda nova de células migratórias ocupa uma posição mais superficial no córtex em desenvolvimento. À medida que cada onda nova de neurónios atinge o topo da placa cortical, ela move-se para a zona de sinalização e recebe sinalização para parar. (38)

O tecido nervoso compreende basicamente dois tipos de células: as células gliais e os neurónios.

Células Gliais: incluem as células que ocupam os espaços entre os neurónios; têm como funções a sustentação, o revestimento ou o isolamento e a modulação da atividade neural.

Neurónios: os neurónios são as unidades estruturais e funcionais do sistema nervoso, especializadas na comunicação rápida; têm como funções básicas receber, processar e enviar informações. Incluem células altamente excitáveis que comunicam entre si ou com outras células efectoras, usando

basicamente uma “linguagem” elétrica. A maioria dos neurónios possui três regiões responsáveis por funções especializadas: corpo celular, dendritos e axónios.

O corpo celular: é o centro metabólico do neurónio, responsável pela síntese de todas as proteínas neuronais. A forma e o tamanho do corpo celular são extremamente variáveis, conforme o tipo de neurónio. O corpo celular é também, junto com os dendritos, local de recepção de estímulos, através de contatos sinápticos.

Dendritos: geralmente são curtos e ramificam-se abundantemente, em ângulos agudos, originando dendritos de diâmetro menor. Transmitem impulsos para os corpos celulares dos neurónios ou para os axónios. Em geral os dendritos não são mielinizados. Um neurónio pode apresentar milhares de dendritos.

Axónios: a grande maioria dos neurónios possui um axónio, prolongamento longo e fino que se origina no corpo celular ou num dendrito principal. O axónio tem comprimento muito variável, podendo ser de alguns milímetros até mais de um metro. São os processos que transmitem impulsos originados nos corpos celulares dos neurónios, ou dos dendritos. A porção terminal do axónio tem várias ramificações para formar de centenas a milhares de terminais axónicos, no interior dos quais são armazenados os neurotransmissores químicos. O axónio é especializado em gerar e conduzir o potencial de ação.

7. Estrutura do sistema nervoso central entre as 16 e as 18 semanas de IG

Sulcos: No fim do primeiro trimestre de gravidez, desenvolvem-se protuberâncias na base e na parede lateral adjacente dos ventrículos laterais, representado o corpo do *striatum* e o núcleo caudado. Outra elevação interna desenvolve-se (futuro hipocampo) na parede do ventrículo lateral, anterior e inferior ao bolbo olfativo. Os dois hipocampos são unidos por fibras que se cruzam através do fornix, na região mais superior da *lamina terminalis* (a comissura do fornix). Comissuras entre os dois hemisférios desenvolvem-se mais tarde e situam-se lateralmente ao fornix; expandem-se para formar o corpo caloso. Fibras que se projectam do neocórtex desenvolvem-se perto do fim do primeiro trimestre e estendem-se medialmente e para baixo, dividindo o *striatum* no núcleo caudado (medial) e no núcleo

lentiforme (lateral); externamente originam uma pequena depressão na superfície superolateral dos hemisférios cerebrais (fossa cerebral lateral), que marca a localização do *striatum*. No 4º mês de gestação (16 semanas de IG, aproximadamente), o pólo temporal adjacente cresce e converte esta fossa no sulco lateral. Os sulcos surgem primeiro na vertente medial dos hemisférios e depois nas superfícies superolateral e inferior. Às 17 semanas de IG, podem ser observados os seguintes sulcos: na superfície medial: hipocampal, caloso, parieto-occipital, calcarino e cingulado; na superfície superolateral: lateral; na superfície inferior/basal: olfativo.

Hemisférios cerebrais: nesta idade gestacional, a espessura da placa cortical (PC) está aumentada, quando comparada com estadios mais precoces. As células CR localizam-se na camada granular subpial, migrando para a zona marginal entre as 14 e as 18 semanas de IG. Às 15 semanas, a zona subcortical (ZSC) aumenta em espessura, sendo maior que 4 vezes a espessura da PC. Neurónios em migração são visualizados nas camadas transicionais subjacentes – zona intermédia (ZI). A matriz germinativa acondiciona o neuroepitélio e a zona subventricular (ZV).

No hipocampo, visualizam-se as células granulares do giro dentado às 13 semanas e os neurónios piramidais do “corno de Ammon” às 15 semanas de IG. As células granulares do giro dentado são visualizadas a migrar da zona subgranular.

Cerebelo: a camada granular externa do cerebelo, constituído pelos hemisférios cerebelares e pelo vermis, produz activamente os constituintes do cerebelo adulto: células granulares, estreladas e “em cesto”. As células de Purkinje podem ser identificadas a migrar a partir da zona ventricular, mas ainda não formam uma camada distinta.

8. Na síndrome de Down

Os encéfalos e cerebelos de indivíduos com SD são mais pequenos em tamanho quando comparados com indivíduos normais, o que sugere uma ligação entre o atraso mental e a hipotrofia cerebral. (26) De facto, observa-se microcefalia (decréscimo do tamanho e do peso total do encéfalo) e simplificação do padrão giriforme. Estas alterações estão presentes em fetos e crianças com SD,

sugerindo estar associadas a hipocelularidade e displasia cortical e assim, a alterações da neurogênese durante as fases mais precoces e críticas do desenvolvimento encefálico (49). Estudos anteriores em modelos animais, mostraram que a neurogênese está marcadamente reduzida nas zonas ventricular e subventricular, duas áreas fundamentais na produção de células neuronais e gliais para o córtex cerebral, hipocampo e cerebelo.

A organização dos neurónios está afetada em todas áreas do sistema nervoso. Há alterações na estrutura formada pelas redes neuronais, e também nos processos funcionais da comunicação entre eles. Essas alterações podem exercer influência sobre o desenvolvimento inicial nos circuitos cerebrais, afetando a instalação e as consolidações das conexões de redes nervosas necessárias para estabelecer os mecanismos da atenção, memória, capacidade de correlação e análise, pensamento abstrato, e outros. A criança nasce frequentemente com hipoplasia nos lóbulos frontais e occipitais, redução no lóbulo temporal, em até 50% dos casos, que pode ser unilateral ou bilateral. Em alguns encéfalos, observa-se diminuição do corpo caloso, da comissura anterior e do hipocampo. (39)

As alterações patológicas no sistema nervoso central de fetos com trissomia 21 incluem redução do diâmetro fronto-occipital encefálico, achatamento dos polos occipitais, estreitamento dos giros temporais superiores, redução generalizada no crescimento do encéfalo, redução no número de neurónios predominantemente nas camadas granulares, alteração de sinapses e déficit de mielinização. (6-9) Por outro lado, há aumento do número de astrócitos e de células gliais radiais no lobo frontal (parecem morfológicamente mais maduros) entre as 18 e as 20 semanas de gestação, associado a aumento da expressão de proteína glial fibrilar acídica (GFAP). (7, 8)

Outra alteração descrita na trissomia 21 é a redução da proliferação celular no giro dentado, sugerindo hipoplasia do hipocampo, que causa a produção precoce de neurónios anormais. O encéfalo não se desenvolve adequadamente, o hipocampo (área relacionada com a memória) é pouco desenvolvido (40, 41) e a camada de células piramidais do hipocampo é significativamente mais hipocelular e malformada. (39) O estudo imuno-histoquímico com Ki-67 permite observar menos células em proliferação nas zonas germinativas do hipocampo, associada a maior incidência de morte celular por apoptose. Assim sendo, há uma redução no número de neurónios na região do hipocampo, o que sugere que este defeito é causado por alteração da neurogênese e pela apoptose. (40, 42-44)

O cerebelo é também descrito como apresentando um volume reduzido e um padrão de desenvolvimento imaturo, com menos células em todas as camadas, verificando-se hipocelularidade generalizada, devido ao déficit de proliferação e ao aumento da morte celular. (45) A expressão de Ki-

67 permite detetar proliferação diminuída dos precursores em ambas as regiões neurogênicas cerebelares (camada granular externa e zona ventricular). (43, 46)

O cérebro humano recebe, processa, armazena e transmite informações complexas. A rede neuronal que dá o suporte a estas funções é formada, presumivelmente, por 10^{11} neurónios ligados a 10^{14} conexões sinápticas entre axónios e dendritos, que são estruturalmente e funcionalmente diferentes. Os dendritos são determinantes e fundamentais na modelação e conexão correta dos circuitos neuronais, e na síndrome de Down estão descritos defeitos dos dendritos, que se manifestam por diversos mecanismos ainda não totalmente esclarecidos. (47) Na síndrome de Down são cada vez mais reconhecidas as deficiências das ramificações dendríticas, a redução precoce dos neurónios responsáveis pela atividade associativa e pela comunicação entre as áreas cerebrais. (48) (49)

A função do cerebelo é ajustar os movimentos corporais, integrando as informações proprioceptivas às sensações sinestésicas, para realizar os movimentos voluntários. O cerebelo age influenciando o desenvolvimento de grupos musculares distintos, contribui para a manutenção do equilíbrio no relacionamento de padrões de movimentos. (46)

Parece que a redução encefálica não se relaciona *per se* com deficiências cognitivas. Por outro lado, o tamanho aumentado do giro para-hipocampal parece que se pode relacionar negativamente com medidas de inteligência geral e habilidades linguísticas. As reduções da densidade sináptica, da arborização dendrítica, e do tamanho dos corpos celulares de neurónios estabelecem sinapses anormais que culminam com o comprometimento de funções corticais, como a cognição.

Material e Métodos

1. Casos

Foram selecionados 18 encéfalos de casos de fetos com trissomia 21, submetidos a interrupção médica de gravidez (IMG), no Centro de Diagnóstico Pré-Natal do Centro Hospitalar de São João, de Janeiro de 2006 a Dezembro de 2014. Para controlos foram selecionados 16 encéfalos de fetos sem aneuploidia cromossómica, submetidos a IMG por outras causas ou por abortamento espontâneo, no mesmo período de tempo, sem evidência de alterações neuropatológicas, sem hidropsia e sem malformações crânio-encefálicas. A idade gestacional (IG) selecionada foi de 17 semanas, porque se dispunha de um maior equilíbrio entre o número de casos com T21 e de controlos. A IG foi estimada pela data da última menstruação materna ou por ecografias fetais precoces. A trissomia 21 foi comprovada em todos os casos no cariótipo de amostras colhidas por amniocentese. No casos de controlo foi realizado o cariótipo apenas nos fetos que apresentaram alterações ecográficas (risco calculado) e/ou morfológicas que o justificassem. As autópsias foram realizadas no Serviço de Anatomia Patológica do Centro Hospitalar de São João.

A idade materna foi registada. Foram registados os seguintes parâmetros fetais: género, peso total, comprimento crânio-cóccix, comprimento do pé, peso do encéfalo, diâmetro biparietal, diâmetro fronto-occipital e diâmetro transversal do cerebelo.

