



FACULDADE DE MEDICINA
UNIVERSIDADE DO PORTO

MESTRADO INTEGRADO EM MEDICINA

2010/2011

Ana Raquel Matos Alves Barreira

Hidr6psia Fetal Imune

Abril, 2011

FMUP

Ana Raquel Matos Alves Barreira
Hidrópsia Fetal Imune

Mestrado Integrado em Medicina

Área: Ginecologia Obstetrícia

**Trabalho efectuado sob a Orientação de:
Dra. Ana Reynolds Magalhães Abreu Coutinho Castro Saraiva**

**Elaborado segundo as normas editoriais da revista:
Acta Obstétrica e Ginecológica Portuguesa**

Abril, 2011

Faculdade de Medicina da Universidade do Porto

2010/2011

Unidade Curricular "Dissertação/Monografia/Relatório de Estágio Profissionalizante"

Projecto de Opção do 6º ano – DECLARAÇÃO DE REPRODUÇÃO

Nome: Ana Raquel Matos Alves Barreira

Endereço electrónico: medos137@med.up.pt **Telefone ou Telemóvel:** 916702815

Número do Bilhete de Identidade: 13225068

Título da Dissertação/Monografia/Relatório de Estágio Profissionalizante (cortar o que não interessa):

Hidropea Fetal Imune

Orientador:

Dra Ana Reynolds Magalhães Abreu Coutinho Castro
Sarciva

Ano de conclusão: 2011

Designação da área do projecto:

Ginecologia Obstétrica

É autorizada a reprodução integral desta Dissertação/Monografia/Relatório de Estágio Profissionalizante (cortar o que não interessar) para efeitos de investigação e de divulgação pedagógica, em programas e projectos coordenados pela FMUP.

Faculdade de Medicina da Universidade do Porto, 11/04/2011

Assinatura: Ana Raquel Matos Alves Barreira

Unidade Curricular "Dissertação/Monografia/Relatório de Estágio Profissionalizante"

Eu, Ana Raquel Mato Alves Barreira, abaixo assinado, nº mecanográfico 050801137, estudante do 6º ano do Mestrado Integrado em Medicina, na Faculdade de Medicina da Universidade do Porto, declaro ter actuado com absoluta integridade na elaboração deste projecto de opção.

Neste sentido, confirmo que **NÃO** incorri em plágio (acto 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, 11/04/2011

Assinatura: Ana Raquel Mato Alves Barreira

Hidr6psia Fetal Imune

Immune Hydrops Fetalis

Ana Raquel Matos Alves Barreira

Faculdade de Medicina da Universidade do Porto

Correspond6ncia:

Ana Raquel Matos Alves Barreira

Morada: Rua Hon6rio de Lima, 171, 4200-322, Porto, Portugal

Telefone: +351 916702815

E-mail: med05137@med.up.pt

Índice

Resumo	3
Abstract.....	4
Introdução	5
Métodos	6
Etiologia	7
Patofisiologia	9
Factores protectores.....	10
Factores de risco	10
Abordagem	11
Estudo etiológico	11
Tratamento intrauterino	14
Parto.....	16
Prognóstico	16
Profilaxia	18
Conclusão	20
Agradecimentos.....	20
Referências bibliográficas	21
Anexos	

Hidrópsia Fetal Imune

Resumo

A hidrópsia fetal imune (HFI) é uma condição que se caracteriza pela acumulação de líquido seroso nos tecidos e cavidades do feto, constituindo uma causa importante de complicações gestacionais e de morbimortalidade fetal e neonatal. No âmbito de uma reacção materna aloimune, ocorre produção de anticorpos contra antígenos eritrocitários fetais, que desencadeiam anemia grave e perturbação do balanço hídrico, levando ao desenvolvimento de hidrópsia. A imunização RhD constitui o principal factor etiológico, embora se encontre em declínio como consequência da generalização da imunoprofilaxia anti-D. Paralelamente, assiste-se a um aumento da incidência de outros factores etiológicos, nomeadamente da HFI por anticorpos de baixa frequência. Tradicionalmente, a HFI apresentava um prognóstico muito desfavorável, com uma taxa de mortalidade associada que podia alcançar os 98%. Em virtude de progressos alcançados no âmbito do diagnóstico e tratamento pré e neonatal, assistiu-se, nas últimas décadas, a uma melhoria significativa do prognóstico, sendo expectável, com tratamento adequado e atempado, a sobrevivência da quase totalidade dos fetos bem como um desenvolvimento neurológico dentro da normalidade. Atendendo às potenciais repercussões da actuação médica no prognóstico, pretende-se fazer uma revisão actualizada da etiologia, dos mecanismos patofisiológicos e prognóstico relativos a esta temática bem como dos progressos alcançados nos últimos dez anos no âmbito da abordagem diagnóstica e terapêutica.

Palavras-chave: Hidrópsia fetal, Eritroblastose fetal, Transfusão sanguínea intrauterina.

Immune Hydrops Fetalis

Abstract

Immune hydrops fetalis (IHF) is a condition characterized by the accumulation of serous fluid in tissues and cavities of the fetus, being an important cause of gestational complications and of fetal and neonatal morbimortality. In the scope of an alloimmune maternal reaction antibodies directed against fetal erythrocyte antigens are produced, leading to hemolysis, anemia and a disturbance in the hydric balance, which may result in hydrops. RhD immunization is the main etiologic factor, although it is becoming less frequent as a consequence of the widespread use of anti-D immunoprophylaxis. Simultaneously, other factors are gaining importance as the incidence of IHF due to lower frequency red-blood cells antigens immunization is increasing. Traditionally, the overall prognosis of hydrops fetalis was dim, with an associated mortality rate that could reach 98%. In virtue of progresses achieved in the last decades concerning the diagnosis and treatment of the hydropic fetuses, there has been a significant improvement in the outcome of the affected pregnancies. With proper and timely management survival of most fetuses and a neurological development within normal is to be expected. As the medical decision can have profound repercussions on the prognosis this paper aims to review the current knowledge on the ethiology, pathophysiology and prognosis of IHF as well as the developments achieved in the last ten years in its diagnosis and treatment.

Key-words: Hydrops fetalis, Erythroblastosis Fetal, Intrauterine Blood Transfusion.

Introdução

O termo hidrósia refere-se a um sinal patológico inespecífico, resultante de uma perturbação na homeostasia hídrica, correspondente ao estadio final de mais de 100 patologias, que surge numa em cada 3000 gestações.¹ Caracteriza-se pela presença de edema generalizado, com acumulação extracelular de líquido seroso nos tecidos e cavidades do feto, podendo manifestar-se na forma de ascite, derrame pleural, derrame pericárdico, edema cutâneo, polihidrâmnios e edema.²⁻⁸ Etiologicamente, pode ser subdividida em hidrósia fetal imune (HFI) e não imune (HFNI).^{3,6,9-11} A hidrósia fetal imune resulta de anemia secundária a eritroblastose por aloimunização.¹¹ Por oposição, a hidrósia fetal de causa não-imunológica caracteriza-se pela ausência de anticorpos anti-antígenos eritrocitários fetais, podendo surgir no âmbito de patologia cardiovascular, placentária, hematológica, infecciosa, cromossómica, genética, tumoral, gastrointestinal ou como consequência de anomalias congénitas ou distúrbios hereditários do metabolismo, entre outros.^{11, 12} Em cerca de 20% dos casos de HFNI, a etiologia permanece desconhecida, designando-se de hidrósia fetal idiopática.¹³

Até à década de 60, a eritroblastose por aloimunização RhD constituía a principal causa de hidrósia fetal (HF). Com a introdução da imunoprofilaxia anti-D, em 1969, a HFNI passou a ser a mais prevalente, sendo que apenas 13-24% dos casos são, actualmente, atribuídos à HFI.^{11, 14} Paralelamente, nos últimos anos, tem-se verificado um aumento relativo da incidência de HFI por anticorpos de baixa frequência, também designados de anticorpos *minor*, devendo, em caso de suspeita de HFI, ser considerados como possíveis factores etiológicos.^{10, 15-22}

Apesar de ser uma situação relativamente rara, a HFI constitui um problema obstétrico importante podendo causar elevada morbimortalidade fetal e neonatal.^{4, 23} Até há algumas décadas, a HF apresentava um prognóstico muito sombrio, com uma taxa de mortalidade fetal associada que podia alcançar os 98%.²⁴ Na sequência da introdução da profilaxia RhD, da utilização generalizada de técnicas não invasivas para detecção e monitorização da anemia no contexto da HF e dos progressos alcançados no tratamento *in* útero e neonatal^{16, 23, 25-27}, assistiu-se a uma melhoria considerável do prognóstico, com uma taxa de sobrevivência global actual entre os 70 e os 92%, que pode alcançar os 98%, caso ocorra reversão da hidrósia após

tratamento intrauterino.^{24, 28-30} Idealmente, gestações em risco de aloimunização seriam monitorizadas, intervindo-se previamente ao desenvolvimento da HFI, o que permitiria melhorar a taxa de sobrevivência.^{26, 28} Desta forma, é da maior importância o diagnóstico precoce, com referência para um centro especializado, e a adopção imediata de medidas terapêuticas.^{4, 23, 24, 28, 31}

Tendo em conta o impacto clínico possível da HFI e a importância da actuação do profissional de saúde na minimização das repercussões materno-fetais, pretende-se efectuar uma revisão actualizada da etiologia, mecanismos patofisiológicos e prognóstico relativos a esta temática bem como dos progressos alcançados nos últimos dez anos no âmbito da sua abordagem diagnóstica e terapêutica.

Métodos

Na recolha de evidência científica relativa ao tema “Hidrósia Fetal Imune”, procedeu-se à pesquisa de artigos através do motor de busca *PubMed*, tendo, para o efeito, sido utilizadas as seguintes palavras-chave: “*Hydrops fetalis* [Mesh] AND *Erythroblastosis Fetal* [Mesh]”, “*Hydrops Fetalis* [Mesh]”, “*Red cell immunization* AND *Hydrops*”, “*Red cell immunization* AND *pregnancy*”, “*Irregular antibodies* AND (*pregnancy* OR *fetus*)”, “*Hydrops Fetalis* AND *Kell*”, “*Hydrops Fetalis* AND *Anti-c*”, “*Hydrops Fetalis* AND *anti-D*”, “*Non-D antibodies*”, “*Hydrops Fetalis* AND (*anti-E* OR *anti-Fy^a* OR *anti-JK^a* OR *anti-Jk^b* OR *anti-M* OR *anti-S* OR *anti-U* OR *anti-Di^a* OR *anti-Di^b* OR *anti-PP* OR *anti-Yf^a* OR *anti-Co^a* OR *anti-Good*)” e “*Rh-Hr Blood-group System* [Mesh] AND *isoantibodies* AND *pregnancy* [Mesh]”. A pesquisa foi limitada a artigos referentes a hidrósia fetal imune, em humanos, publicados nos últimos 10 anos, em inglês ou português, tendo-se obtido 733 referências diferentes. Após leitura do resumo ou do texto integral foram excluídos os artigos que abordavam hidrósia fetal não-imunológica ou outro tema divergente do da revisão, tendo-se incluído 74 artigos. Foi também verificada a bibliografia dos artigos obtidos, incluindo-se 8 artigos adicionais. Quando o texto integral não estava disponível contactou-se os autores, solicitando o seu envio. Todos os artigos

incluídos são estudos observacionais, com excepção de um artigo, referente a um ensaio clínico randomizado.

Etiologia

Em termos teóricos, todos os anticorpos que originam um teste de Coombs indirecto (TCI) positivo a 37°C podem causar doença hemolítica fetal (DHF).¹⁷ Contudo, os vários sistemas de antigénios eritrocitários diferem na sua imunogenicidade, isto é, na capacidade de induzir a produção de anticorpos e causar DHF.^{32, 33}

A causa mais frequente de DHF é a incompatibilidade materno-fetal para antigénios do sistema ABO, ocorrendo em 20-25% das gestações.^{19, 34} Encontram-se em risco todos os fetos com grupo sanguíneo A, B ou AB cuja progenitora apresenta grupo sanguíneo O.³⁴ Embora frequente, apresenta, geralmente, um carácter benigno, estando descritos na literatura raros casos de hidrósia.^{34, 35}

O sistema Rhesus é responsável pela maioria dos casos de HFI. Estão descritos mais de 50 antigénios ligados ao sistema Rh, mas apenas cinco serótipos (D, C, E, c, e) foram implicados, até ao momento, em casos de hidrósia.⁵ Apesar de uma diminuição significativa dos casos de eritroblastose fetal com a administração profiláctica de imunoglobulina anti-D, a aloimunização RhD permanece como a principal causa de HFI.^{10, 23, 36, 37} Este facto pode ser explicado pela elevada prevalência e imunogenicidade do antigénio D^{2, 38, 39} mas também por cuidados pré-natais inadequados, incumprimento da profilaxia ou imunização prévia à sua administração, emprego de doses subóptimas, determinação inadequada da magnitude da hemorragia materno-fetal e/ou por episódios de hemorragia materno-fetal não diagnosticados durante a gestação.⁴⁰⁻⁴³ Contudo, permanecem ainda por explicar 43% dos casos de falência profiláctica, podendo resultar de variações individuais da resposta imunitária, sendo necessários estudos adicionais neste âmbito.

Apesar da imunoprofilaxia, em 0.1-0.3% dos casos verifica-se formação de anticorpos anti-RhD.⁴⁴ Koelewijn et al⁴² identificaram como factores de risco independentes para o desenvolvimento de anticorpos anti-RhD, mesmo procedendo a imunoprofilaxia, a primeira

gestação em idades mais jovens, a pós-maturidade e antecedentes de parto vaginal induzido ou cesariana.

A diminuição da incidência de aloimunização RhD, nas últimas décadas, associa-se a um aumento da incidência relativa de casos de DHF por antígenos de baixa frequência.^{10, 17, 19, 21, 22, 39, 45} Esta caracteriza-se pela presença de anticorpos maternos anti-antígenos eritrocitários fetais, com exceção do RhD e ABO, capazes de atravessar a barreira placentária e causar DHF.³³ Por ordem decrescente de imunogenicidade, estão mais frequentemente implicados os antígenos K, E, c, Jk e Fy.^{17, 32} Geifman-Holtzman²¹ propõe que este fenómeno possa ser uma consequência da melhoria de técnicas utilizadas nos bancos de sangue para detecção de antígenos eritrocitários e de um aumento da idade materna, que, por sua vez, condiciona um maior risco de exposição a transfusões sanguíneas e a outros fenómenos com potencial sensibilizador.^{17, 21, 45} Nalguns estudos, já foram inclusive descritas populações em que os antígenos *minor* são mais prevalentes que os RhD.^{21, 46} Há que ter, portanto, em consideração que a prevalência antigénica varia entre populações, atendendo a diferenças genéticas e nas práticas associadas às transfusões.^{21, 45}

Dos antígenos *minor*, o sistema Kell é o mais prevalente, estando presente nos eritrócitos de 9% dos caucasianos e 2% dos indivíduos de raça negra^{17, 31}, sendo responsável por 10% dos casos de anemia imunologicamente mediada.^{16, 36} O mecanismo patofisiológico dos anticorpos anti-Kell difere do dos anti-RhD já que a anemia resulta da supressão das células progenitoras da linhagem eritróide, na medula óssea.^{17, 36}

Estão, também, descritos casos de HF por imunização anti-Coa³⁸, anti-M^{22, 38, 47, 48} anti-Mur^{9, 16}, anti-E¹⁶, anti-Lewis⁴⁸, anti-S⁴⁸, anti-Jr^{a49}, anti-Cw⁵⁰ e anti-Kidd (anti-JK3)².

A HFI pode ainda surgir num contexto em que causas imunológicas e não-imunológicas co-existem^{2, 4, 7} ou em que vários antígenos estão simultaneamente implicados.⁴¹ Num estudo realizado na Turquia, foram detectados casos de HF por imunização RhD/RhC e RhD/Jka, tendo-se verificado que a associação de anticorpos anti-RhD e não-RhD condiciona

frequentemente manifestações mais graves da DHF.⁴⁵ Outros estudos verificaram, também, uma associação entre a co-implicação de múltiplos anticorpos e um pior prognóstico.¹⁸

Patofisiologia

A HFI surge em contexto de doença hemolítica aloimune, mais frequentemente por incompatibilidade RhD materno-fetal, embora já tenham sido descritas muitas outras incompatibilidades.^{25, 41, 51} As causas mais frequentes de aloimunização materna são hemorragia materno-fetal, numa gestação ou parto prévios, e transfusões sanguíneas.^{21, 33, 51}

Quando ocorre exposição materna a antígenos eritrocitários fetais herdados por via paterna e que, por isso, diferem dos maternos, pode ser desencadeada uma resposta imunológica.^{27, 40, 51} Neste processo, são activados linfócitos B clonais que reconhecem os antígenos fetais como estranhos, levando à produção de IgM anti-antígeno eritrocitário fetal.^{28,}

⁴¹ Caso ocorra nova exposição antigénica, há activação e proliferação de linfócitos B memória para aquele antígeno, com produção de IgG.²⁸ Esta, a partir da décima semana de gestação, via células do sinciciotrofoblasto que expressam receptores para o seu domínio Fc, atravessa facilmente a placenta e liga-se aos eritrócitos fetais, opsonizando-os e permitindo o seu reconhecimento pelos macrófagos.^{19, 28, 40, 52, 53} Por lise extravascular ocorre hemólise e, conseqüentemente, anemia.^{27, 28, 51, 53} O grau de anemia variará em função da intensidade da hemólise e da eficácia dos mecanismos compensatórios fetais, nomeadamente da eritropoiese, primeiramente medular e, quando esta se torna insuficiente, extramedular no fígado, baço, placenta e glândulas suprarrenais.^{40, 54} Se este processo for muito intenso pode ocorrer congestão hepática e obstrução do sistema porta fetal, resultando em hipertensão portal, que, associada a disfunção hepática hipóxica com lesão endotelial, leva a um comprometimento da síntese de albumina e aumento da permeabilidade vascular à mesma, condicionando diminuição da pressão oncótica do plasma, o que favorece a passagem de líquido para o interstício.^{7, 55-58} Em casos de anemia fetal severa, verifica-se ainda diminuição da viscosidade sanguínea e um aumento compensatório do débito cardíaco por hipoxemia, numa fase inicial, com desenvolvimento posterior de disfunção miocárdica, aumento da pressão hidrostática e insuficiência cardíaca

congestiva.^{25, 51, 55} A disfunção cardíaca induz um aumento da pressão venosa central e obstrução da drenagem linfática, com acumulação de líquido no espaço intersticial, levando ao desenvolvimento de hidrósia.^{40, 57} Sabe-se que o risco de desenvolvimento de hidrósia aumenta significativamente quando o hematócrito é igual ou inferior a 30% do valor normal.²⁸

O mesmo fenómeno pode ocorrer numa primeira gestação, por exposição a antigénios heterólogos numa transfusão sanguínea prévia, com produção de anticorpos específicos.^{21, 33, 51}

Factores protectores

Apenas uma minoria das grávidas Rh D negativas cujos fetos são Rh D positivos fica imunizada, vindo a desenvolver anemia e hidrósia fetal. Por motivos ainda desconhecidos, até um terço das mulheres são incapazes de produzir anticorpos anti-D, mesmo após estímulos repetidos.⁵⁹ Também a incompatibilidade ABO parece ser um factor protector^{40, 60}, reduzindo o risco de sensibilização e, conseqüentemente, de desenvolvimento de hidrósia, em 90% para incompatibilidade do grupo A e em 50% para incompatibilidade do grupo B.⁵³ Tal poderá dever-se a uma rápida destruição dos eritrócitos fetais incompatíveis pelos anticorpos maternos anti-A e/ou anti-B.^{40, 53}

Factores de risco

O sexo masculino e a presença do alelo *0201 do HLA-DQB1 correlacionam-se positivamente com o desenvolvimento de hidrósia em contexto de imunização RhD.⁶¹

Num estudo de Koelewijn et al.³³, que envolveu 1535 grávidas, foram identificados como factores de risco, estatisticamente significativos, para HFI gestação prévia, paridade, cirurgias, doença hematológica ou imunológica, cesariana, remoção cirúrgica da placenta, pós-maturidade e antecedentes de transfusões de glóbulos rubros (TGR) ou de plaquetas.³³ Destes, a TGR é o factor de risco independente com maior impacto (OR 16.7 IC 95%: 11.4-24.6).³³ Sugerem, assim, rastreio de antigénios eritrocitários *minor* em doentes com factores de risco³³ e a transfusão de glóbulos rubros K, c e E negativos, de forma a reduzir de forma substancial os casos de imunização não-RhD, DHF e HFI.^{31, 33} Também o rastreio de anticorpos *minor* na avaliação clínica do primeiro trimestre parece consciencializar os profissionais de saúde para o

tema, levando a uma referenciação mais precoce, com diminuição significativa dos casos de hidrósia fetal severa e aumento importante da taxa de sobrevivência.³¹

Abordagem

Estudo etiológico

O diagnóstico de HF surge frequentemente numa ecografia pré-natal de rotina ou, mais raramente, durante a investigação ecográfica de altura uterina aumentada para a idade gestacional¹⁵, hipertensão induzida pela gravidez ou diminuição da percepção dos movimentos fetais.²⁵