2. Técnica de Autópsia

A técnica de autópsia foi realizada de forma sistemática e equivalente em todos os casos, designadamente no que se refere ao crânio como a seguir se descreve:

Incisão cutânea com início na região posterior do pavilhão auricular esquerdo, em direção à região mais superior da transição entre o osso occipital e os parietais, até à região posterior do pavilhão auricular direito (Fig.1.A). A pele do couro cabeludo foi depois rebatida, anteriormente e posteriormente. Procedeu-se à inspeção e avaliação das fontanelas: grau de tensão (particularmente da fontanela anterior), comprimento e largura. Para expor o encéfalo, realizaram-se dois pequenos cortes, um em cada canto lateral da fontanela anterior (utilizando uma tesoura de pontas arredondadas, para não lesar o tecido encefálico), e, com cuidado, recortou-se o rebordo lateral da fontanela anterior, seguindo para as suturas coronais, a sagital e o rebordo da fontanela posterior, acompanhando o bordo dos ossos cranianos (Fig.1.B, C). Procedeu-se à inspeção sistemática do seio sagital (Fig.1.D). (37, 50)

Os ossos cranianos foram rebatidos, expondo o encéfalo, que foi inspecionado *in situ*. As meninges, a foice e a tenda do cerebelo foram observadas, cuidadosamente, sendo registado qualquer acúmulo de sangue (Fig.1.E, F, G, H, I). A foice foi cortada a partir das suas inserções ósseas, anterior e posteriormente, juntamente com o seio sagital (Fig.1.J). Para remover o encéfalo, apoiou-se a região occipital na palma da mão, com o dedo indicador e o meio de cada lado do pescoço do feto, inclinando o crânio para trás, delicadamente; os primeiros nervos cranianos foram inspecionados e cortados suavemente; os hemisférios cerebrais foram, sucessivamente, empurrados para trás e os nervos cranianos restantes seccionados, no sentido ântero-posterior; talo da hipófise cortado rente ao encéfalo (Fig.1.K). A superfície inferior do tronco cerebral e do segmento cervical da espinal medula ficou exposta. A tenda do cerebelo foi então cortada, em torno da sua inserção óssea lateral, sem danificar o tecido cerebelar subjacente (Fig.1.L). O segmento cervical da espinal medula foi seccionado o mais inferiormente possível. O encéfalo caiu facilmente na palma da mão, já posicionada. Foi inspecionado, pesado e fixado (Fig.1.M). (37, 50) (51)

Os encéfalos marcadamente macerados foram removidos debaixo de água, pelo mesmo método descrito acima (Fig.1.A). (37, 50)

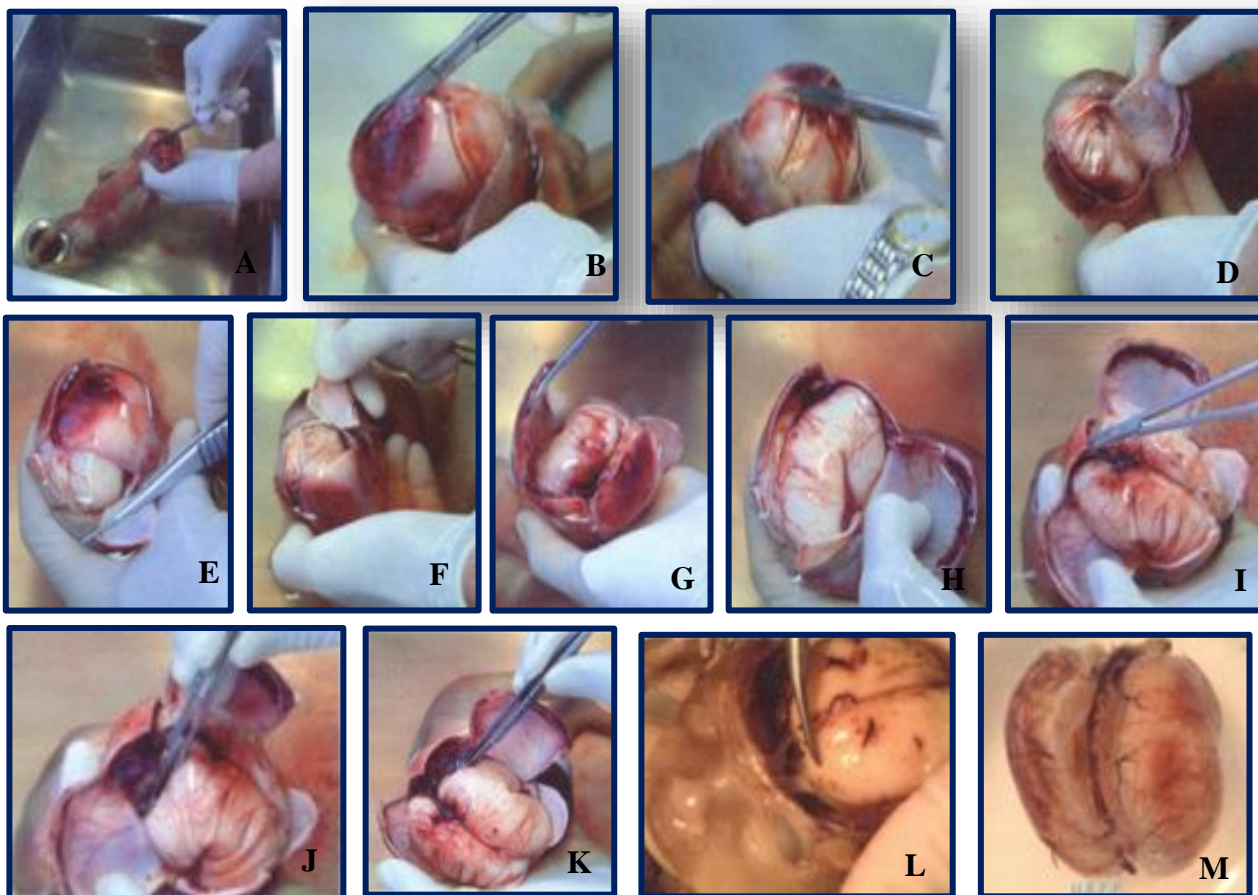


Figura 1- Evisceração do encéfalo (A a M)

2.1. Fixação

Os encéfalos foram fixados numa solução previamente feita contendo 7,500 litros de formol a 40% com 2,100 litros de ácido acético e 2,650 gramas de sal, perfazendo com água para um total de 50 litros; sendo que a percentagem de formol foi de 15%, de ácido acético de 4,2% e de sal de 5,3%.

Esta solução permite que os encéfalos flutuem (não sofrendo alterações por contacto com o recipiente) e que fixem melhor, enrijecendo o tecido e tornando-o mais fácil de manusear.

3. Avaliação Morfométrica

3.1 Avaliação macroscópica dos encéfalos dos casos de trissomia 21

Foram realizadas fotografias de todos os encéfalos, exemplificando-se um dos casos (caso 13) na figura 2: aspecto superior (A), inferior (B), lateral (C) e medial (D), após separação dos hemisférios pela sutura sagital. Foi realizada a avaliação da maturidade, usando tabelas internacionais (37) e no endereço <http://autopsy.jarchie.com/>.

Foram registados os seguintes parâmetros crânio-encefálicos: peso do encéfalo, diâmetro fronto-occipital e biparietal (determinados através de radiografia do esqueleto com *Faxitron*), diâmetro transverso do cerebelo, maturidade estimada e avaliação da superfície cortical.

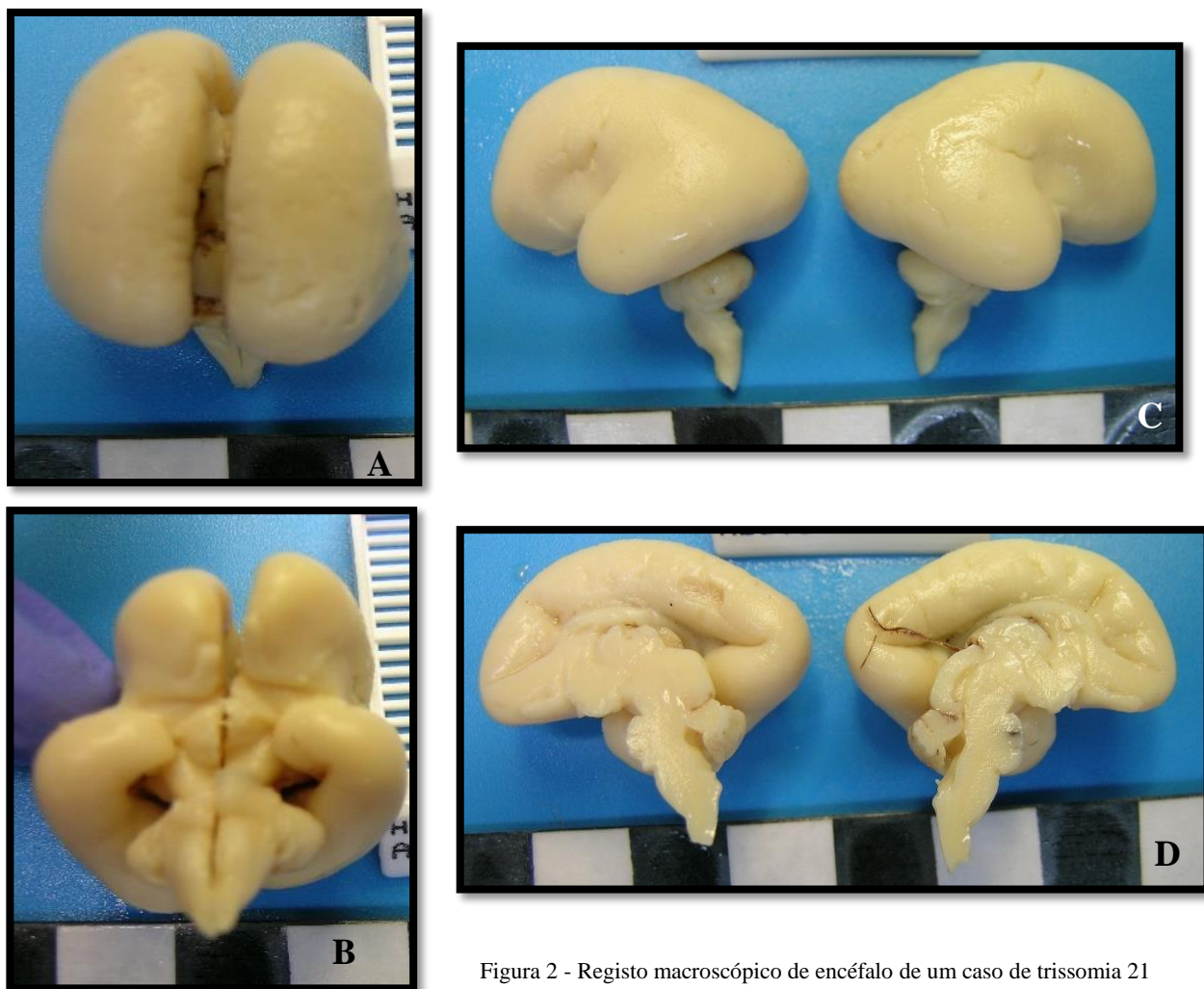


Figura 2 - Registo macroscópico de encéfalo de um caso de trissomia 21 (caso 13) aspecto superior (A), inferior (B), lateral (C) e medial (D)

3.2 Avaliação microscópica dos encéfalos dos casos de trissomia 21

Após tempo de fixação adequado, pelo menos 15 dias, foi realizado em cada um dos hemisférios, um corte único, desde a transição frontoparietal anterior e o hipocampo (Fig.3), e um corte único transversal do cerebelo, na região do vérmis (Fig.4).



Figura 3 - Corte do encéfalo de um caso de trissomia 21 (caso 13)



Figura 4 - Corte do cerebelo de um caso de trissomia 21 (caso 13)

Técnica de hematoxilina e eosina

Após processamento dos tecidos, foi realizada coloração de H&E de forma automatizada - a coloração de Hematoxilina-Eosina - é a principal técnica de coloração de tecidos em histologia. Com esta técnica, são diferenciados componentes celulares basófilos (pela hematoxilina), de componentes celulares acidófilos, ou eosinófilos (pela eosina). A hematoxilina tem afinidade para as substâncias ácidas (basófilas) dos tecidos, como as proteínas ricas em radicais amina, o retículo endoplasmático rugoso e os ácidos nucleicos. A eosina, sendo ácida, tem afinidade predominantemente para o citoplasma, as fibras de colagénio e outras estruturas compostas por substâncias básicas (acidófilas).

Foram analisadas 3 regiões encefálicas e 2 regiões cerebelares:

Encéfalo:

- região parietal pósterio-ventral (PPV)
- região temporal médio-inferior (TMI)
- hipocampo (HC)

Cerebelo:

- vérmis (V)
- hemisfério cerebelar (C)

Na região do hipocampo, vérmis e hemisfério cerebelar foram avaliadas as espessuras máximas dessas mesmas regiões (Fig. 9, 10 e 11). Na região parietal pósterio-ventral e temporal médio-inferior foram avaliadas as espessuras das seguintes sub-regiões (Fig. 7 e 8):

- . PC - placa cortical (zona marginal e placa cortical);
- . ZSC - zona subcortical;
- . ZI - zona intermédia (substância branca fetal);
- . ZV - zona ventricular (zona subventricular e zona ventricular).

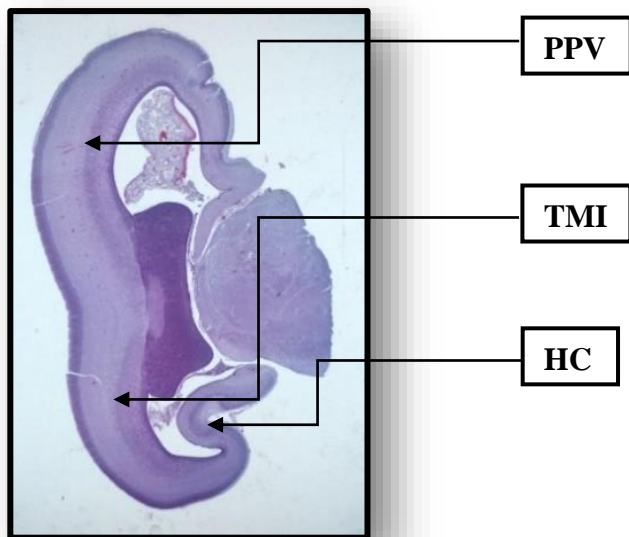


Figura 5 – Histologia (H&E, digitalização) do encéfalo de um caso de trissomia 21 (caso 11). Representação das regiões encefálicas avaliadas: parietal póstero-ventral (PPV); temporal médio-inferior (TMI); hipocampo (HC).

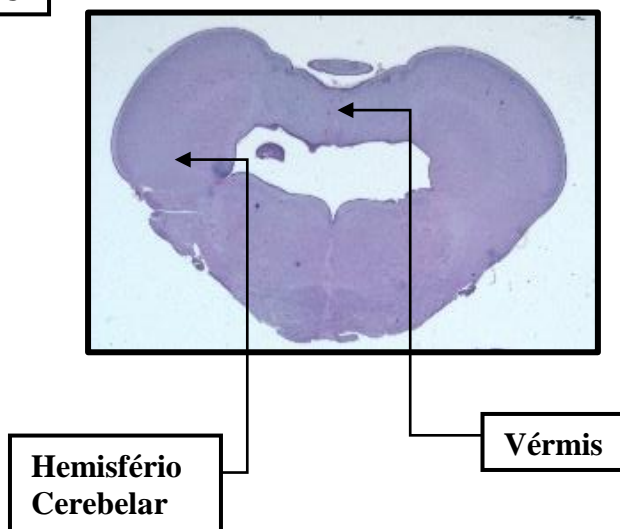


Figura 6 – Histologia (H&E, digitalização) do cerebelo de um caso de trissomia 21 (caso 8): Representação das regiões cerebelares avaliadas.

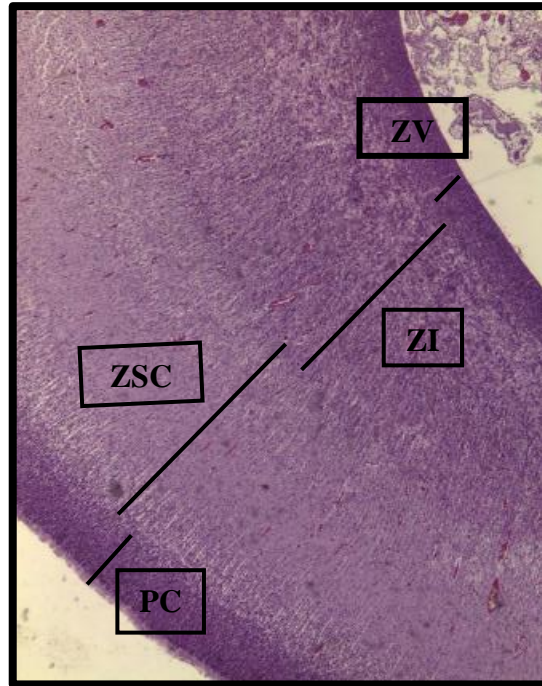
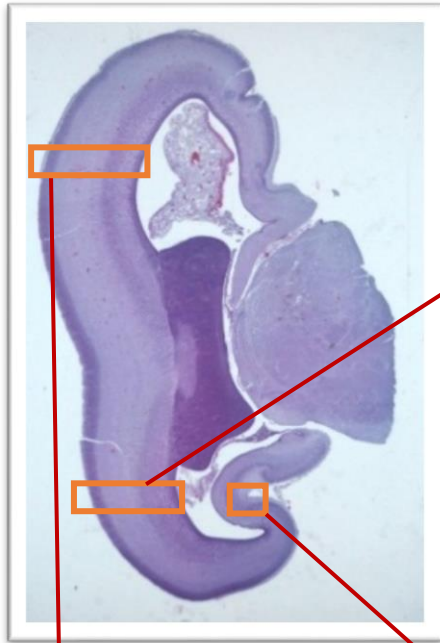


Figura 8 – Histologia (H&E, x25) do córtex, na região temporal médio-inferior (TMI) de um caso de trissomia 21 (caso 11). Representação das sub-regiões corticais cuja espessura foi avaliada: placa cortical (PC); zona subcortical (ZSC); zona intermédia (ZI); zona ventricular (ZV).



Figura 7 – Histologia (H&E, x25) do córtex, na região parietal póstero-ventral (PPV) de um caso de trissomia 21 (caso 11). Representação das sub-regiões corticais cuja espessura foi avaliada: placa cortical (PC); zona subcortical (ZSC); zona intermédia (ZI); zona ventricular (ZV).

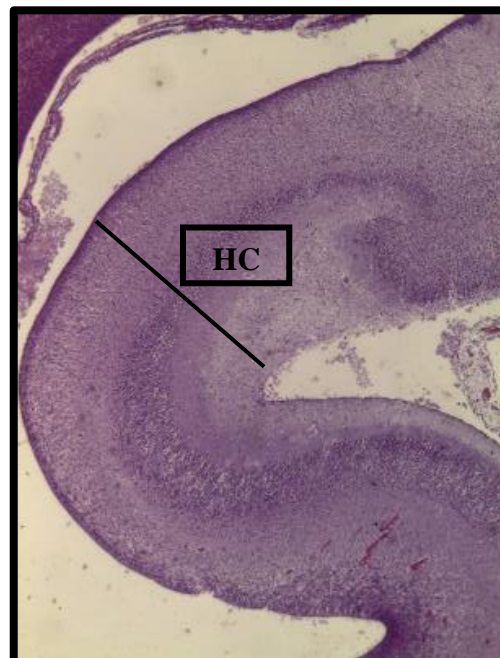


Figura 9 – Histologia (H&E, x25) do córtex, na região do hipocampo (HC) de um caso de trissomia 21 (caso 11). Representação das sub-regiões corticais cuja espessura foi avaliada.

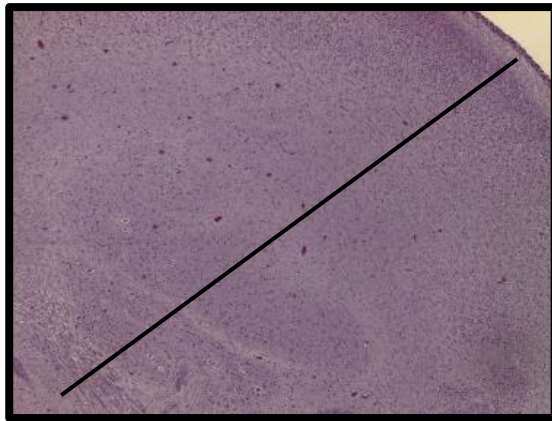


Figura 10 – Histologia (H&E, x25) do cerebelo, na região dos hemisférios cerebelares de um caso de trissomia 21 (caso 8): Representação das sub-regiões corticais cuja espessura foi avaliada.

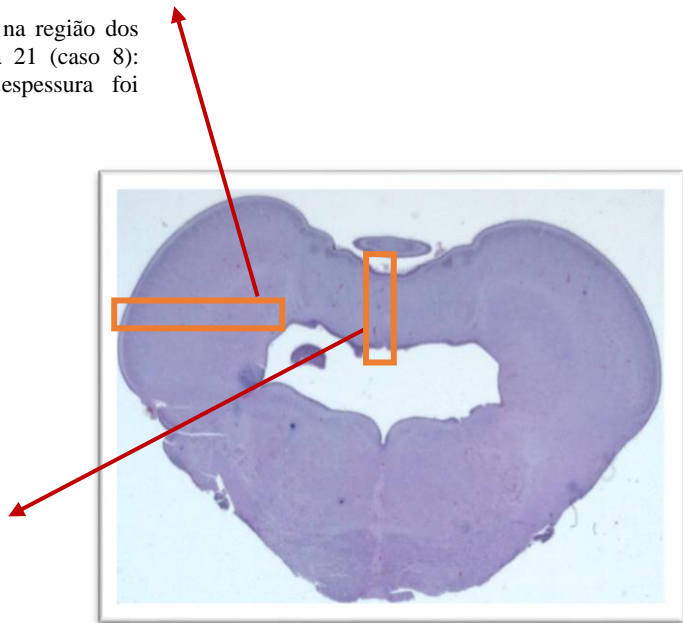
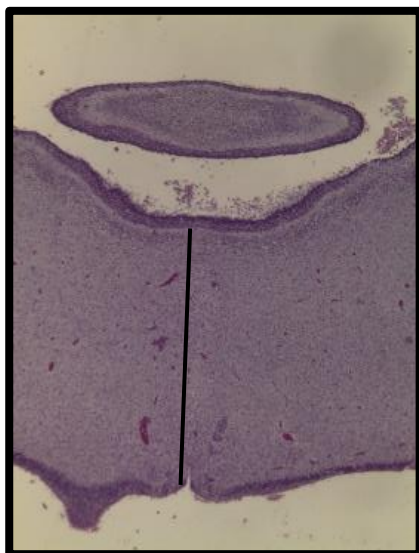


Figura 11 – Histologia (H&E, x25) do cerebelo, na região do vérmis de um caso de trissomia 21 (caso 8): Representação das sub-regiões corticais cuja espessura foi avaliada.

De todos os casos de trissomia 21 submetidos a IMG às 17 semanas de IG, durante o período de estudo (18 casos), foram excluídos 3 casos por má preservação e fragmentação do corte histológico impedindo uma avaliação correta das espessuras das regiões e sub-regiões descritas.

3.3 Avaliação macroscópica dos encéfalos dos casos de controlo

Foram realizadas fotografias de todos os encéfalos, exemplificando-se um dos controlos (controlo 6) na figura 12: aspeto superior (A), inferior (B), lateral (C) e medial (D), após separação dos hemisférios pela sutura sagital. Foi realizada a avaliação da maturidade, usando tabelas internacionais (37) e no endereço <http://autopsy.jarchie.com/>.

Foram registados os seguintes parâmetros crânio-encefálicos: peso do encéfalo, diâmetro fronto-occipital e biparietal (determinados através de radiografia do esqueleto com *Faxitron*), diâmetro transversal do cerebelo, maturidade estimada e avaliação da superfície cortical.



Figura 12 – Registo macroscópico de encéfalo de um caso de controlo (controlo 6): aspeto superior (A), inferior (B), lateral (C) e medial (D).

3.4 Avaliação microscópica dos encéfalos dos casos de controlo

Após tempo de fixação adequado, pelo menos 15 dias, foi realizado em cada um dos hemisférios, um corte único, desde a transição frontoparietal anterior e o hipocampo (Fig.13), e um corte único transversal do cerebelo, na região do vérmis (Fig.14).