Perante um feto hidróptico, a identificação do factor etiológico é imperativa, pois só assim é possível determinar qual o tratamento mais adequado, qual o prognóstico e, desta forma, informar a família para que esta possa tomar uma decisão esclarecida quanto ao tratamento e viabilidade da gravidez.^{3,23} Para além disso, o diagnóstico é essencial para a eventual realização de aconselhamento genético numa gestação subsequente.^{13,62}

De salientar que, devido à baixa frequência de aloimunização por anticorpos não-RhD e, conseqüentemente, de hidrósia fetal por estas causas, não estão descritos na literatura, até ao momento, protocolos específicos para estas situações, adoptando-se a mesma abordagem da imunização RhD.^{5,18,63}

Todos os casos, dada a reduzida frequência desta patologia e elevada morbimortalidade potencialmente associada, devem ser encaminhados para um serviço especializado.^{40,64}

O processo diagnóstico deve começar pela realização de uma história clínica detalhada, que inclua história familiar, história obstétrica prévia, nomeadamente ocorrência de imunização ou hidrósia em gestações prévias, antecedentes de eventos traumáticos, de transfusão sanguínea ou de sintomatologia sugestiva de foco infeccioso.^{4,19,25,41}

De forma a diferenciar hidrósia imune da não imunológica, é necessário recorrer a exames complementares de diagnóstico. Primeiramente, deverá realizar-se uma ecografia obstétrica com Doppler, de forma a investigar se se trata de uma gestação múltipla, se existem anomalias congénitas, avaliar o perfil biométrico fetal e a magnitude da hidrósia.^{4,25,65} A

classificação da hidrósia, em função da sua gravidade, não está bem definida. Dado que na HFI a ascite e o derrame pericárdico são os sinais detectados mais precocemente⁴, seguidos eventualmente pelo aparecimento de edema cutâneo e hipertrofia da placenta e, no estadio pré-terminal, de derrame pleural⁶², Van Kamp et al.²⁶, propuseram classificar a hidrósia em ligeira quando um halo de ascite, associado ou não a derrame pericárdico, é evidente na ecografia, e em grave quando a ascite é exuberante, com visualização de órgãos intrabdominais flutuantes, associado eventualmente a derrame pericárdico, edema cutâneo ou derrame pleural.

Simultaneamente, pode realizar-se um ecocardiograma fetal de forma a excluir anomalias cardíacas e dos grandes vasos.²⁵

O estudo analítico materno deverá incluir grupo sanguíneo e fenótipo Rh, título materno de anti-globulina humana (teste de Coombs indirecto), pesquisa de aglutininas irregulares, serologias TORCH e Parvovírus B19.^{4, 64} A realização de amniocentese, em função da situação clínica e ecográfica, pode ser necessária para avaliar o cariótipo fetal ou detectar a presença de microrganismos infecciosos.^{4, 25}

Perante um TCI positivo para um certo antigénio, é imprescindível determinar o grupo sanguíneo e zigotia paternas para esse mesmo antigénio, sendo que, em caso de heterozigotia ou em situações de paternidade desconhecida, é necessário avaliar o genótipo fetal.^{19, 41} Até 1978, tal era realizado por análise do sangue fetal, obtido por cordocentese, técnica com uma taxa de complicações de 1-3% que pode alcançar os 20% nos fetos hidróticos.^{41, 54} A partir de então, tornou-se possível determinar o grupo sanguíneo fetal, de forma não invasiva, por PCR de uma amostra de sangue materno, com uma sensibilidade entre os 92-100%^{23, 28, 30, 41, 52, 64, 66}. Caso se confirme a presença do antigénio no genótipo fetal ou o progenitor masculino seja homozigoto para o antigénio em causa, trata-se provavelmente de um caso de HFI causado por anemia hemolítica grave.

Tradicionalmente, a anemia em contexto de DHF era monitorizada através de amniocenteses seriadas, com avaliação do líquido amniótico por espectrofotometria.³⁶ Em 2000, Mari et al.⁶⁷ descreveram uma técnica que, de forma não invasiva, permite detectar e monitorizar fetos com anemia moderada a severa, com uma eficácia idêntica às técnicas

convencionais – assim, valores superiores a 1,5 múltiplos da mediana no pico de velocidade sistólica da artéria cerebral média (MoM PVS-ACM), para uma determinada idade gestacional, detectam anemia fetal moderada ou grave com uma sensibilidade que ronda os 100% e uma taxa de falsos positivos de 12%.^{10, 41, 67-69} A ultrassonografia Doppler da artéria cerebral média (ACM) veio, então, substituir o doseamento da bilirrubina por espectrofotometria no líquido amniótico, tendo-se reduzido o número de procedimentos invasivos em 70%, bem como as complicações associadas a estes.^{30, 40, 41, 68, 70, 71} Para além disso, é facilmente reproduzível e permite determinar a necessidade de transfusão intrauterina (TIU).^{36, 40, 48} É o método de eleição na monitorização da aloimunização Kell, em que, pelo facto da anemia resultar de depleção medular e não de hemólise, o título materno de anti-kell e os níveis de bilirrubina no líquido amniótico detectados por espectrofotometria não se correlacionam com a gravidade da anemia.^{10, 36} Recorrendo a esta técnica, a monitorização pode ser iniciada à 18ª semana de gestação sendo repetida semanalmente. Contudo, verifica-se um aumento da taxa de falsos positivos após a 35ª semana e uma redução da sensibilidade após a realização de transfusões, pelo que nestas situações não deverá ser valorizada isoladamente.^{41, 68, 69, 72}

Um valor superior a 1.50 MoMs, em duas avaliações seriadas, separadas por um ou dois dias, suporta a realização de cordocentese, na qual se colhem cerca de 2 mL de sangue fetal para determinação do hematócrito, hemoglobina, bilirrubina e doseamento do título fetal de anti-globulina humana (teste de Coombs directo, TCD).^{10, 24, 28, 48, 72} De salientar que o TCD pode ser negativo em situações de hemólise mediada por anti-Kell ou anti-M, o que poderá, neste último caso, dever-se a hemólise intravascular acelerada ou a uma destruição das células da linhagem eritróide na medula óssea, à semelhança do que acontece com o antigénio Kell.^{38, 41} Também no caso de DHF por incompatibilidade ABO é possível obter um TCD negativo ou fracamente positivo, mesmo na presença de HFI.³⁴ Desta forma, em todos os fetos hidrópticos cuja progenitora tenha grupo sanguíneo O e o progenitor masculino A, B ou AB, deve ser avaliado o título de IgG anti-A e anti-B, independentemente do resultado do TCD.³⁴

A realização de TIU está indicada quando o valor de hemoglobina for inferior ao percentil 5 para a idade gestacional ou quando o hematócrito for inferior a 30% ou menor que

dois desvios-padrão para a idade gestacional.^{17, 23, 28} Nos fetos hidrópticos, a transfusão deve ser equacionada logo após o diagnóstico, de forma a minimizar a lesão tecidual resultante da hipóxia.⁶

Se, por oposição, não for detectada anemia colhem-se, novamente, 2 a 3 mL de sangue fetal, para excluir causas adicionais de HFNI.⁴

Nas figuras 1 e 2, encontram-se esquematizadas as linhas mestras de orientação a adoptar na suspeita de HFI.

Tratamento intrauterino

A introdução das transfusões intraperitoneais em 1963 foi responsável por um aumento superior a 50% da taxa de sobrevivência. Contudo, o comprometimento da absorção peritoneal nos fetos hidrópticos, aliado a um elevado risco de prematuridade, levaria praticamente ao seu abandono em detrimento das transfusões intravasculares guiadas por ecografia.^{28, 40, 73} Estas tornar-se-iam o tratamento padrão em virtude da mortalidade pré-natal, morbidade neonatal e risco de parto pré-termo reduzidos.⁷³ Esta técnica permite corrigir a hipoxemia, melhorar a função cardíaca e reverter a hidrósia^{58, 64, 74}, devendo ser equacionada logo após o diagnóstico, de forma a minimizar a lesão tecidual.⁶

A transfusão é geralmente realizada pela veia umbilical, na sua porção intra-hepática, até ser atingido um hematócrito de 40 a 50%.^{28, 30} Quando este acesso não é possível, a veia umbilical, próximo à inserção placentar, ou uma ansa livre de cordão umbilical constituem alternativas viáveis.^{28, 30} A transfusão intra-cardíaca, com uma taxa de complicação de 20%, constitui o último recurso quando não é possível aceder a outra via.^{30, 40} Alguns centros optam pela realização combinada de transfusão intravascular e intraperitoneal, método que parece estar associado a um hematócrito pós-transfusional mais estável e a um maior intervalo de tempo entre transfusões.²⁸

O volume de sangue a transfundir, tendo como objectivo um hematócrito pós-transfusional de 40 a 60%^{28, 30, 41, 48, 58}, pode ser calculado recorrendo a fórmulas matemáticas, que têm em conta o hematócrito fetal inicial, o hematócrito da unidade a transfundir e o volume

de sangue fetoplacentário para a idade gestacional.^{19, 28, 75} Na prática, o procedimento é limitado pela tolerância do feto ao aumento da volêmia e da viscosidade sanguínea, não se devendo aumentar o hematócrito mais que quatro vezes o valor inicial, para não desencadear uma descompensação cardiovascular (aumento da pós carga, com diminuição do volume de ejeção e débito cardíaco, que por sua vez aumenta as necessidades de oxigênio do miocárdio).^{24, 76} Antes da transfusão, pode ser dado um agente paralisante ao feto, como o brometo de pancurônio, de forma a minimizar os movimentos fetais, evitando a ocorrência de lesões traumáticas e a punção inadvertida da artéria umbilical.^{25, 30} A punção placentária deverá ser evitada para que não ocorra hemorragia maternofetal, o que poderia agravar a sensibilização e exacerbar a HF.^{51, 54} Na TIU, devem ser utilizadas unidades de eritrócitos tipo O, negativas para os antígenos para os quais a gestante está aloimunizada, frescas (para evitar altos níveis de potássio), CMV negativas, irradiadas a 25 Gy (para evitar reação enxerto versus hospedeiro), com um hematócrito de 75 a 85%, de forma a prevenir uma sobrecarga de volume.^{24, 28, 30, 36, 41, 48, 52} Em alternativa, pode ser transfundido sangue materno, limitando-se o risco de sensibilização a novos antígenos eritrocitários que poderia surgir com o recurso a unidades dadoras.²⁸ Poucos minutos após a transfusão, a hemoglobina e o hematócrito fetal devem ser reavaliados.^{24, 30, 48} A reversão da hidrôpsia é geralmente observada após a realização de uma ou duas TIU.²⁸