Figura 13 - Corte de encéfalo de um caso de controlo (controlo 6).



Figura 14 - Corte do cerebelo de um caso de controlo (controlo 10).

Após processamento, foi realizada coloração de H&E.

Nos controlos também foram analisadas 3 regiões encefálicas e 2 regiões cerebelares:

Encéfalo:

- região parietal póstero-ventral (PPV)
- região temporal médio-inferior (TMI)
- hipocampo (HC)

Cerebelo:

- vérmis (V)
- hemisfério cerebelar (C)

Na região do hipocampo, vérmis e hemisfério cerebelar foram avaliadas as espessuras máximas dessas mesmas regiões (Fig. 19, 20 e 21). Na região parietal póstero-ventral e temporal médio-inferior foram avaliadas as espessuras das seguintes sub-regiões (fig. 17 e 18):

- . PC - placa cortical (zona marginal e placa cortical);
- . ZSC - zona subcortical;
- . ZI - zona intermédia (substância branca fetal);
- . ZV - zona ventricular (zona subventricular e zona ventricular).

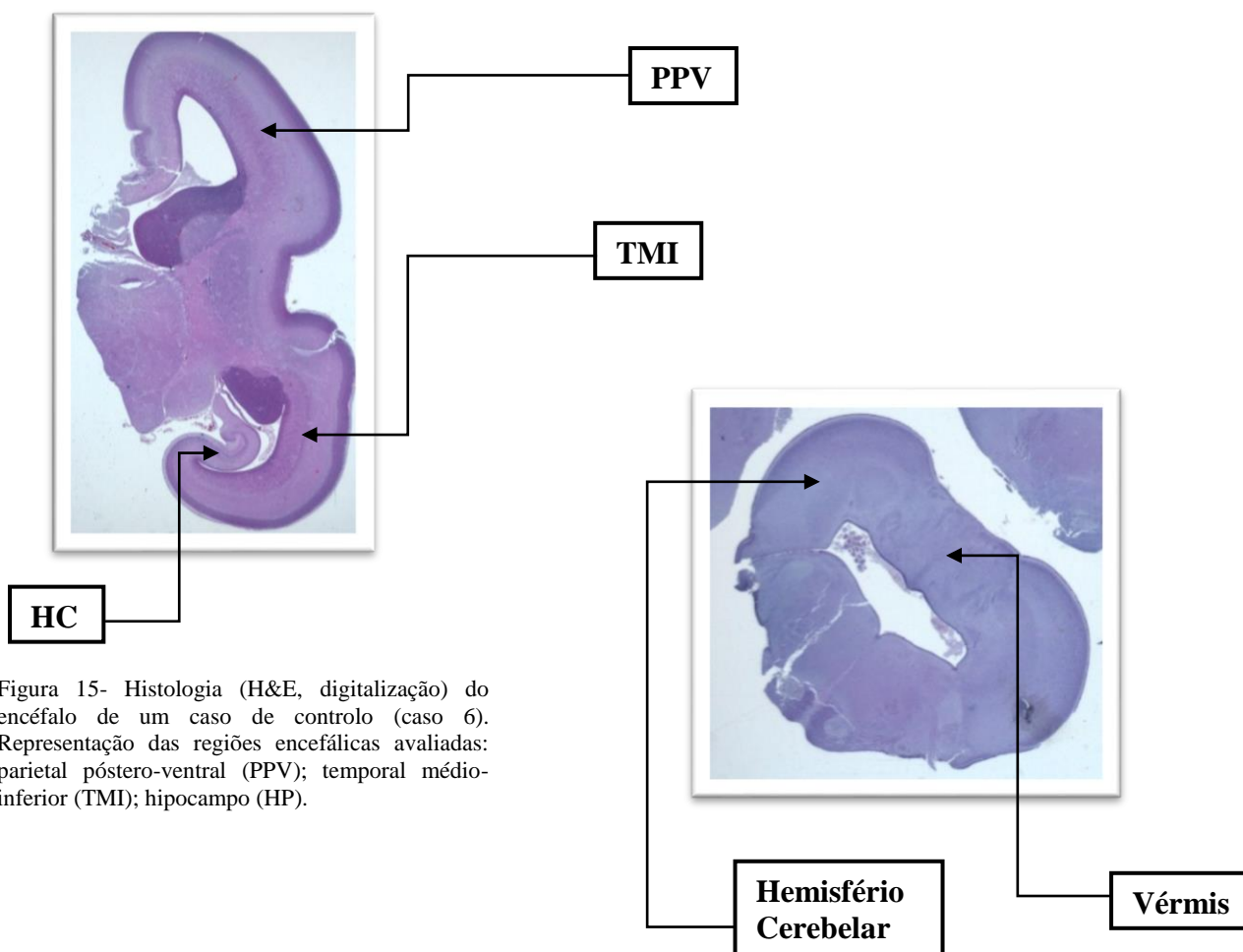


Figura 15- Histologia (H&E, digitalização) do encéfalo de um caso de controlo (caso 6). Representação das regiões encefálicas avaliadas: parietal póstero-ventral (PPV); temporal médio-inferior (TMI); hipocampo (HP).

Figura 16 – Histologia (H&E, digitalização) do cerebelo de um caso de controlo (caso 10): Representação das regiões cerebelares avaliadas.

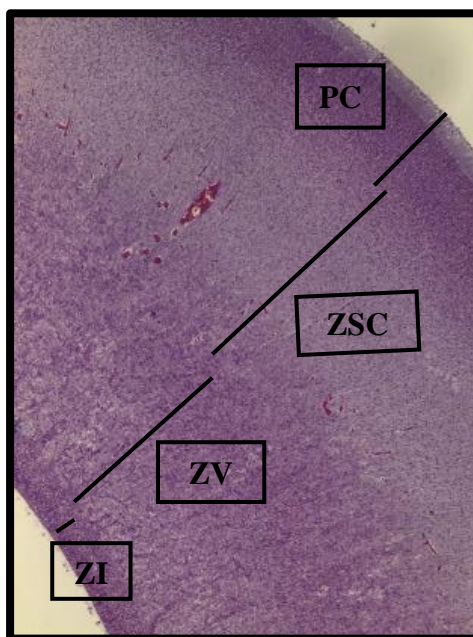
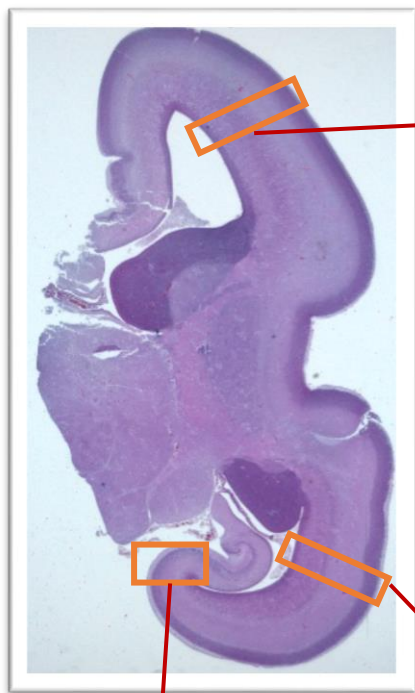


Figura 17 – Histologia (H&E, x25) do córtex, na região parietal póstero-ventral (PPV) de um caso de controlo (caso 6). Representação das sub-regiões corticais cuja espessura foi avaliada: placa cortical (PC); zona subcortical (ZSC); zona intermédia (ZI); zona ventricular (ZV).



Figura 19 – Histologia (H&E, x25) do córtex, na região do hipocampo (HC) de um caso de controlo (caso 6); Representação das sub-regiões corticais cuja espessura foi avaliada.

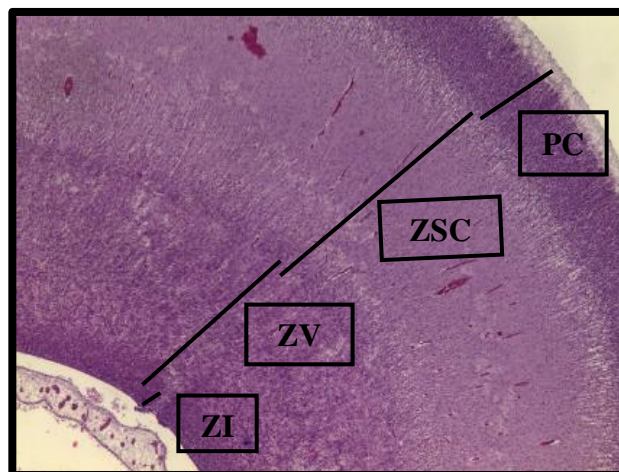


Figura 18 – Histologia (H&E, x25) do córtex, na região temporal médio-inferior (TMI) de um caso de controlo (caso 6). Representação das sub-regiões corticais cuja espessura foi avaliada: placa cortical (PC); zona subcortical (ZSC); zona intermédia (ZI); zona ventricular (ZV).

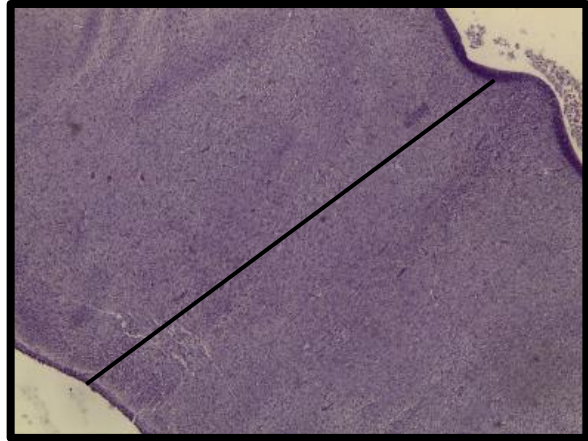


Figura 20 – Histologia (H&E, x25) do cerebelo, na região do vérmis de um caso de controlo (caso 10): Representação das sub-regiões corticais cuja espessura foi avaliada.

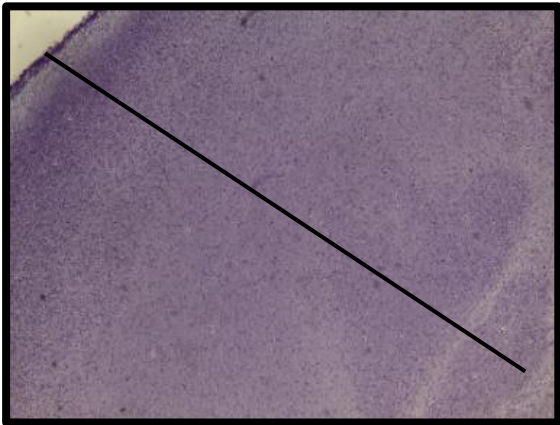
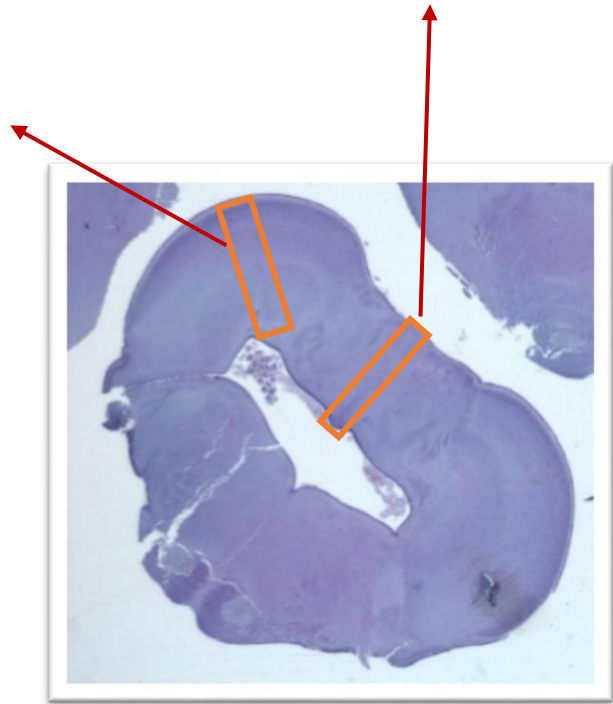


Figura 21 – Histologia (H&E, x25) do cerebelo, na região dos hemisférios cerebelares de um caso de controlo (caso 10): Representação das sub-regiões corticais cuja espessura foi avaliada.



De todos os encéfalos de controlo estudados às 17 semanas de IG, durante o período em estudo (16 casos), foram excluídos 4 casos, por má preservação e fragmentação do corte histológico impedindo uma avaliação correta das espessuras das regiões e sub-regiões descritas.

5. Análise Estatística

Para a colheita de dados, procedeu-se à análise estatística descritiva, utilizando o programa SPSS (*statistical package for the social sciences*) na sua versão 23.0 para Windows, onde se utilizou medidas de frequências, cálculos de médias, medianas e desvio padrão, com recurso a tabelas de frequências.

Para utilizar o teste T-*Student*, verificou-se a normalidade das variáveis. Pela análise do histograma considerou-se a variável com distribuição normal.

O teste T- *Student* ou somente teste t é um teste de hipótese que usa conceitos estatísticos para rejeitar ou não uma hipótese nula. É utilizado para saber se existe diferença entre a média das amostras, se é significativamente diferente. É usado tanto como categorial (sexo) como quantitativo (idade materna). O nível de significância utilizado foi $p < 0,05$.

O teste T- *Student* foi utilizado neste trabalho para parâmetros independentes (comparação do grupo com trissomia 21 com o grupo de controlo).

Foi criada uma base de dados no programa Excel.

Variáveis e sua categorização

As variáveis em estudo foram:

- ✱ Idade materna
- ✱ Relativo ao feto
 - género
 - peso total
 - comprimento do pé
 - comprimento crânio-cóccix
- ✱ Relativo ao encéfalo
 - peso
 - diâmetro transverso do cerebello
 - diâmetro biparietal
 - diâmetro fronto-occipital
- ✱ Espessura de diferentes áreas em duas regiões do córtex
 - ✱ Região parietal póstero-ventral (PPV)
 - ✱ Região temporal medial inferior (TMI)
 - ✱ placa cortical (PC)
 - ✱ zona subcortical (ZS)
 - ✱ zona intermédia (ZI)
 - ✱ zona ventricular (ZV)
- ✱ Espessura do hipocampo
- ✱ Cerebello
 - ✱ Espessura do vérmis
 - ✱ Espessura dos hemisférios cerebelares

Resultados

Os resultados encontram-se resumidos em tabelas para facilitar a sua identificação e interpretação, seguidos de algumas observações.

Foram realizados testes estatísticos para os diferentes parâmetros, para comparar o grupo de estudo (T21) com o grupo de controlo.

Parâmetros biométricos: foram comparados 18 casos de T21 com 16 casos do grupo controlo como apresentado nas tabelas 1 e 2, respetivamente.

Espessuras das regiões do córtex e do cerebelo: foram comparados 15 casos de T21 com 12 casos do grupo controlo no córtex, e 5 casos de T21 com 8 casos do grupo controlo no cerebelo (tabelas 8, 9, 10 e 11).

Esta diferença no número de casos, na avaliação biométrica e histológica, foi devida à fragmentação do corte histológico, o que impossibilitou a avaliação precisa da espessura em alguns dos casos de T21 e de controlo.

Nos resultados apresentados na tabela 1 verifica-se que o grupo com T21 tem um total de 18 casos, sendo 9 fetos do género feminino e 9 fetos do género masculino; 1 dos fetos do género feminino não apresenta trissomia do cromossoma 21, mas uma translocação (5,5%): neste caso verificou-se uma translocação recíproca herdada por via paterna, 46, XY, t(10;16) (q22;q22). Todos os outros casos representam uma triplicação completa do cromossoma 21 (trissomia 21 “clássica”).

A maioria dos encéfalos apresentou superfície lisa (94,1%), apenas um caso com aumento do número de sulcos (caso 5).

Também se verificou que a IG estimada pela avaliação da maturidade encefálica foi equivalente à determinada por ecografia.

Na tabela 2 verifica-se que no grupo de controlo 7 fetos são do género feminino e 9 fetos do género masculino.

A maioria dos encéfalos apresenta uma superfície lisa, mas 3 (18,8%) apresentaram irregularidades evidentes.

A IG estimada pela avaliação da maturidade encefálica foi equivalente à determinada pelos parâmetros ecográficos.

Tabela 1 Casos com Trissomia 21 – dados clínicos e paramétricos

Casos (IG 17s)	Idade Materna (anos)	Cariótipo	Peso fetal (gr)	CCC (mm)	CP (mm)	Peso encéfalo (gr)	DTC (mm)	Percentil DTC	DFO (mm)	DBP (mm)	Superfície cortical	MEE (s de IG)
1	33	47,XX,+21	160	134	24	21	15	P5	ND	41	Lisa	17
2	37	47,XX,+21	123,5	128	22	16,5	14,2	P5-P50	ND	37	Lisa	17
3	34	47,XY,+21	174,5	142	26	26	16,7	P5-P50	38	38	Lisa	17
4	38	47,XX,+21	128	119	23	19	15	P5	43	38	Lisa	17
5	30	47,XY,+21	116,5	125	21	14,5	15	P5	40	ND	Microgíria	17
6	41	47,XY,+21	197	145	24	29	16	P5	42	35	Lisa	17
7	37	47,XY,+21	143	138	23	21,5	15*	P5	45	36	Lisa	17
8	43	47,XX,+21	117,5	129	22	15,5	15,2	P5	42	37	Lisa	17
9	38	47,XX,t(10;16)(q22;q22)+21	125,5	123	22	18	15,5*	P5	41,5	36	Lisa	17-20
10	42	47,XY,+21	150	138	24	18,5	15*	P5	45	38	Lisa	17
11	42	47,XX,+21	130,5	133	24	21	17	P50	46	39	Lisa	17-18
12	36	47,XX,+21	148	134	24	19,5	ND	ND	45	36	ND	17
13	35	47,XY,+21	119,5	121	23	17,5	17	<P5	41	38	Lisa	17
14	37	47,XY,+21	124	123	22	5	16	P5-P50	38,5	37	Lisa	17
15	43	47,XY,+21	142	133	24	19,5	17	<P5	43	38	Lisa	17
16	36	47,XX,+21	156	125	23	20	18	P50	44,2	42	Lisa	17
17	41	47,XX,+21	97	137	22	6,7	ND	ND	ND	31	Lisa	17
18	37	47,XY,+21	107,5	123	11	12	14	P5	42	ND	ND	17

: IG - idade gestacional; CCC - comprimento crânio-cóccix fetal;

CP - comprimento do pé; DTC - diâmetro transverso do cerebelo; DFO - diâmetro fronto-occipital; DBP - diâmetro biparietal.

* - valores após fixação do encéfalo; ND - não disponível; MEE (s de IG) - maturidade encefálica estimada em semanas de IG

Valores esperados para as 17 semanas de gestação: peso-148,6gr; CCC-132mm; CP-24mm; DTC-17mm; DFO-ND; DBP-37,3mm (<http://autopsy.jarchie.com/>).

Tabela 2. Casos de controlo - dados clínicos e paramétricos

Casos (IG 17s)	Idade Materna (anos)	Cariótipo	Peso fetal (gr)	CCC (mm)	CP (mm)	Peso encéfalo (gr)	DTC (mm)	Percentil DTC	DFO (mm)	DBP (mm)	Superfície cortical	MEE (s de IG)	Causa de morte
1	41	46,XX	101,5	121	21	17	ND	ND	ND	37	Lisa	16-17	Anóxia
2	37	ND	148,5	132	24	23,5	17	P50	45	38	Lisa	17	Anóxia
3	32	46,XY	145,5	133	23	25	17	P5-P50	49	39	Lisa	17	Anóxia
4	19	46,XX	126,5	124	23	21	17,7	P50	48	39	Lisa	17-18	Anóxia
5	35	46,XY	150,5	145	24	27,5	15	P5	49	39	Lisa	17	DPPNI
6	37	46,XY	123	130	22	20	15	<P5	ND	35	Lisa	17	Anóxia
7	31	46,XY	166,5	133	25	23,45	16	P5	49	35	Lisa	17	Malformação renal
8	37	ND	148,5	140	25	23	17	P50	45	36	Lisa	17	Malformação cardíaca
9	34	ND	139	127	24	24	14	P5	42,5	37	Irregular córtex occipital	17	DPPNI
10	31	ND	191	145	29	30,5	19	P50-P95	48	39	Irregular córtex sagital	17	Sepsis
11	39	46,XX	101,5	116	21	19	17	P50	41,5	34	Lisa	17	Anóxia
12	42	ND	215,5	145	28	36	21	P95	51,5	47	Lisa	17-18	Pneumonia
13	29	46,XX	142,5	129	22	24	15,3	P5-P50	47	31	Irregular	17	Infecção
14	43	46,XY	133,5	136	24	23	17	P50	46	37	Lisa	17	Anóxia Aguda
15	27	ND	155	143	26	22,5	17	P50	47	37	Lisa	17	Sepsis Listeria Monocyt
16	41	46,XY	68	107	19	12,05	ND	ND	38	25	Lisa	17	Macerado

ND – não disponível (na ausência de critérios ecográficos, bioquímicos e morfológicos, não há indicação clínica para a realização de cariótipo); IG - idade gestacional; CCC - comprimento crânio-cóccix fetal; CP - comprimento do pé; DTC - diâmetro transversal do cerebelo; DFO - diâmetro fronto-occipital; DBP - diâmetro biparietal.

MEE (s) - maturidade encefálica estimada (semanas de IG); DPPNI - descolamento prematuro de placenta normalmente inserida.

Valores esperados para as 17 semanas de gestação: peso-148,6gr; CCC-132mm; CP-24mm; DTC-17mm; DFO-ND; DBP-37,3mm (<http://autopsy.jarchie.com/>).

Nos resultados apresentados na tabela 3 verifica-se que, quando comparadas as diversas variáveis em estudo entre os dois grupos, os fetos do grupo controlo têm uma média de peso total ($141,0 \pm 34,8$) superior à dos fetos do grupo T21 ($136,7 \pm 24,8$). Verifica-se diferença idêntica no peso do encéfalo: no grupo de controlo, com média de peso de $23,23 \pm 5,39$, enquanto no grupo da T21 foi de $17,95 \pm 5,98$. A média da idade materna foi mais alta no grupo T21 ($38,0 \pm 4,0$) do que no grupo de controlo ($35,0 \pm 6,0$).

Na tabela 4, no grupo controlo, verifica-se que existem diferenças no peso total e no peso do encéfalo, sendo que os fetos do género feminino apresentam valores mais altos ($146,7 \pm 43,2$ e $24,43 \pm 6,69$, respetivamente). No grupo dos fetos com T21, também se verifica maiores diferenças nas médias das mesmas variáveis, sendo que o peso total é maior no género masculino ($141,6 \pm 29,2$).

Analisando os resultados apresentados na tabela 5, verifica-se que entre o grupo controlo e o grupo de T21 há diferenças estatisticamente significativas no peso do encéfalo ($p=0,012$) e no diâmetro fronto-occipital ($p=0,004$).