Tendo em conta o declínio do hematócrito fetal de 1% ao dia após realização de TIU, por supressão da hematopoiese fetal, pode ser necessário repetir o procedimento de forma a manter o hematócrito acima de 27-30%.^{28, 41} A monitorização ecográfica com Doppler da ACM é fundamental um dia após o procedimento e, posteriormente, conjuntamente com o perfil biofísico fetal, duas vezes por semana, ou, se necessário, com maior frequência em função da condição fetal e do valor do hematócrito pós-transfusional.^{18, 24, 41, 48}

Nos fetos hidrópticos, provavelmente devido a comprometimento da reserva cardiovascular, observam-se mais frequentemente complicações na sequência de TIU.⁵¹ Estas podem traduzir-se em corioamnionite, possível de minimizar pela administração de antibioticoterapia profiláctica, em hematoma do cordão umbilical, trombose venosa, ruptura

prematura de membranas, parto pré-termo, sofrimento fetal ou estado fetal não tranquilizador e, em 1 a 3% dos casos, morte fetal.^{24, 26, 51} Durante o procedimento, perante instabilidade fetal, pode ser necessário proceder à monitorização contínua da saturação, frequência cardíaca e pressão intravascular, à administração de fármacos vasopressores e à realização de exsanguíneo-transfusões ou de múltiplas transfusões de pequeno volume num curto período de tempo.^{13, 26, 51}

Antes da 20^a semana de gestação, o acesso aos vasos fetais é tecnicamente difícil, podendo, em alternativa, realizar-se transfusão intraperitoneal ou plasmaférese materna seriada, isolada ou em associação, nos casos mais graves, com gamaglobulina hiperimune endovenosa, 0,8 a 1 g/kg por semana, a partir da 8^a-12^a semana, limitando o processo hemolítico até que seja possível realizar uma TIU.^{28, 37, 65, 77}

No futuro, o tratamento poderá passar pela imunomodulação selectiva com anticorpos monoclonais ou recombinantes, embora esta área de investigação esteja ainda numa fase incipiente.^{24, 28}

Parto

O parto deverá ocorrer quando, segundo o parecer do Obstetra e do Neonatologista, os riscos de prolongar a gestação forem superiores aos benefícios.^{14, 25} Actualmente, considera-se que o tratamento expectante com a realização de transfusão intrauterina, antes das 35 semanas, está associado a um melhor prognóstico neonatal, por oposição à interrupção imediata da gestação.^{22, 68} Desta forma, é possível atingir a maturidade pulmonar e dos sistemas enzimáticos hepáticos, diminuindo a necessidade de transfusões no período neonatal e as complicações associadas à prematuridade.^{23, 24, 28} O parto deverá ocorrer num centro terciário especializado, com meios de ressuscitação e assistência neonatal, de forma a maximizar as probabilidades de sobrevivência do recém-nascido.¹⁴

Prognóstico

Há algumas décadas o prognóstico da HF era precário, com uma taxa de mortalidade fetal associada entre os 50 e os 98%.²⁴ Contudo, o prognóstico tem vindo a melhorar

drasticamente nos últimos anos na sequência da introdução da profilaxia RhD, uso generalizado de ecografia com Doppler na detecção de anemia fetal, tratamento *in* útero e progressos no tratamento neonatal.^{16, 23, 25-27}

O prognóstico é influenciado pela etiologia e pela gravidade da hidrósia.^{24, 26, 78} Um prognóstico mais favorável está associado a HF de etiologia imunológica, aparecimento da hidrósia depois das 24 semanas de gestação, tratamento precoce e número de TIUs bem sucedidas. Por oposição, HFNI e trombocitopenia concomitante parecem estar associadas a um pior prognóstico.^{4, 24-26, 29, 30, 79}

Hidrósia severa está associada a uma menor probabilidade de reversão após TIU e, conseqüentemente, a uma maior taxa de mortalidade.^{4, 24, 26} Contudo, quando ocorre reversão da hidrósia, mesmo em fetos com HFI grave inicial, o prognóstico é favorável.²⁶ Por vezes, verifica-se persistência de hidrósia apesar da resolução da anemia.²⁶ O motivo pelo qual tal acontece permanece desconhecido, mas põe-se a hipótese de ser consequência de lesão endotelial irreversível⁵⁶, eventualmente provocada por radicais livres, resultantes da exposição prolongada a grandes quantidades de ferro livre, agravado pela imaturidade do sistema de defesa antioxidante.⁸⁰ Outros consideram que poderá dever-se a lesão cardíaca irreversível, com persistência da síntese local de moléculas, como o VEGF, que promovem um aumento da permeabilidade vascular a nível sistémico, apesar da correcção da anemia.⁸ Estudos adicionais são necessários neste contexto.

Desde a instituição de transfusões intrauterinas o prognóstico melhorou consideravelmente, com uma taxa de sobrevivência global actual entre os 70 e os 92%^{24, 28-30}, que pode alcançar os 98% em fetos com reversão da hidrósia após TIU, independentemente da sua gravidade.²⁶ Contudo, um aumento superior a quatro vezes do hematócrito fetal basal provocado pela TIU e uma pressão elevada na veia umbilical durante o procedimento parecem estar associados a uma sobrevivência mais precária.⁷⁶

Apesar do progresso alcançado com o tratamento *in* utero, fetos com hidrósia grave continuam a apresentar risco acrescido de parto pré-termo e de complicações associadas à

imaturidade, taxas de cesariana superiores e maior necessidade de entubação endotraqueal e de transfusões sanguíneas no período neonatal.²⁶

De salientar ainda que a HFI tem sido associada a complicações obstétricas graves, tais como pré-eclâmpsia e hemorragia pós-parto, que podem comprometer não só o prognóstico fetal mas também o materno.^{3, 8} Diagnóstico e tratamento atempados são fundamentais na prevenção dessas complicações.³

Com uma abordagem precoce correcta é expectável um desenvolvimento neuropsicológico dentro dos padrões de normalidade em 90% dos casos.^{41, 74} *Kernicterus*, sequela classicamente associada à deposição de bilirrubina não-conjugada nos tecidos cerebrais como consequência da hemólise, é, actualmente, extremamente rara⁴¹, sendo a surdez neurossensorial, resultante da exposição prolongada do VIII par craniano à bilirrubina, a sequela mais frequentemente detectada.^{74, 81} O rastreio auditivo está, assim, recomendado no período neonatal e, anualmente, até à idade pré-escolar.⁷⁵

Caso o diagnóstico não seja realizado precocemente, como consequência da anoxia cerebral prolongada, podem resultar lesões cerebrais irreversíveis, mesmo após resolução da hidrósia.⁸² Estas podem surgir também como uma complicação da TIU, por aumento da viscosidade sanguínea ou ocorrência de desacelerações prolongadas durante o procedimento, com consequente diminuição do fluxo sanguíneo cerebral.⁸² Carbonne et al.⁸² sugerem, por isso, a realização de ecografias seriadas para avaliação do Sistema Nervoso Central fetal, após realização da TIU. Caso se observe ventriculomegalia de novo, dever-se-á realizar uma ressonância magnética cerebral.⁸²

Dado o aumento significativo da sobrevivência e o desenvolvimento neurológico favorável, justifica-se o tratamento agressivo de fetos com HFI.⁷⁴

Profilaxia

Com excepção dos casos em que a hidrósia resulta de uma aloimunização RhD, não estão definidas estratégias profilácticas específicas.^{37, 39, 40, 68}

A imunoprofilaxia com imunoglobulina anti-D está indicada para todas as grávidas RhD negativo, com progenitor masculino RhD positivo e com TCI negativo em que se observe hemorragia materno-fetal abundante durante o parto ou eventos com potencial sensibilizador no período pré-natal (ameaça de abortamento após as 12 semanas de gestação, gravidez ectópica, versão cefálica externa, trauma abdominal fechado, lesão intrauterina e procedimentos invasivos, tais como biópsia das vilosidades coriônicas, amniocentese, entre outros).^{17, 37, 41} Ao evitar a ocorrência de isoimunização, impede-se a formação de anticorpos, a hemólise dos eritrócitos fetais e, conseqüentemente, o desenvolvimento de hidrôpsia. Nos últimos anos, a introdução na prática clínica da detecção do grupo sanguíneo fetal a partir do plasma materno permite identificar as gestações realmente em risco de imunização e limitar a profilaxia a estes casos, melhorando a relação custo-benefício.^{23, 30}

Mulheres fracamente positivas para RhD, em que se verifica uma diminuição quantitativa deste antígeno, não estão em risco de sofrer aloimunização, razão pela qual a imunoprofilaxia não está indicada.^{28, 41} Podem ainda ser detectadas outras variantes do fenótipo RhD, como a D parcial, em que alguns dos epítomos do antígeno D estão ausentes, tendo já sido descritos casos de HF neste âmbito.¹⁵ Por permanecer desconhecida a eficácia da imunoprofilaxia neste contexto, a administração de Ig anti-D a mulheres com fenótipo RhD parcial é ainda controversa.⁵²

No caso da isoimunização não-RhD, é mais frequente o recurso a medidas de prevenção secundária e terciária, que incluem o rastreio de anticorpos anti-eritrocitários em todas as gestações e a monitorização de gestações em risco para DHF.³³

Em alguns países, está protocolado que a transfusão de unidades de glóbulos rubros em mulheres em idade fértil deve ser sempre compatível para os antígenos com maior imunogenicidade, nomeadamente antígeno RhD, outros antígenos pertencentes ao sistema Rh e antígeno Kell, o que levou a uma diminuição significativa da aloimunização.²¹

Podem adoptar-se ainda medidas gerais, independentemente do antígeno envolvido, que visam diminuir o risco de troca sanguínea materno-fetal durante a gestação e no período perinatal, nomeadamente, evitar procedimentos invasivos, a administração abusiva de

occitocina, a dequitação manual e a massagem intrauterina e realizar amniotomia oportunamente.^{17, 39}

Conclusão

Na última década, as características epidemiológicas da HF alteraram-se, assistindo-se a uma diminuição notória da incidência de HFI por aloimunização RhD e, simultaneamente, ao aumento da importância dos anticorpos *minor* como agentes etiológicos. Estes devem, por isso, ser tidos em consideração na investigação de um feto hidróptico. Em virtude da aplicação de novas técnicas diagnósticas e de intervenção, o prognóstico da HFI melhorou drasticamente, sendo expectável, com uma abordagem atempada e adequada, a sobrevivência e o desenvolvimento neurológico favorável da quase totalidade dos fetos e recém-nascidos. Dada a relevância da actuação médica, propõem-se linhas mestras de orientação a adoptar em casos de HFI, tendo por base a pesquisa efectuada.