Tabela 3. Média/Desvio-Padrão (DP) e mediana dos parâmetros avaliados nos casos de controlo e nos casos com T21

	Casos controlo		Casos T21	
	Média ± DP	Mediana	Média ± DP	Mediana
Idade materna (anos)	35,0 ± 6,0	36	38,0 ± 4,0	37
Peso total (gramas)	141,0 ± 34,8	144,0	136,7 ± 24,8	129,3
Comprimento crânio-cóccix (mm)	132,0 ± 11,0	133	131,0 ± 8,0	131
Comprimento do pé (mm)	2,39 ± 0,25	2,40	2,24 ± 0,31	2,30
Peso do encéfalo (gramas)	23,23 ± 5,39	23,25	17,95 ± 5,98	19,00
Diâmetro biparietal (mm)	3,66 ± 0,46	3,70	3,73 ± 0,25	3,75
Diâmetro fronto-occipital (mm)	4,59 ± 0,35	4,65	4,24 ± 0,24	4,20
Diâmetro transverso cerebello (mm)	16,07 ± 1,91	15,65	15,07 ± 0,96	15,00

DP – desvio padrão

Tabela 4. Média/Desvio-Padrão (DP) e mediana por género e grupos nos casos de controlo e nos casos com T21

	Feminino				Masculino			
	Controlo		T21		Controlo		T21	
	Média±DP	Mediana	Média±DP	Mediana	Média±DP	Mediana	Média±DP	Mediana
Idade materna (anos)	34,0 ± 8,0	37,0	38,0 ± 3,0	38,0	35,0 ± 5,0	35,0	37,0 ± 4,0	37,0
Peso total (gramas)	146,7 ± 43,2	142,5	131,8 ± 19,9	128,0	136,6 ± 28,6	145,5	141,6 ± 29,2	142,0
Comprimento crânio-cóccix (mm)	130,0 ± 11,0	129,0	129,0 ± 6,0	129,0	133,0 ± 11,0	133,0	132,0 ± 9,0	133,0
Comprimento do pé (mm)	2,44 ± 0,30	2,40	2,29 ± 0,09	2,30	2,36 ± 0,21	2,40	2,20 ± 0,44	2,30
Peso do encéfalo (gramas)	24,43 ± 6,69	23,50	17,71 ± 4,70	19,25	22,29 ± 4,32	23,00	18,17 ± 7,22	18,50
Diâmetro biparietal (mm)	3,79 ± 0,50	3,80	3,74 ± 0,32	3,70	3,56 ± 0,42	3,70	3,71 ± 0,12	3,80
Diâmetro fronto-occipital (mm)	4,68 ± 0,34	4,75	4,36 ± 0,18	4,36	4,52 ± 0,36	4,55	4,16 ± 0,25	4,20
Diâmetro transverso cerebelo (mm)	16,50 ± 2,53	15,65	15,28 ± 0,94	15,00	15,75 ± 1,39	16,00	14,93 ± 1,01	15,00

DP – desvio padrão

Tabela 5. Teste T-Student dos parâmetros avaliados nos casos de controlo e nos casos com T21

	Controlo±DP	T21±DP	p
Idade materna (anos)	35,0 ± 6,0	38,0 ± 4,0	0,092
Peso total (gramas)	141,0 ± 34,8	136,7 ± 24,8	0,674
Comprimento crânio-cóccix (mm)	132,0 ± 11,0	131,0 ± 8,0	0,742
Comprimento do pé (mm)	2,39 ± 0,25	2,24 ± 0,31	0,132
Peso do encéfalo (gramas)	23,23 ± 5,39	17,95 ± 5,98	0,012
Diâmetro biparietal (mm)	3,66 ± 0,46	3,73 ± 0,25	0,567
Diâmetro fronto-occipital (mm)	4,59 ± 0,35	4,24 ± 0,24	0,004
Diâmetro transverso cerebello (mm)	16,07 ± 1,91	15,07 ± 0,96	0,083

DP – desvio padrão

Nas tabelas 6 e 7, são apresentados os valores das espessuras das regiões do córtex parietal e temporal, do hipocampo e do cerebelo do grupo com T21 e do grupo controlo. Na tabela 8 apresentam-se os valores das espessuras obtidas do vérmis e dos hemisférios cerebelares para os grupos T21 e controlo.

Nas tabelas 9 a 11, apresentam-se os resultados da análise estatística. A região parietal apresenta valores médios do grupo controlo superiores ao do grupo da T21, em todas as sub-regiões, no entanto esta diferença não é estatisticamente significativa (tabela 9). Os valores médios das espessuras no temporal, nas ZSC e ZV, são superiores no grupo controlo em comparação com o grupo da T21 e o inverso nas regiões PC e ZI, no entanto estas diferenças não são estatisticamente significativas (tabela 10). Na tabela 11, verifica-se que as espessuras das regiões do hipocampo não diferem significativamente entre o grupo controlo e o grupo de T21.

Na tabela 12 verifica-se que a espessura dos hemisférios cerebelares é significativamente inferior no grupo T21 do que no grupo de controlo, mas não há diferença significativa na espessura do vérmis.

Tabela 6 Casos com T21: valores das espessuras das regiões corticais e do hipocampo

Casos T21	Áreas	PC (µm)	ZSC (µm)	ZI (µm)	ZV (µm)	HC (µm)
1	PPV	621,13	1588	2148,27	301,43	1996,98
	TMI	578,16	1011,63	704,36	639,81	
2	PPV	589,01	1332,3	1251,41	196,94	1364,33
	TMI	652,48	1165,48	1132,33	293,08	
3	PPV	544,01	1368,82	1666,42	281,52	1846,56
	TMI	604,21	1370,19	2003,89	538,74	
4	PPV	504,72	1055,62	727,79	157,57	1144,56
	TMI	419,07	819,19	1286,14	111,42	
5	PPV	637,55	1402,74	1653,28	313,55	1448,15
	TMI	589,88	1131,23	1053,96	263,29	
6	PPV	534,93	1211,19	1734,09	290,55	1496,89
	TMI	583,01	1190,54	1078,88	194,72	
7	PPV	699,92	1314,32	1627,26	260,21	1325,61
	TMI	553,97	1259,99	927,47	406,97	
8	PPV	494,92	1127,16	1820,79	311,94	1484,04
	TMI	640,49	1097,39	1018,71	211,41	
9	PPV	504,72	1825,95	1311,53	176,46	1414,15
	TMI	635,07	1129,9	1258,9	337,76	
10	PPV	502,99	1750,96	1721,97	304,87	1751,49
	TMI	709,49	1393,79	1220,02	306,07	
11	PPV	585,08	1539,09	1888,36	273,79	1439,88
	TMI	438,56	1211	1233,11	437,18	
12	PPV	468,09	1663,48	1434,44	295,02	1183,51
	TMI	412,29	1000,26	534,93	223,6	
13	PPV	343,87	1163,61	1376,89	221,18	1068,1
	TMI	483,95	1026,98	1079,26	261,37	
14	PPV	600,03	1906,9	1898,74	296,73	1363,42
	TMI	488,92	1243,92	1233,4	289,63	
15	PPV	542,41	1560,72	2113,36	326,24	1458,54
	TMI	581,11	1407,71	1150,65	421,31	

PPV - região parietal pósterio-ventral; TMI - região temporal médio-inferior;

PC - placa cortical; ZSC - zona subcortical; ZI - zona intermédia; ZV - zona ventricular; HC – hipocampo

Tabela 7. Casos de controlo: valores das espessuras das regiões corticais e do hipocampo

Casos de Controlo	Áreas	PC (µm)	ZSC (µm)	ZI (µm)	ZV (µm)	HC (µm)
1	PPV	513,49	1413,45	1641,43	257,1	1436,19
	TMI	547,64	1288,51	1367,11	510,08	
2	PPV	540,98	1195,27	1370,19	295,93	1096,75
	TMI	524,35	1281,36	1168,47	383,89	
3	PPV	925,44	2458,39	1938,74	352,35	1459
	TMI	293,66	277,2	477,18	121,78	
4	PPV	558,02	1696,46	2052,92	336,77	1710,38
	TMI	486,72	474,92	212,68	242,05	
5	PPV	629,56	1972,89	1775,17	277,2	1383,28
	TMI	666,18	1240,49	1171,54	308,37	
6	PPV	449,89	1166,49	1276,27	223,6	1129,22
	TMI	501,99	1168,13	866,38	218,6	
7	PPV	619,67	1683,51	2125,94	282,83	1374,33
	TMI	479,42	1219,48	1069,89	510,08	
8	PPV	538,74	1344,78	1889,67	398,64	1495,73
	TMI	524,86	1261,81	1638,17	111,42	
9	PPV	498,3	1431,73	1310,97	252,89	1253,19
	TMI	531,22	1159,56	1174,63	265,32	
10	PPV	444,03	1879,18	2221,1	264,18	2779,13
	TMI	544,63	1630,04	1419	106,81	
11	PPV	521,46	1471,32	1203,11	208,86	1376,65
	TMI	423,22	1292,8	985,36	439,09	
12	PPV	846,99	1888,43	2328,63	654,8	1937,05
	TMI	863,28	1936,95	1274,59	1125,26	

PPV - região parietal pósterio-ventral; TMI - região temporal médio-inferior;

PC - placa cortical; ZSC - zona subcortical; ZI - zona intermédia; ZV - zona ventricular; HC - hipocampo

Tabela 8. Valores das espessuras do vérmis e dos hemisférios cerebelares nos casos com T21 e nos casos controlo

	Casos T21					Casos Controlo							
	6	8	9	14	15	2	3	5	6	7	10	11	12
Espessura do vérmis (µm)	3711,29	3113,34	4063,98	3228,01	3572,4	3799,57	4645,9	4184,33	4234,89	3105,45	3211,3	3257,67	4448,25
Espessura córtex dos hemisférios cerebelares (µm)	1756,87	1252,11	1987,88	1528,65	1161,82	1644,04	1807,31	2231,3	2045,78	1688,26	2015,29	2065,42	2196,69

µm - micras

Foram utilizados apenas 5 casos no grupo de T21, e 8 casos no grupo de controlo devido a inadequação do material dos casos restantes para avaliação das espessuras das regiões do cerebello.

Tabela 9. Comparação das espessuras das regiões do córtex parietal póstero-ventral (PPV) do grupo de controlo com o grupo T21 (teste T- *Student*)

	Casos de controlo	Casos com T21	p
Placa cortical (PC) ($\mu\text{m}\pm\text{DP}$)	590,55 \pm 149,84	544,89 \pm 84,06	0,326
Zona subcortical (ZSC) ($\mu\text{m}\pm\text{DP}$)	1633,49 \pm 373,73	1454,06 \pm 262,56	0,155
Zona intermédia (ZI) ($\mu\text{m}\pm\text{DP}$)	1761,18 \pm 395,01	1624,97 \pm 364,44	0,361
Zona ventricular (ZV) ($\mu\text{m}\pm\text{DP}$)	317,10 \pm 119,28	267,20 \pm 90,54	0,159

μm – micras; DP – desvio padrão

Tabela 10. Comparação das espessuras das regiões do córtex temporal médio-inferior (TMI) do grupo de controlo com o grupo T21 (teste T- Student)

	Controlo	T21	p
Placa cortical (PC) ($\mu\text{m}\pm\text{DP}$)	532,26 \pm 135,72	558,04 \pm 90,40	0,560
Zona subcortical (ZSC) ($\mu\text{m}\pm\text{DP}$)	1185,94 \pm 440,51	1163,95 \pm 162,04	0,859
Zona intermédia (ZI) ($\mu\text{m}\pm\text{DP}$)	1068,75 \pm 397,81	1127,73 \pm 320,06	0,673
Zona ventricular (ZV) ($\mu\text{m}\pm\text{DP}$)	361,89 \pm 280,52	329,09 \pm 138,75	0,694

μm - micras; DP – desvio padrão

Tabela 11. Comparação das espessuras das regiões do hipocampo do grupo de controlo com o grupo T21 (teste T-Student)

	Controlo	T21	p
Hipocampo ($\mu\text{m}\pm\text{DP}$)	1535,91 \pm 454,01	1452,41 \pm 252,49	0,550

μm - micras; DP – desvio padrão

Tabela 12. Média/Desvio-Padrão e mediana das espessuras do vérmis e hemisfério cerebelar no cerebello nos casos de controlo e dos casos com T21 (teste T-Student)

	Controlo		T21		p
	Média	Mediana	Média	Mediana	
Espessura Vérnis ($\mu\text{m}\pm\text{DP}$)	3860,92 \pm 605,45	3991,95	3537,80 \pm 382,20	3572,40	0,312
Espessura Hemisférios Cerebelares ($\mu\text{m}\pm\text{DP}$)	1961,76 \pm 223,00	2030,53	1537,47 \pm 344,10	1528,65	0,020

μm – micras; DP – desvio padrão

Discussão

As manifestações da síndrome de Down variam muito de indivíduo para indivíduo, dependendo do *background* genético e de fatores ambientais, entre outros fatores.

Neste estudo pretendeu-se avaliar as alterações encefálicas no 2º trimestre de fetos com trissomia 21, considerando a idade gestacional (IG) de 17 semanas, comparadas com controlos, usando os mesmos parâmetros e IG. Identificaram-se diferenças entre os dois grupos, algumas com significado estatístico.

Este estudo baseia-se no maior número de casos de T21 (n=18) e de controlos (n=16), na idade gestacional de 17 semanas, quando comparado com resultados publicados: Kanaumi T et al. (7) reportaram um estudo de quantificação das células não-neuronais de encéfalos de fetos com T21, usando apenas um caso de T21 e um caso de controlo com IG de 17 semanas; Zdaniuk G et al. (8) compararam 12 fetos com T21 com 12 fetos de controlo com IG de 18-20 semanas, e realizaram quantificação celular apenas numa sub-região da área frontoparietal; Larsen KB et al. (9), no seu estudo de quantificação neuro-glial, compararam 4 fetos com T21 com 8 fetos controlo, sendo que apenas dois tinham IG de 17 semanas; Guidi S et al., no conjunto dos seus dois trabalhos (42-43) compararam os diferentes tipos celulares de encéfalos e cerebelos, usando 6 fetos com T21 e 7 fetos controlo, sendo que apenas um tinha IG de 17 semanas. Nenhum dos estudos publicados avaliou de forma sistemática a medição das várias sub-regiões corticais (biometria) em duas áreas encefálicas diferentes, nem avaliou a espessura do hipocampo, do vérmis ou dos hemisférios cerebelares, realizados no presente estudo original e único, que constitui eventualmente um avanço substancial no conhecimento do desenvolvimento encefálico de fetos com T21 com IG de 17 semanas.

O peso do encéfalo, nos casos de T21 deste estudo, foi inferior ao dos controlos e esta diferença foi estatisticamente significativa, o mesmo acontecendo com o diâmetro fronto-occipital. Estes resultados estão de acordo com os dados reportados por outros autores (6-8, 23, 52), em estudos baseados predominantemente em avaliação ecográfica, um dos quais incluindo casos deste trabalho. No único estudo baseado em autópsias fetais (52), que avaliou as características biométricas da face e de encéfalos de fetos com T21 (entre as 15 e as 38 semanas de IG) também o peso do encéfalo e o diâmetro fronto-occipital foram inferiores aos do grupo de controlo, o que reforça a convicção de que a braquicefalia é frequente nos fetos com T21.

No cerebelo, a espessura dos hemisférios cerebelares parece ser significativamente reduzida nos fetos com T21. Vários autores (42, 43) descreveram que os cerebelos de fetos com síndrome de

Down (entre as 17 e as 21 semanas de IG) apresentam redução de volume, hipocelularidade grave em todas as camadas e diminuição da espessura de todas as que incluem células granulares, indiciando que a disfunção da histogénese e da citogénese são determinantes na T21. Embora sem significado estatístico, também o valor do diâmetro transverso do cerebelo nos casos de T21 do presente estudo foi inferior ao dos controlos. Estes achados coadunam-se com a possibilidade de, desde muito cedo no desenvolvimento fetal, ocorrerem anomalias na proliferação/apoptose celular, que são consideradas importantes na patogénese de encéfalos e de cerebelos mais pequenos em fetos com T21. De facto, Guidi S et al. (42, 43) reportaram que esta diferença era devida a hipocelularidade generalizada do encéfalo e do cerebelo dos fetos com T21 (comparando 7 fetos com T21 com 6 controlos, entre as 17 e as 21 semanas de IG) e atribuíram a causa à presença de défice grave na proliferação celular. Estes autores mediram a espessura das camadas do córtex cerebelar e quantificaram a presença de células neuronais e gliais nas diferentes camadas do córtex cerebelar e avaliaram marcadores imuno-histoquímicos de proliferação celular e de apoptose, indicando que os fetos com T21 têm padrão cerebelar imaturo e volume reduzido, com menor número de células granulares, de células de Purkinge e de glia de Bergmann. (43)

Nos fetos com T21 incluídos neste trabalho o diâmetro biparietal parece ser maior, embora sem significado estatístico. Este resultado poderá relacionar-se com a conformação anómala do crânio nos casos de T21: diâmetros ântero-posteriores pequenos, com aplanamento marcado da região occipital, e diâmetros bipariais maiores. Este achado, também reportado num trabalho (52) baseado em medidas biométricas de autópsias de fetos com T21, coaduna-se com braquicefalia, característica precoce em fetos com T21; contudo, o aumento do diâmetro biparietal em fetos com T21 não foi confirmado em estudos baseados em dados exclusivamente ecográficos e diferem de outros reportados em autópsias.

A idade materna foi superior nos casos com T21 deste estudo, tal como reportado na literatura; porém, é perceptível a sobreposição dos intervalos de confiança: 34-42 anos nos casos com T21 e 29-41 anos nos casos de controlo. Estes resultados são idênticos aos reportados em trabalhos recentes (20, 21): à medida que a idade materna aumenta, a razão dos casos com T21 em mulheres com mais de 35 anos relativamente às mães com idade inferior a 35 anos aproxima-se da unidade. (20, 21)

Encéfalos mais pequenos apresentam redução na espessura do neocórtex, como se observou neste estudo na região parietal, nas diferentes sub-regiões corticais dos fetos com T21. Resultados publicados em encéfalos de fetos com 19 semanas de IG (9), em que se avaliou o número de células neuronais e gliais nestas áreas, indicam que o número de células é inferior nos fetos com T21, quando

comparado com o dos controlos; ainda assim, neste trabalho (9) não foi avaliada a espessura da região parietal nem comparada com a da região temporal. A quantificação celular (neuronal *vs* glial) fazia parte dos objetivos iniciais do presente trabalho mas (por motivos técnicos) não foi possível quantificar os diferentes tipos celulares nas várias sub-regiões corticais. Vários autores (6-8, 52) favorecem a hipótese de um défice marcado na proliferação celular como causa da redução do tamanho encefálico nos fetos com T21, baseados em resultados reportados em ratos e fetos humanos. Estimar e comparar nas várias sub-regiões corticais o índice proliferativo celular, era também um objetivo deste estudo, que pelas razões já indicadas não foi possível. Não obstante, embora tenha sido impossível a quantificação dos componentes celulares, a avaliação das espessuras nas sub-regiões PC, ZSV, ZI, ZV no córtex parietal nunca foi publicada em fetos com T21 nesta idade gestacional.

Na região temporal observaram-se algumas diferenças. A espessura das regiões da placa cortical e da zona intermédia apresentam valores superiores nos fetos com T21 deste estudo, o que difere do reportado na literatura (7). Por outro lado, parece que há uma simplificação do lobo temporal na T21, com redução do número de células neuronais. No entanto, um aumento da espessura nas regiões da placa cortical e na zona intermédia poderá não significar um aumento de células neuronais, mas um aumento de células não neuronais como macrófagos, microglia, astrócitos ou oligodendrócitos. Um estudo recente reporta (7) que às 18 semanas de IG o córtex temporal de fetos com T21 tem maior quantidade de oligodendrócitos e de astrócitos quando comparados com controlos, tendo os autores sugerido a possibilidade de se tratar de uma resposta compensatória à redução da proliferação dos precursores neuronais e ao atraso na mielinização na região ventricular; porém, a avaliação das espessuras das sub-regiões PC, ZSV, ZI, ZV no córtex temporal não foi reportada neste estudo.

No presente estudo encontraram-se diferenças nas espessuras das sub-regiões corticais, em duas áreas encefálicas diferentes, parietal e temporal, em fetos com T21 às 17 semanas de IG; parece que a região parietal pode ter um grau de alterações diferente da região temporal. Na região temporal há duas sub-regiões (PC e ZI) que apresentam valores de espessura superiores nos fetos com T21. No entanto, estes resultados carecem de validação numa população maior de casos e de controlos e, adicionalmente, com quantificação diferencial de vários tipos celulares, neuronais e não-neuronais, para estabelecer esta presumível diferença, e com impacto potencial nas manifestações da síndrome de Down.

No hipocampo há resultados publicados (7) indicando que numa fase precoce do desenvolvimento (14-16 semanas de IG) ocorre aumento do número de macrófagos na região CA1/*subiculum* do hipocampo de fetos com T21, o que poderá indiciar um aumento da atividade fagocítica, que se associa a aumento da apoptose e a alterações da neurogênese. O hipocampo pode ser simplificado e mais pequeno nos casos de T21. Os valores encontrados para o hipocampo, no presente trabalho, foram inferiores nos casos de T21 relativamente ao grupo controlo, mas a diferença não foi estatisticamente significativa.

Conclusão

Este estudo é único em Portugal e também, de acordo com a revisão bibliográfica apresentada, em publicações internacionais. A medição sistemática das espessuras das sub-regiões do córtex cerebral, do hipocampo e de duas regiões do cerebelo, em fetos com trissomia 21 com 17 semanas de idade gestacional, nunca tinha sido publicada, permitindo este estudo um esclarecimento mais objetivo das alterações morfométricas e biométricas em encéfalos de fetos com T21.

Pela revisão da literatura dos estudos publicados por outros autores (7, 8, 9 42, 43), em que foi realizada a comparação histológica de encéfalos de fetos humanos com T21 e controlos, verifica-se que este trabalho é o que apresenta o maior número de casos e de controlos, na idade gestacional de 17 semanas. Nenhum dos estudos publicados reportou a medição das várias sub-regiões corticais em duas áreas encefálicas diferentes, nem a espessura do hipocampo, do vérmis ou dos hemisférios cerebelares, o que torna este estudo original, contribuindo para um melhor conhecimento do desenvolvimento encefálico de fetos com T21.

Este estudo revela a presença de diferenças crânio-encefálicas significativas entre fetos com T21 às 17 semanas de idade gestacional quando comparadas com controlos, indicando que as alterações da neurogênese se iniciam precocemente no desenvolvimento fetal, provavelmente resultantes de alterações no número de células neuronais e de células não neuronais.

Os resultados deste trabalho permitem esclarecer alterações encefálicas biométricas em fetos humanos com T21, quando comparados com resultados de estudos de outros autores, na sua maioria realizados em modelos animais e baseados maioritariamente na quantificação, índice de proliferação e apoptose de subtipos celulares, mas sem quantificação biométrica sistemática das regiões avaliadas. As limitações dos estudos publicados parecem resultar da inclusão de fetos de várias idades gestacionais (o que dificulta avaliação precisa das alterações em cada idade gestacional) assim como da utilização frequente de modelos de ratos (TS16 e TS65 DN), bem como de avaliação quase exclusivamente biométrica ecográfica.

O ligeiro aumento do valor da espessura na placa cortical e zona intermédia da região temporal nos casos de fetos com T21 é presumivelmente diferente do espetável às 17 semanas de IG, dada a hipocelularidade (neuroglial) generalizada encefálica referida nos raros estudos publicados em encéfalos de fetos humanos desta idade gestacional. Apesar da hipocelularidade na T21, permanece por esclarecer se este defeito é causado por um processo neurodegenerativo, por diminuição da

produção de neurónios, ou pela combinação variável de ambos mecanismos patogénicos, porque a neurogénese na T21 pode ser variavelmente alterada durante as fases iniciais do desenvolvimento do encéfalo.

Pode-se especular que o aumento observado na espessura da placa cortical e da zona intermédia da região temporal em fetos com T21 resulta do aumento de células não neuronais: macrófagos, células oligodendrogliais, astrocitárias e da microglia. No entanto esta possibilidade carece de mais estudos. A caracterização dos vários tipos celulares presentes nas várias regiões corticais e cerebelares estudadas é fundamental para o melhor esclarecimento das alterações da T21 em humanos num trabalho com mais casos, que se pretende prosseguir.