Agradecimentos

À Dra. Ana Reynolds pelo apoio que sempre me prestou no decorrer da realização deste trabalho.

Referências bibliográficas

- ¹ Heinonen S, Ryyänen M, Kirkinen P. *Etiology and outcome of second trimester non-immunologic fetal hydrops*. Acta Obstet Gynecol Scand. 2000;79(1):15-8.
- ² Li D-Z, Zhong H-Z, Li J, Liao C. *Hydrops fetalis caused by homozygous alpha-thalassemia and Kidd antigen alloimmunization in a Chinese woman*. Fetal Diagn Ther. 2008;24(4):331-3.
- ³ Ratanasiri T, Komwilaisak R, Sittivech A, Kleebekeaw P, Seejorn K. *Incidence, causes and pregnancy outcomes of hydrops fetalis at Srinagarind Hospital, 1996-2005: a 10-year review*. J Med Assoc Thai. 2009;92:594-9.
- ⁴ Sherif A A-F, Peter WS, Stephen GC, Phillipa MK. *Noninvasive diagnosis of anemia in hydrops fetalis with the use of middle cerebral artery Doppler velocity*. Am J Obstet Gynecol. 2001;185(6):1411-5.
- ⁵ Hackney DN, Knudtson EJ, Rossi KQ, Krugh D, O'Shaughnessy RW. *Management of Pregnancies Complicated by Anti-c Isoimmunization*. Obstet Gynecol. 2004;103(1):24-30.
- ⁶ Joshi D-D, Nickerson HJ, McManus MJ. *Hydrops Fetalis Caused by Homozygous {alpha}-Thalassemia and Rh Antigen Alloimmunization: Report of a Survivor and Literature Review*. Clin Med Res. 2004 November 1, 2004;2(4):228-32.
- ⁷ Huhta JC. *Guidelines for the Evaluation of Heart Failure in the Fetus With or Without Hydrops*. Pediatr Cardiol. 2004;25(3):274-86.
- ⁸ Brandenburg H, Bartelings MM, Wisse LJ, Steegers EAP, Gittenberger-de Groot AC. *Increased Expression of Vascular Endothelial Growth Factor in Cardiac Structures of Fetus with Hydrops as Compared to Nonhydropic Controls*. Fetal Diagn Ther. 2006(21):84-91.
- ⁹ Wu KH, Chang JG, Lin M, Shih MC, Lin HC, Lee CC, et al. *Hydrops foetalis caused by anti-Mur in first pregnancy--a case report*. Transfus Med. 2002;12:325-7.
- ¹⁰ Bullock R, Martin WL, Coomarasamy A, Kilby MD. *Prediction of fetal anemia in pregnancies with red-cell alloimmunization: comparison of middle cerebral artery peak systolic velocity and amniotic fluid OD450*. Ultrasound Obstet Gynecol. 2005;25(4):331-4.

11. Bellini C, Hennekam RCM, Fulcheri E, Rutigliani M, Morcaldi G, Boccardo F, et al. *Etiology of nonimmune hydrops fetalis: A systematic review*. Am J Med Genet A. 2009;149A(5):844-51.
12. Randenberg AL. *Nonimmune Hydrops Fetalis Part I: Etiology and Pathophysiology*. Neonatal Netw. 2010;29(5):281-95.
13. Sohan K, Carroll SG, De La Fuente S, Soothill P, Kyle P. *Analysis of outcome in hydrops fetalis in relation to gestational age at diagnosis, cause and treatment*. Acta Obstet Gynecol Scand. 2001;80(8):726-30.
14. Trainor B, Tubman R. *The emerging pattern of hydrops fetalis-incidence, aetiology and management*. Transfus Med. 2006;75:185-6.
15. Cannon M, Pierce R, Taber EB, Schucker J. *Fatal Hydrops Fetalis Caused by Anti-D in a Mother With Partial D*. Obstet Gynecol. 2003;102(5, Part 2):1143-5.
16. Wu KH, Chu SL, Chang JG, Shih MC, Peng CT. *Haemolytic disease of the newborn due to maternal irregular antibodies in the Chinese population in Taiwan*. Transfus Med. 2003;13(5):311-4.
17. Moise KJ. *Non-anti-D antibodies in red-cell alloimmunization*. Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol. 2000;92(1):75-81.
18. Spong CY, Porter AE, Queenan JT *Management of isoimmunization in the presence of multiple maternal antibodies*. Am J Obstet Gynecol. 2001;185(2):481-4.
19. Narang A, Jain N. *Haemolytic disease of newborn*. Indian J Pediatr. 2001;68(2):167-72.
20. Aref K, Boctor FN, Pande S, Uehlinger J, Manning F, Eglowstein M, et al. *Successful Perinatal Management of hydrops fetalis due to hemolytic disease associated with D-- Maternal Phenotype*. J Perinatol. 2002(22):667-8.
21. Geifman-Holtzman O, Wojtowycz M, Kosmas E, Artal R. *Female Alloimmunization With Antibodies Known to Cause Hemolytic Disease*. Obstet Gynecol. 1997;89(2):272-5.
22. Seo MW, Won H-S, Kim S-K, Shim J-Y, Kwon S-W, Lee PR, et al. *Successful treatment of fetal erythroblastosis due to anti-M alloimmunization with fetal intravascular transfusion*. Prenat Diagn. 2007;27(4):385-7.

23. Illanes S, Soothill P. *Management of red cell alloimmunisation in pregnancy: the non-invasive monitoring of the disease*. Prenat Diagn. 2010;30(7):668-73.
24. Mesogitis S, Daskalakis G, Pilalis A, Papantoniou N, Antsaklis A. *Fetal intravascular transfusion for hydropic disease due to rhesus isoimmunization*. Fetal Diagn Ther. 2005;20:431-6.
25. Parker LA. *Hydrops Fetalis*. Newborn Infant Nurs Rev. 2006;6(3):e1-e8.
26. van Kamp IL, Klumper FJ, Bakkum RS, Oepkes D, Meerman RH, Scherjon SA, et al. *The severity of immune fetal hydrops is predictive of fetal outcome after intrauterine treatment*. Am J Obstet Gynecol. 2001;185(3):668-73.
27. Smits-Wintjens VE, Walther FJ, Lopriore E. *Rhesus haemolytic disease of the newborn: Postnatal management, associated morbidity and long-term outcome*. Semin Fetal Neonatal Med. 2008;13(4):265-71.
28. Moise KJ Jr. *Management of Rhesus Alloimmunization in Pregnancy*. Obstet Gynecol. 2002;100(3):600-11.
29. Farina A, Calderoni P, Simonazzi G, Carinci P, Rizzo N. *Survival analysis of transfused fetuses affected by Rh-alloimmunization*. Prenat Diagn. 2000;20(11):881-5.
30. Chan LW, Lau TK, Chung TK. *Fetal anaemia as a cause of fetal injury: diagnosis and management*. Curr Opin Obstet Gynecol. 2006;18(2):100-5
31. Kamphuis MM, Lindenburg I, Van Kamp IL, Meerman RH, Kanhai HH, Oepkes D. *Implementation of routine screening for Kell antibodies: does it improve perinatal survival?* Transfusion. 2008;48(5):953-7.
32. Schonewille H, Van De Watering LM, Loomans DS, Brand A. *Red blood cell alloantibodies after transfusion: factors influencing incidence and specificity*. Transfusion. 2006;46(2):250-6.
33. Koelewijn JM, Vrijkotte TG, de Haas M, van der Schoot CE, Bonsel GJ. *Risk factors for the presence of non-rhesus D red blood cell antibodies in pregnancy*. BJOG. 2009;116(5):655-64.
34. Ziprin JH, Payne E, Hamidi L, Roberts I, Regan F. *ABO incompatibility due to immunoglobulin G anti-B antibodies presenting with severe fetal anaemia*. Transfus Med. 2005;15(1):57-60.

- ³⁵. McDonnell M, Hannam S, Devane SP. *Hydrops fetalis due to ABO incompatibility*. Arch Dis Child Fetal Neonatal. 1998 May 1, 1998;78(3):F220-F1.
- ³⁶. Mohd JT, Yeo GS. *Management of foetal hydrops secondary to Kell isoimmunisation via foetal blood transfusion: a Doppler-guided approach*. Singapore Med J. 2009;50(4):e143-e6.
- ³⁷. Gottvall T, Filbey D. *Alloimmunization in pregnancy during the years 1992-2005 in the central west region of Sweden*. Cochrane Database Syst Rev. 2008;87:843-8.
- ³⁸. Wikman A, Edner A, Gryfelt G, Jonsson B, Henter J-I. *Fetal hemolytic anemia and intrauterine death caused by anti-M immunization*. Transfusion. 2007;47(5):911-7.
- ³⁹. Lobo GA, Nardoza LM, Camano L. *Non-anti-D antibodies in red-cell alloimmunization*. Int J Gynaecol Obstet. 2006;94(2):139-40.
- ⁴⁰. Baiocchi E, Nardoza LM. *Alloimmunization*. Rev Bras Ginecol Obstet. 2009;31:311-9.
- ⁴¹. Kumar S, Regan F. *Management of pregnancies with RhD alloimmunisation*. BMJ. 2005 May 28, 2005;330(7502):1255-8.
- ⁴². Koelewijn JM, de Haas M, Vrijkotte TG, van der Schoot CE, Bonsel GJ. *Risk factors for RhD immunisation despite antenatal and postnatal anti-D prophylaxis*. BJOG 2009;116(10):1307-14.
- ⁴³. Baiocchi E, Camano L, Bardim JO. *Evaluation of fetomaternal hemorrhage in postpartum patients with indication for administration of anti-D immunoglobulin*. Cad. Saúde Pública. 2005;21(5):1357-65.
- ⁴⁴. Engelfriet CP, Judd WJ, Ulander VM, Kuosmanen M, Koskinen S, et al. *Current status of immunoprophylaxis with anti-D immunoglobulin*. Vox Sang. 2003;85:328:37.
- ⁴⁵. Gündüz E, Akay OM, Teke HU, Gülbaş Z. *Incidence of red-cell alloimmunization due to non-anti-D antibodies during pregnancy: An experience from Turkey*. Transfus Apher Sci. 2010;43(3):261-3.
- ⁴⁶. van der Schoot EC, Tax MG, Rijinders RJ, de Haas M, Christiaens GC. *Prenatal typing of Rh and kell blood group system antigens: The edge of a watershed*. Transfus Med Rev. 2003;17(1):31-44.