Sendo uma das principais causas de IMG no 2º trimestre de gravidez, a avaliação sistemática das alterações tecidulares que ocorrem na trissomia 21 pode ser muito relevante para esclarecer diferenças (com expressão variável) no desenvolvimento encefálico humano, e contribuir para a identificação precoce da gravidade do potencial défice mental, fornecendo aos pais esclarecimentos mais precisos em termos de capacidades motoras e intelectuais de fetos diagnosticados com T21, facilitadores da sua decisão informada.

Benefícios pessoais:

Este tema proposto para a Tese de Mestrado, deveu-se à enorme e crescente vontade de desenvolver e conhecer melhor as alterações encefálicas existentes em Fetos com Trissomia 21. Poder aprofundar um tema da minha área profissional (Patologia do Desenvolvimento) e ser orientada por docentes e profissionais experientes, que promoveram o apoio nesta Tese de Mestrado.

Bibliografía

1. van Lijnschoten G, Arends JW, De La Fuente AA, Schouten HJ, Geraedts JP. Intra- and inter-observer variation in the interpretation of histological features suggesting chromosomal abnormality in early abortion specimens. *Histopathology*. 1993 Jan;22(1):25-9.
2. van Lijnschoten G, Arends JW, Leffers P, De La Fuente AA, Van Der Looij HJ, Geraedts JP. The value of histomorphological features of chorionic villi in early spontaneous abortion for the prediction of karyotype. *Histopathology*. 1993 Jun;22(6):557-63.
3. Lejeune J, Gautier M, Turpin R. [Study of somatic chromosomes from 9 mongoloid children]. *Comptes rendus hebdomadaires des seances de l'Academie des sciences*. 1959 Mar 16;248 (11):1721-2.
4. Lejeune J GM, Turpin R Etude des chromosomes somatiques de neuf enfants mongoliens. *Comptes Rendus Hebd Seances Acad Sci* 1959:[S.l.: s.n.] 248 (11): 1721-2.
5. M. G. La découvreuse oubliée de la trisomie 21. *La Recherche* 2009 ([S.l.: s.n.] (434): 57–59).
[:http://www.larecherche.fr/la-d%C3%A9couvreuse-oubli%C3%A9e-de-la-trisomie-21](http://www.larecherche.fr/la-d%C3%A9couvreuse-oubli%C3%A9e-de-la-trisomie-21).
6. Schmidt-Sidor B, Wisniewski KE, Shepard TH, Sersen EA. Brain growth in Down syndrome subjects 15 to 22 weeks of gestational age and birth to 60 months. *Clinical neuropathology*. 1990 Jul-Aug;9(4):181-90.
7. Kanaumi T, Milenkovic I, Adle-Biassette H, Aronica E, Kovacs GG. Non-neuronal cell responses differ between normal and Down syndrome developing brains. *International journal of developmental neuroscience : the official journal of the International Society for Developmental Neuroscience*. 2013 Dec;31(8):796-803.
8. Zdaniuk G, Wierzba-Bobrowicz T, Szpak GM, Stepień T. Astroglia disturbances during development of the central nervous system in fetuses with Down's syndrome. *Folia neuropathologica / Association of Polish Neuropathologists and Medical Research Centre, Polish Academy of Sciences*. 2011;49(2):109-14.
9. Larsen KB, Laursen H, Graem N, Samuelsen GB, Bogdanovic N, Pakkenberg B. Reduced cell number in the neocortical part of the human fetal brain in Down syndrome. *Annals of anatomy = Anatomischer Anzeiger : official organ of the Anatomische Gesellschaft*. 2008 Nov 20;190(5):421-7.
10. Down JL. Observations on an ethnic classification of idiots. 1866. *Mental retardation*. 1995 Feb;33(1):54-6.
11. Eco4u. Available from: <https://eco4u.wordpress.com/tag/dia-internacional-da-sindrome-de-down/>.

12. Clinic M. Down syndrome. April 19, 2014; Available from: <http://www.mayoclinic.org/diseases-conditions/down-syndrome/basics/risk-factors/con-20020948>.
13. Leite L. Síndrome de Down. Genética Clínica; Available from: <http://www.ghente.org/ciencia/genetica/down.htm>.
14. NIH. Eunice Kennedy Shriver National Institute of Child Health and Human development. Available from: <https://www.nichd.nih.gov/pages/search.aspx?query=down%20sindrome>.
15. Society N-NDS. Down Syndrome Facts. <http://www.ndss.org/Down-Syndrome/Down-Syndrome-Facts/1>.
16. Paul TaM. Down Syndrome-Cancer Link Studied. 15 April 2008.; Available from: <http://www.downsyn.com/cancer.php>.
17. Hook EB. Rates of chromosome abnormalities at different maternal ages. *Obstetrics and gynecology*. 1981 Sep;58(3):282-5.
18. JS S. Neurologia da Infancia e Adolescência. Available from: http://schwartzman.com.br/php/index.php?option=com_content&view=article&id=58&Itemid=28.
19. Lima TZMLE. Mal de Alzheimer - Síndrome de Down. Laboratório de Neurofisiologia. 2008:Universidade Federal de São Paulo.
20. Castedo PDS. RASTREIO PRÉ-NATAL DE DEFEITOS ABERTOS DO TUBO NEURAL E SÍNDROME DE DOWN. GDPN – Genética Médica e Diagnóstico Pré-Natal, Prof Doutor Sérgio Castedo, Lda.
21. Castedo S. Evolução notável no campo da Medicina Fetal. *JustNews*. 15 de abril de 2014.
22. Buckley F, Buckley S. Wrongful deaths and rightful lives - screening for Down syndrome. *Down's syndrome, research and practice : the journal of the Sarah Duffen Centre / University of Portsmouth*. 2008 Oct;12(2):79-86.
23. Rodini EeS, A. Down Syndrome: etiology and characteristics. *Cérebro & mente Revista eletrônica de divulgação científica em neurociências*. dez. 1997/fev. 1998.
24. Gall SA, Halbert SP. Antigenic constituents in pregnancy plasma which are undetectable in normal non-pregnant female or male plasma. *International archives of allergy and applied immunology*. 1972;42(4):503-15.
25. Brock DJ, Barron L, Holloway S, Liston WA, Hillier SG, Seppala M. First-trimester maternal serum biochemical indicators in Down syndrome. *Prenatal diagnosis*. 1990 Apr;10(4):245-51.
26. Folkersen J, Grudzinkas JG, Hindersson P, Teisner B, Westergaard JG. Pregnancy-associated plasma protein A: circulating levels during normal pregnancy. *American journal of obstetrics and gynecology*. 1981 Apr 15;139(8):910-4.

27. Stenman U-H, Unkila-Kallio L, Korhonen J, Alfthan H. Immunoprocudures for detecting human chorionic gonadotropin: clinical aspects and doping control. *Clinical Chemistry*. 1997;43(7):1293-8.
28. Canick JA, Kellner LH. First trimester screening for aneuploidy: serum biochemical markers. *Seminars in perinatology*. 1999 Oct;23(5):359-68.
29. Wald NJ, George L, Smith D, Densem JW, Petterson K. Serum screening for Down's syndrome between 8 and 14 weeks of pregnancy. International Prenatal Screening Research Group. *British journal of obstetrics and gynaecology*. 1996 May;103(5):407-12.
30. Haddow JE, Palomaki GE, Knight GJ, Williams J, Miller WA, Johnson A. Screening of maternal serum for fetal Down's syndrome in the first trimester. *The New England journal of medicine*. 1998 Apr 2;338(14):955-61.
31. Cole LA, Khanlian SA, Giddings A, Butler SA, Muller CY, Hammond C, et al. Gestational trophoblastic diseases: 4. Presentation with persistent low positive human chorionic gonadotropin test results. *Gynecologic oncology*. 2006 Aug;102(2):165-72.
32. Cole LA, Laidler LL, Muller CY. USA hCG reference service, 10-year report. *Clinical biochemistry*. 2010 Aug;43(12):1013-22.
33. Bidart J-M, Bellet D. Human chorionic gonadotropin Molecular forms, detection, and clinical implications. *Trends in Endocrinology & Metabolism*. 1993 1993/11/01;4(9):285-91.
34. Pinto Júnior W. Diagnóstico pré-natal. *Ciência & Saúde Coletiva*. 2002;7:139-57.
35. Sadler TW, Langman J, Langman J. *Langman's medical embryology*. Philadelphia; New York: Wolters Kluwer Health : Lippincott Williams & Wilkins; 2012.
36. Donkelaar HJ, Lammens M, Hori A. *Clinical Neuroembryology: Development and Developmental Disorders of the Human Central Nervous System*: Springer Berlin Heidelberg; 2014.
37. Siebert EG-BRPKLLOJR. *Potter's Pathology of the Fetus, Infant and Child*, 2nd Edition 27 Apr 2007.
38. Stiles J, Jernigan TL. The basics of brain development. *Neuropsychology review*. 2010 Dec;20(4):327-48.
39. Sylvester PE. The hippocampus in Down's syndrome. *Journal of mental deficiency research*. 1983 Sep;27 (Pt 3):227-36.
40. Sylvester PE. The anterior commissure in Down's syndrome. *Journal of mental deficiency research*. 1986 Mar;30 (Pt 1):19-26.
41. Sylvester PE. Nutritional aspects of Down's syndrome with special reference to the nervous system. *The British journal of psychiatry : the journal of mental science*. 1984 Aug;145:115-20.

42. Guidi S, Bonasoni P, Ceccarelli C, Santini D, Gualtieri F, Ciani E, et al. Neurogenesis impairment and increased cell death reduce total neuron number in the hippocampal region of fetuses with Down syndrome. *Brain pathology (Zurich, Switzerland)*. 2008 Apr;18(2):180-97.
43. Guidi S, Ciani E, Bonasoni P, Santini D, Bartesaghi R. Widespread proliferation impairment and hypocellularity in the cerebellum of fetuses with down syndrome. *Brain pathology (Zurich, Switzerland)*. 2011 Jul;21(4):361-73.
44. Moldrich RX. A yeast model of Down syndrome. *International journal of developmental neuroscience : the official journal of the International Society for Developmental Neuroscience*. 2007 Dec;25(8):539-43.
45. Carrillo RR, Ros E, Tolu S, Nieuw T, D'Angelo E. Event-driven simulation of cerebellar granule cells. *Bio Systems*. 2008 Oct-Nov;94(1-2):10-7.
46. Highstein SM, Thach WT. *The cerebellum : recent developments in cerebellar research*. New York: New York Academy of Sciences; 2002; Available from: <http://dx.doi.org/10.1111/nyas.2002.978.issue-1>.
47. Emoto K. [Molecular basis for establishment and maintenance of dendritic trees]. *Brain and nerve = Shinkei kenkyu no shinpo*. 2008 Apr;60(4):351-64.
48. Filho AdO. Retardo Mental. Available from: <https://www.abcdasaude.com.br/pediatria/retardo-mental>.
49. Niccols A, Atkinson L, Pepler D. Mastery motivation in young children with Down's syndrome: relations with cognitive and adaptive competence. *Journal of intellectual disability research : JIDR*. 2003 Feb;47(Pt 2):121-33.
50. Morovic A. *HANDBOOK OF PEDIATRIC AUTOPSY PATHOLOGY*. Shock. 2005;24(6):598-9.
51. Kidron D, Shapira D, Ben Sira L, Malinger G, Lev D, Cioca A, et al. Agenesis of the corpus callosum. An autopsy study in fetuses. *Virchows Archiv : an international journal of pathology*. 2016 Feb;468(2):219-30.
52. Guihard-Costa AM, Khung S, Delbecque K, Menez F, Delezoide AL. Biometry of face and brain in fetuses with trisomy 21. *Pediatric research*. 2006 Jan;59(1):33-8.