47. Michalewska B, Wielgos M, Zupanska B, Bartkowiak R. *Anti-Coa implicated in severe haemolytic disease of the foetus and newborn*. *Transfus Med*. 2008;18(1):71-3.
48. Lobato G, Soncini CS. *Fetal hydrops and other variables associated with the fetal hematocrit decrease after the first intrauterine transfusion for red cell alloimmunization*. *Fetal Diagn Ther*. 2008;24:349-52.
49. Ishihara Y, Miyata S, Chiba Y, Kawai T. *Successful treatment of extremely severe fetal anemia due to anti-Jra alloimmunization*. *Fetal Diagn Ther*. 2007;21(3):269-71.
50. Kollamparambil TG, Jani BR, Aldouri M, Soe A, Ducker DA. *Anti-Cw alloimmunization presenting as hydrops fetalis*. *Acta Paediatr*. 2005;94(4):499-501.
51. Dodd JM, Windrim RC, van Kamp IL. *Techniques of intrauterine fetal transfusion for women with red-cell isoimmunisation for improving health outcomes*. *Cochrane Database Syst Rev*. 2010 Jun 16;(6):CD007096.
52. Eder AF. *Update on HDFN: new information on long-standing controversies*. *Immunohematology*. 2006;22(4):188-95.
53. Hadley AG. *Laboratory assays for predicting the severity of haemolytic disease of the fetus and newborn*. *Transpl Immunol*. 2002;10(2-3):191-8.
54. Roberts AB, Mitchell JM, Lake Y, Pattison N S *Ultrasonographic surveillance in red blood cell alloimmunization*. *Am J Obstet Gynecol*. 2001;184(6):1251-5.
55. Bendon RW. *Review of Some Causes of Stillbirth*. *Pediatr Dev Pathol*. 2001;4(6):517-31.
56. De Groot CJ, Oepkes D, Egberts J, Kanhai HH. *Evidence of endothelium involvement in the pathophysiology of hydrops fetalis?* *Early Hum Dev*. 2000;57(3):205-9.
57. Pasmán SA, Meerman RH, Vandenbussche FP, Oepkes D. *Hypoalbuminemia: A cause of fetal hydrops?* *Am J Obstet Gynecol*. 2006;194(4):972-5.
58. Craparo F J, Bonati F, Gementi P, Nicolini U. *The effects of serial intravascular transfusions in ascitic/hydrotic RhD-alloimmunized fetuses*. *Ultrasound Obstet Gynecol*. 2005;25(2):144-8.
59. Avent ND, Liu W, Scott ML, Jones JW, Voak D. *Site directed mutagenesis of the human Rh D antigen: molecular basis of D epitopes*. *Vox Sang*. 2000;78(suppl 2):83-9.

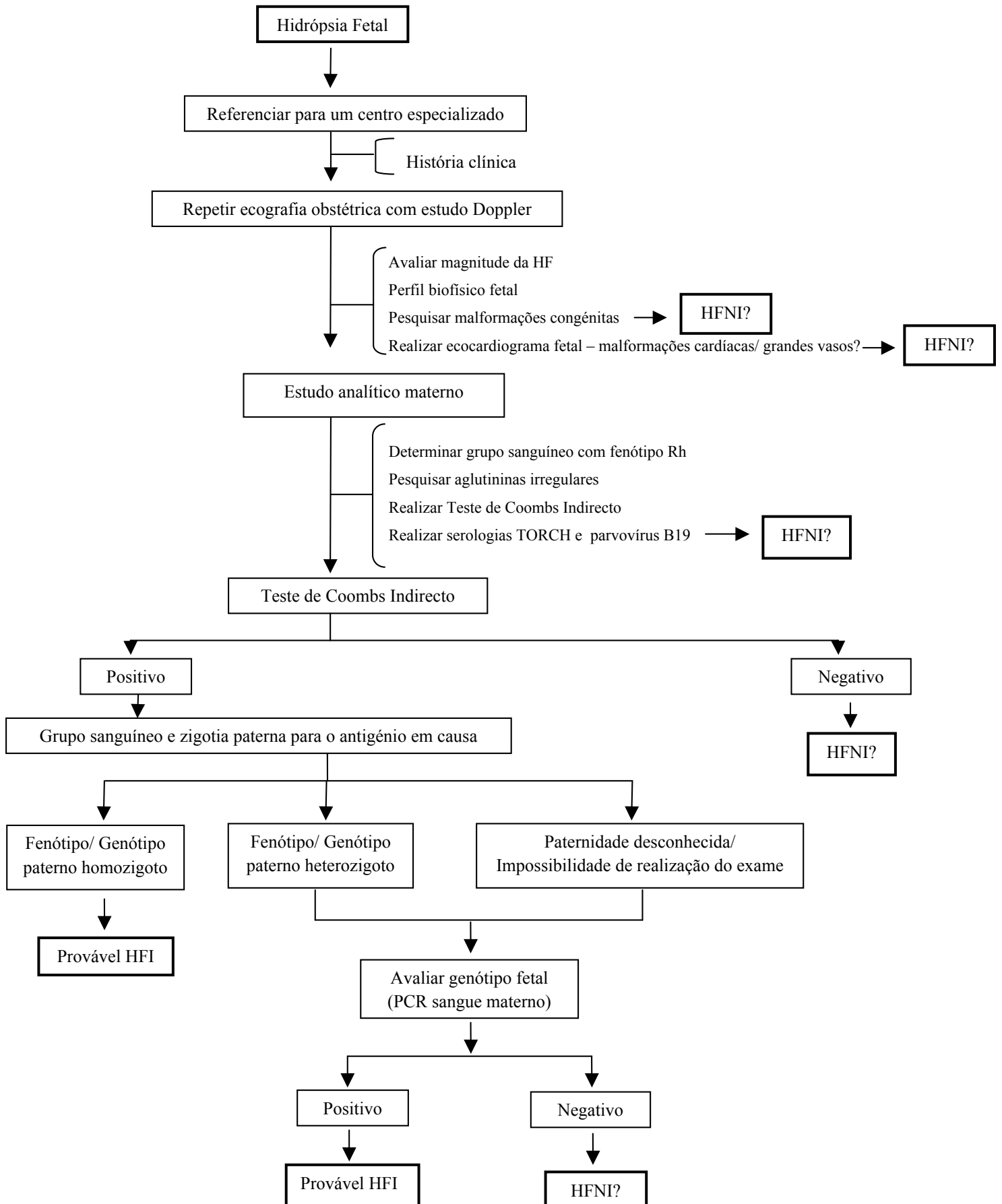
- ⁶⁰. Hadley AG. *Laboratory assays for predicting the severity of haemolytic disease of the fetus and newborn*. *Transpl Immunol*. 2002;10(2-3):191-8.
- ⁶¹. Ulm B, Svolba G, Ulm MR, Bernaschek G, Panzer S. *Male fetuses are particularly affected by maternal alloimmunization to D antigen*. *Transfusion*. 1999;39(2):169-73.
- ⁶². Whitecar PW, Moise K J, Jr. *Sonographic Methods to Detect Fetal Anemia in Red Blood Cell Alloimmunization*. *Obstet Gynecol Surv*. 2000;55(4):240-50.
- ⁶³. Moran P, Robson SC, Reid MM. *Anti-E in pregnancy*. *BJOG*. 2000;107(11):1436-8.
- ⁶⁴. Koelewijn JM, van der Schoot VC, Bonsel GJ, de Haas M. *Effect of Screening for Red Cell Antibodies, Other Than Anti-D, to Detect Hemolytic Disease of the Fetus and Newborn: A Population Study in The Netherlands*. *Transfusion*. 2008;63(9):563-4
- ⁶⁵. Palfi M, Hildén J-O, Matthiesen L, Selbing A, Berlin G. *A case of severe Rh (D) alloimmunization treated by intensive plasma exchange and high-dose intravenous immunoglobulin*. *Transfus Apher Sci*. 2006;35(2):131-6.
- ⁶⁶. Müller SP, Bartels I, Stein W, Emons G, Gutensohn K, Köhler M, et al. *The determination of the fetal D status from maternal plasma for decision making on Rh prophylaxis is feasible*. *Transfusion*. 2008;48(11):2292-301.
- ⁶⁷. Mari G, Deter RL, Carpenter RL, Rahman F, Zimmerman R, Moise K J, et al. *Noninvasive Diagnosis by Doppler Ultrasonography of Fetal Anemia Due to Maternal Red-Cell Alloimmunization*. *N Engl J Med*. 2000;342(1):9-14.
- ⁶⁸. Zimmermann R, Durig P, Carpenter RJ, Mari G. *Longitudinal measurement of peak systolic velocity in the fetal middle cerebral artery for monitoring pregnancies complicated by red cell alloimmunisation: a prospective multicentre trial with intention-to-treat*. *BJOG*. 2002;109(7):746-52.
- ⁶⁹. Pereira L, Jenkins TM, Berghella V. *Conventional management of maternal red cell alloimmunization compared with management by Doppler assessment of middle cerebral artery peak systolic velocity*. *Am J Obstet Gynecol*. 2003;189(4):1002-6.

- ^{70.} Lynn KM, Herman LH, Jan ML, Hanns CH. *A retrospective review of isoimmunized pregnancies managed by middle cerebral artery peak systolic velocity.* Am J Obstet Gynecol. 2004;190(6):1732-6.
- ^{71.} Sau A, El-Matary A, Newton LY, Wickramarachchi DC. *Management of red cell alloimmunized pregnancies using conventional methods compared with that of middle cerebral artery peak systolic velocity.* Acta Obstet Gynecol Scand. 2009;88(4):475-8.
- ^{72.} Scheier M, Hernandez-Andrade E, Fonseca EB, Nicolaides KH. *Prediction of severe fetal anemia in red blood cell alloimmunization after previous intrauterine transfusions.* Am J Obstet Gynecol. 2006;195(6):1550-6.
- ^{73.} Manning FA, Harman CR, Menticoglou SM, Bowman JM. *Intrauterine transfusion-intraperitoneal versus intravascular approach: a case-control comparison.* Am J Obstet Gynecol. 1990;162(4):126-37.
- ^{74.} Harper DC, Swingle HM, Weiner CP, Bonthius DJ, Aylward GP, Widness JA. *Long-term neurodevelopmental outcome and brain volume after treatment for hydrops fetalis by in utero intravascular transfusion.* Am J Obstet Gynecol. 2006;195(1):192-200.
- ^{75.} Moise KJ Jr. *Management of Rhesus Alloimmunization in Pregnancy.* Obstet Gynecol. 2008;112(1):164-76
- ^{76.} Radunovic N, Lockwood CJ, Alvarez M, Plecas D, Chitkara U, Berkowitz RL. *The Severely Anemic and Hydropic Isoimmune Fetus: Changes in Fetal Hematocrit Associated With Intrauterine Death.* Obstet Gynecol. 1992;79(3):390-3.
- ^{77.} Fox C, Martin W, Somerset DA, Thompson PJ, Kilby MD. *Early intraperitoneal transfusion and adjuvant maternal immunoglobulin therapy in the treatment of severe red cell alloimmunization prior to fetal intravascular transfusion.* Fetal Diagn Ther. 2007;23:159-63.
- ^{78.} Abrams ME, Meredith KS, Kinnard P, Clark RH. *Hydrops Fetalis: A Retrospective Review of Cases Reported to a Large National Database and Identification of Risk Factors Associated With Death.* Pediatrics. 2007 July 1, 2007;120(1):84-9.

- ^{79.} van den Akker ES, de Haan TR, Lopriore E, Brand A, Kanhai HH, Oepkes D. *Severe fetal thrombocytopenia in Rhesus D alloimmunized pregnancies.* Am J Obstet Gynecol. 2008;199(4):387.e1-.e4.
- ^{80.} Luykx LM, Berger HM, Geerdink J, Kanhai HH, Egberts J. *Non-protein-bound iron and free radical damage in fetuses with rhesus haemolytic disease: influence of intrauterine transfusions.* BJOG. 2004;111(4):303-10.
- ^{81.} Hudon L, Moise KJ, Hegemier SE, Hill RM, Moise AA, Smith EO, et al. *Long-term neurodevelopmental outcome after intrauterine transfusion for the treatment of fetal hemolytic disease.* Am J Obstet Gynecol. 1998;179(4):858-63.
- ^{82.} Carbonne B, Nguyen A, Cynober E, Castaigne V, Cortey A, Brossard Y. *Prenatal diagnosis of anoxic cerebral lesions caused by profound fetal anemia secondary to maternal red blood cell alloimmunization.* Obstet Gynecol. 2008;112:442-4.

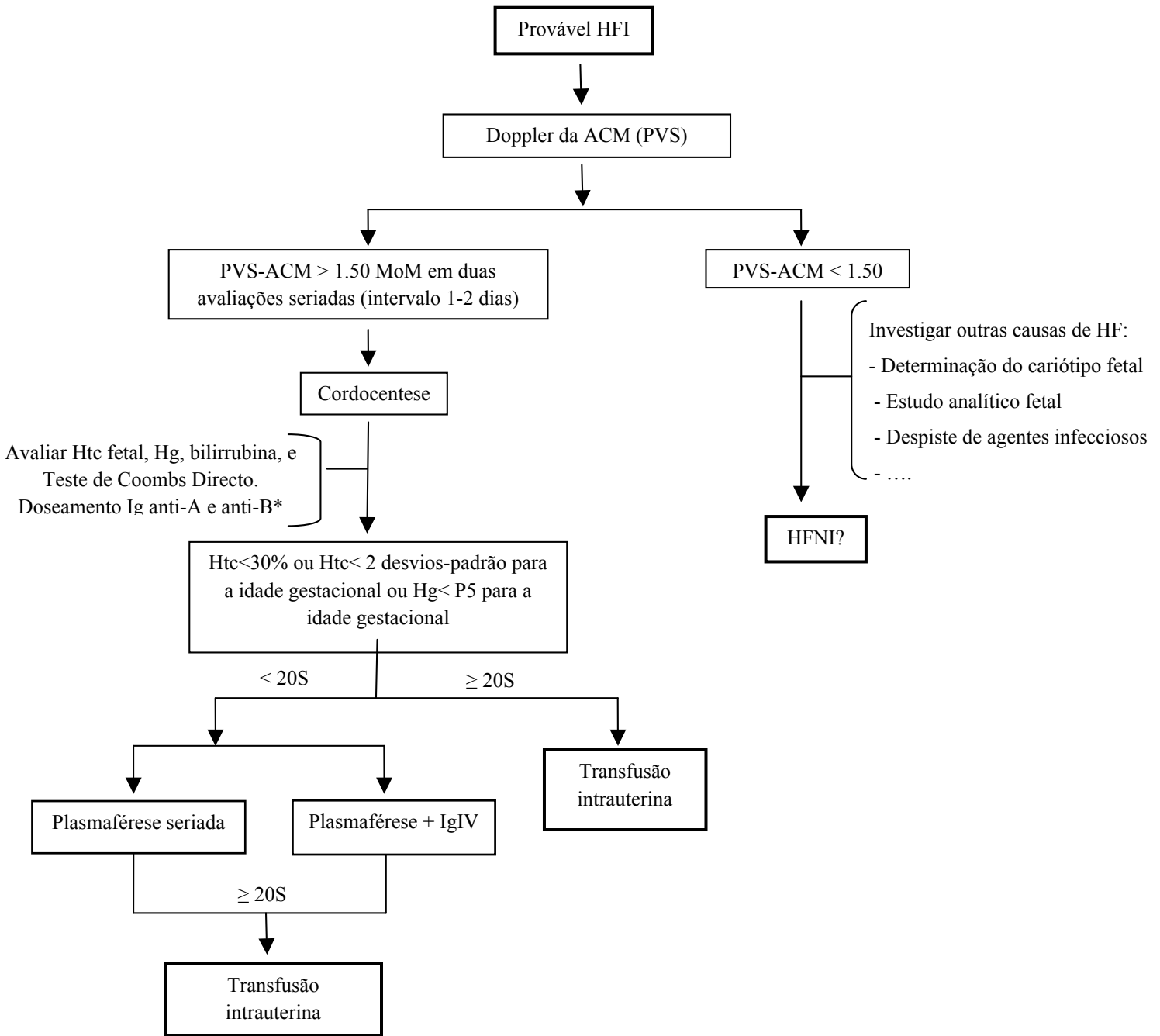
Anexos

Figura 1 – Abordagem diagnóstica de um feto hidróptico.



Legenda: HF – Hidrópsia Fetal; TORCH: Toxoplasma Gondii, vírus da Rubéola, Citomegalovírus e Herpes Simplex vírus; HFI – Hidrópsia Fetal Imune; HFNI – Hidrópsia Fetal Não-Imunológica.

Figura 2 – Abordagem diagnóstica e terapêutica em casos de HF.



Legenda: * Apenas nos casos em que a gestante tenha grupo sanguíneo O e o progenitor masculino A, B ou AB. HFI- Hidrósia fetal Imune; MoM - Múltiplos da Mediana; PVS-ACM – Pico de Velocidade sistólica (PVS) da artéria cerebral média (ACM); Htc – hematócrito; Hg – Hemoglobina; P5 – Percentil 5; S- Semanas de gestação; HFNI – Hidrósia Fetal Não-Imunológica.

ACTA OBSTETRICA E GINECOLOGICA PORTUGUESA

Órgão oficial da Federação das Sociedades Portuguesas de Obstetrícia e Ginecologia
Official journal of the Federation of Portuguese Societies of Obstetrics and Gynecology

REGRAS PARA SUBMISSÃO DE ARTIGOS

REGRAS GERAIS

1. Os artigos deverão ser **submetidos exclusivamente** à Acta Obstétrica e Ginecológica Portuguesa, não podendo estar a ser simultaneamente considerados para publicação noutra revista. Serão considerados para publicação artigos que foram previamente rejeitados noutras revistas e os autores são livres de submeter os artigos não aceites por esta revista a outras publicações.
2. Todos os artigos são submetidos à revista por iniciativa dos seus autores, excepto os artigos de revisão que poderão também ser elaborados a convite dos Editores.
3. Os dados constantes do artigo não podem ter sido previamente publicados, total ou parcialmente, noutras revistas. Deste âmbito, exclui-se a publicação sob forma de resumo em actas de reuniões científicas.
4. Os autores poderão no prazo de 3 meses re-submeter uma única vez os artigos rejeitados pela revista, os quais serão encarados como novas submissões.
5. Os **requisitos para autoria** de artigos nesta revista estão em consonância com os *Uniform Requirements for Manuscripts Submitted to Biomedical Journals*, disponível em www.icmje.org/icmje.pdf.
6. Os autores são responsáveis pela verificação cuidadosa dos textos na primeira submissão, bem como nas eventuais versões modificadas e nas provas finais do artigo.

SUBMISSÃO ONLINE DE ARTIGOS

1. Os artigos são submetidos exclusivamente na página de submissões da revista em www.editorialmanager.com/aogp.
2. A revista aceita cinco tipos diferentes de artigos:
 - ESTUDO ORIGINAL
 - ARTIGO DE REVISÃO
 - CASO CLÍNICO
 - ARTIGO DE OPINIÃO
 - CARTA AO EDITOR
3. Todos os artigos necessitam de um **título em Inglês** que não pode exceder 150 caracteres incluindo espaços.
4. A **lista de autores** deve incluir o **primeiro** e **último(s) nome(s)** de cada um, juntamente com as funções académicas e hospitalares actuais. Para os artigos de revisão, artigos de opinião e casos clínicos não se aceitam mais do que **5** autores. Para os estudos originais são aceites até **8** autores, podendo este número ser excedido em estudos corporativos que envolvam mais de dois centros. Um dos autores é designado "responsável pela correspondência" e os seus contactos devem ser fornecidos na página de submissões da revista.
5. Os estudos originais, artigos de revisão, artigos de opinião e casos clínicos necessitam de incluir um **resumo em inglês** que não pode exceder 300 palavras. Este texto não pode incluir qualquer referência aos autores ou à instituição onde o estudo foi realizado. A estrutura é diferente de acordo com o tipo de artigo:
 - **ESTUDO ORIGINAL** – parágrafos com os títulos **Overview and Aims, Study Design, Population, Methods, Results, and Conclusions**.
 - **OUTROS** – estrutura livre.
6. Os estudos originais, artigos de revisão, artigos de opinião e casos clínicos necessitam de incluir 1 a 5 **palavras-chave**, segundo a terminologia MeSH (www.nlm.nih.gov/mesh/meshhome.html).
7. Todos os artigos necessitam de um **título em Português** que não pode exceder 150 caracteres incluindo espaços.
8. É necessário indicar o nome e localização da(s) **instituição(ões)** onde a investigação teve lugar.
9. É da responsabilidade dos autores informar os Editores de possíveis **conflitos de interesse** relacionados com a publicação, bem como de publicações anteriores dos dados.

INFORMATION FOR AUTHORS

GENERAL RULES FOR SUBMITTING ARTICLES

1. Manuscripts should be **submitted exclusively** to Acta Obstetrica e Ginecologica Portuguesa, and may not be under simultaneous consideration for publication in other journals. Manuscripts that have been previously rejected by other journals will be considered for publication, and authors are free to submit those that have been rejected by this journal elsewhere.
2. All manuscripts are submitted to the journal on the authors' initiative, except for revision articles that may also be submitted on invitation from the Editors.
3. Data presented in the manuscript must not have been previously published, in whole or in part, in another journal. This does not include publications in the form of abstract in proceedings of scientific meetings.
4. Authors may re-submit a rejected article once, within 3 months of the decision. Re-submitted articles will be considered as new submissions.
5. **Requirements for authorship** of manuscripts in this journal are in accordance with *Uniform Requirements for Manuscripts Submitted to Biomedical Journals*, available at www.icmje.org/icmje.pdf.
6. Authors are responsible for carefully checking their texts before first submission, as well as with subsequent revised versions, and in the final proofs of the manuscript.

ONLINE SUBMISSION OF ARTICLES

1. Articles are submitted exclusively at the journal submission site: www.editorialmanager.com/aogp.
2. The journal accepts five different types of articles:
 - ORIGINAL STUDY
 - REVIEW ARTICLE
 - CASE REPORT
 - OPINION ARTICLE
 - LETTER TO THE EDITOR
3. All articles must contain a **title in English**, which should not exceed 150 characters in length, including spaces.
4. The **list of authors** should include their first and last name(s), together with current academic and hospital positions. No more than **5** authors are accepted for review articles, opinion articles and for case reports. For original studies up to **8** authors will be accepted, and this number may be exceeded in corporate studies involving more than two centres. One of the authors will be designated as "responsible for correspondence" and his/her contact information should be made available at the journal submission site.
5. Original studies, review articles, opinion articles and case reports must include an **abstract in English**, which should not exceed 300 words. The text must not include any reference to the authors or to the institution where research took place. The structure of the abstract varies according to the article type:
 - **ORIGINAL STUDY** – paragraphs with the headings **Overview and Aims, Study Design, Population, Methods, Results, and Conclusions**.
 - **OTHERS** – free structure.
6. Original studies, review articles, opinion articles and case reports must include 1-5 **keywords**, according to MeSH terminology (www.nlm.nih.gov/mesh/meshhome.html).
7. All articles must include a **title in Portuguese**, which cannot exceed 150 characters in length, including spaces.
8. The names and locations of the **institution(s)** where research was conducted must be supplied.
9. It is the responsibility of authors to inform the Editors about potential **conflicts of interest** related with the publication, as well as about previous reports of the same data.

PREPARAÇÃO DO TEXTO, TABELAS E FIGURAS

1. Os ficheiros submetidos com o texto principal do artigo, tabelas e figuras não devem ter qualquer referência aos autores ou à(s) instituição(ões) onde a investigação foi realizada.

2. Todos os textos submetidos devem ter **duplo espaço entre linhas**, usando a fonte **Times New Roman** de **11 pontos**.

3. O **texto principal do artigo** tem estrutura e dimensão máxima (excluindo referências) de acordo com o tipo de artigo:

- **ESTUDO ORIGINAL** – secções divididas com os títulos: **Introdução, Métodos, Resultados e Discussão**; dimensão máxima **3000** palavras.
- **ARTIGO DE REVISÃO** – estrutura livre; dimensão máxima **5000** palavras.
- **ARTIGO DE OPINIÃO** – estrutura livre; dimensão máxima **1500** palavras.
- **CASO CLÍNICO** – secções divididas com os títulos **Introdução, Caso Clínico e Discussão**; dimensão máxima **1500** palavras.

4. As investigações que envolvem seres humanos ou animais devem incluir no texto uma declaração relativa à existência de aprovação prévia por uma **Comissão de Ética** apropriada. Com seres humanos é ainda necessário incluir uma declaração relativa à solicitação de **consentimento informado** dos participantes.

5. As **abreviaturas** devem ser empregues com moderação e definidas por extenso aquando da primeira utilização, tanto no resumo como no texto principal do artigo.

6. Devem ser sempre utilizados os nomes genéricos dos **medicamentos**, excepto quando o nome comercial é particularmente relevante. Neste caso, devem ser acompanhados do símbolo ®.

7. Os **equipamentos** técnicos, **produtos** químicos ou farmacêuticos citados no texto devem ser seguidos entre parentesis do nome do fabricante, cidade e país onde são comercializados.

8. No final do texto principal os autores podem incluir os **agradecimentos** que queiram ver expressos no artigo.

9. As **referências** deverão ser numeradas consecutivamente na ordem em que são mencionadas no texto, tabelas ou legendas de figuras, usando números arábicos em sobrescrito; exemplo ^{1,2,3}. Os artigos aceites para publicação mas ainda não publicados podem ser incluídos na lista de referências no formato habitual, usando o nome da revista seguido da expressão *in press*. As comunicações pessoais, abstracts em livros de resumos de congressos, páginas web e artigos ainda não aceites não podem ser incluídos na lista de referências.

- **ESTUDO ORIGINAL** – máximo de 50 referências.
- **ARTIGO DE REVISÃO** – máximo de 125 referências.
- **ARTIGO DE OPINIÃO** – máximo de 20 referências.
- **CASO CLÍNICO** – máximo de 20 referências.

10. A **lista des referências** deve seguir as normas do *Uniform Requirements for Manuscripts Submitted to Biomedical Journals* www.icmje.org/icmje.pdf. Os títulos das revistas são abreviados de acordo com a lista da National Library of Medicine, disponível em <http://nmlpubs.nlm.nih.gov/online/journals/lijweb.pdf>.

Exemplo de artigos publicados em revistas:

Grant JM. The whole duty of obstetricians. *BJOG* 1997;104:387-92.

Exemplo de Capítulos de livros:

Goldenberg RL, Nelson KG. Cerebral Palsy. In: *Maternal-Fetal Medicine* (4th Edition). Creasy RK, Resnik R (eds). WB Saunders;1999:1194-214.

11. Os **quadros** são submetidos em formato digital, separadamente do texto principal. Devem ser numerados sequencialmente em numeração romana (I, II, III, IV etc.) e não apresentar linhas verticais internas; as únicas linhas horizontais a incluir são na margem superior e inferior do quadro e após os títulos das colunas. Os dados contidos nos quadros e nas legendas devem ser concisos e não devem duplicar a informação do texto. As **legendas dos quadros** devem ser submetidas nos mesmos ficheiros dos quadros.

12. As **figuras** devem ser numeradas sequencialmente na ordem que aparecem no texto, usando numeração arábica (1, 2, 3, etc.) e submetidas em formato digital, em ficheiros separados do texto principal e dos quadros. Podem ser submetidas figuras a preto e branco ou a cores. As **legendas das figuras** devem ser submetidas dentro do texto principal, numa página separada, após as referências.

13. Após aceitação de um artigo, mas antes da sua publicação, os autores deverão enviar por email à revista o **Formulário de Garantia dos Autores**, disponível em www.aogp.com.pt/authors_form.pdf, assinado por todos.

CARTAS AO EDITOR

1. As cartas ao Editor referem-se em principio a artigos publicados nos últimos dois números da revista, mas poderão ocasionalmente também ser publicadas cartas sobre outros temas de especial interesse. Se for considerado relevante o Editor Chefe solicitará uma **resposta** dos autores do artigo original.

2. As cartas ao Editor e as respostas dos autores não devem exceder **750 palavras** nem **5 referências**.

PREPARATION OF THE MANUSCRIPT, TABLES AND FIGURES

1. Uploaded files containing the main manuscript, tables and figures must not contain any reference to the authors or to the institution(s) where research was conducted.

2. All texts should be submitted **double spaced**, using an **11-point Times New Roman** font.

3. The structure and maximum dimensions (excluding references) of the **main manuscript** vary according to the type of article:

- **ORIGINAL STUDY** – separate sections with headings: **Introduction, Methods, Results and Discussion**; limit of **3000** words.
- **REVIEW ARTICLE** – free structure; limit of **5000** words.
- **OPINION ARTICLE** – free structure; limit of **1500** words.
- **CASE REPORT** – separate sections with headings: **Introduction, Case Report and Discussion**; limit of **1500** words.

4. All research involving human subjects or animals should contain a statement in the text regarding the existence of prior approval by an appropriate **Ethics Committee**. With human subjects it is also necessary to include a statement concerning the request of **informed consent** from participants.

5. **Abbreviations** should be used sparingly and written in full extent at first usage, both in the article's abstract and in the full body of the text.

6. **Drugs** should always be referred to by their generic names, except when the trade name is of particular relevance. In this case they should be accompanied by the symbol®.

7. Technical **equipments**, chemical or pharmaceutical **products** cited in the text should be followed in brackets by the name of the manufacturer, city and country where they are commercialised.

8. At the end of the main text, authors may include the **acknowledgments** that they would like published in the article.

9. **References** should be numbered consecutively in the order that they are first mentioned in the text, tables or figure legends, using arabic numbers in superscript; i.e ^{1,2,3}. Papers accepted for publication but not yet published may be cited in the reference list in the usual format, using the journal name followed by the words *in press*. Personal communications, abstracts published in congress proceedings, web pages, and articles submitted for publication but still under evaluation may not be cited as references.

- **ORIGINAL STUDY** – maximum of 50 references.
- **REVIEW ARTICLE** – maximum of 125 references.
- **OPINION ARTICLE** – maximum of 20 references.
- **CASE REPORT** – maximum of 20 references.

10. The **reference list** should follow the guidelines of the *Uniform Requirements for Manuscripts Submitted to Biomedical Journals* www.icmje.org/icmje.pdf. Journal titles should be abbreviated according to the National Library of Medicine list, available at <http://nmlpubs.nlm.nih.gov/online/journals/lijweb.pdf>.

Example of articles published in scientific journals:

Grant JM. The whole duty of obstetricians. *BJOG* 1997;104:387-92.

Example of Book chapters:

Goldenberg RL, Nelson KG. Cerebral Palsy. In: *Maternal-Fetal Medicine* (4th Edition). Creasy RK, Resnik R (eds). WB Saunders;1999:1194-214.

11. **Tables** are to be submitted in digital format, separately from the main manuscript. They should be numbered sequentially with roman numerals (I, II, III, IV etc.) and must not display internal vertical lines; the only horizontal lines that should appear are above and below the table, and following the column headings. Data contained in the tables should be concise and must not duplicate the information given in the text. **Table legends** should be submitted in the same files as the tables.

12. **Figures** should be numbered sequentially in the order that they appear in the text, using arabic numerals (1, 2, 3, etc.) and submitted in digital format, in separate files from those of the main manuscript and tables. Both black-and-white and colour figures may be submitted. **Figure legends** should be submitted within the main manuscript file, on a separate page, following the references.

13. After acceptance of an article, but before its publication, the authors must send to the journal by email the **Authors' Guarantee Form**, available at www.aogp.com.pt/authors_form.pdf, signed by all.

LETTERS TO THE EDITOR

1. Letters to the Editor usually refer to articles published in the last two issues of the journal, but those addressing other themes of special interest may occasionally be published. If considered relevant, the Editor-in-Chief will ask for a **reply** from the authors of the original article.

2. Letters to the Editor and replies from the authors should not exceed **750 words** nor **5 references**.

