

ANÁLISE CITOGENÉTICA EM MATERIAL DE ABORTAMENTO ESPONTÂNEO

DANIEL LORBER ROLNIK^{1*}, MÁRIO HENRIQUE BURLACCHINI DE CARVALHO², ANA LÚCIA PEREIRA MONTEIRO CATELANI³, ANA PAULA ALMEIDA ROCHA PINTO⁴, JULIANA BRANCO GONÇALVES LIRA⁵, NEUSA KIYOMI KUSAGARI⁵, PAULA BELLINI³, MARIA DE LOURDES CHAUFFAILLE⁵

Trabalho realizado no Grupo Fleury Medicina & Saúde, São Paulo, SP

RESUMO

OBJETIVO. Descrever as anormalidades cromossômicas em material de abortamento espontâneo.

MÉTODOS. Realizou-se compilação retrospectiva da análise de cariótipo em lâmina corada com Banda G por microscopia óptica e em material de 428 produtos de abortamento encaminhados para estudo.

RESULTADOS. Foram observados 145 resultados normais (33,9%) e 237 resultados anormais (55,4%). Em 46 amostras não houve crescimento celular (10,7%). As anormalidades numéricas foram as mais frequentes, destacando-se a trissomia do 16 (41 casos), a triploidia (27 casos), a monossomia do X (26 casos), a tetraploidia (13 casos) e a trissomia do 15 (13 casos).

CONCLUSÃO. As alterações citogenéticas representam importante causa de perdas gestacionais e sua detecção auxilia o aconselhamento genético do casal. A trissomia do cromossomo 16 é a alteração mais frequentemente encontrada.

UNITERMOS: Análise citogenética. Abortamento espontâneo.

*Correspondência:

Rua Cincinato Braga, 282 -
Bela Vista
São Paulo – SP
CEP: 01333-910

INTRODUÇÃO

Abortamento é a interrupção espontânea ou induzida da gestação até 20 semanas completas. Os abortamentos ocorrem em cerca de 15% das gestações diagnosticadas¹ e, apesar de constituírem eventos comuns, a maioria das mulheres que têm um abortamento dá à luz criança saudável posteriormente.

A probabilidade de um casal ter duas perdas consecutivas é da ordem de 2,2 a 4%. Dentre as principais causas de abortamento, encontram-se as anomalias cromossômicas (numéricas ou estruturais)^{2, 3}, representadas principalmente pelas trissomias, pelas poliploidias e pela monossomia do cromossomo sexual X.

A maioria das perdas gestacionais ocorre no primeiro trimestre, geralmente entre oito e 12 semanas, e metade delas é decorrente de anormalidades cromossômicas⁴. Por outro lado, aproximadamente 99% das gestações com anormalidades cromossômicas evoluem para abortamento⁵. Alguns sinais ultrassonográficos, como irregularidades do saco gestacional, restrição precoce do crescimento embrionário, diâmetro aumentado da vesícula vitelínica (maior do que 8 mm), frequência cardíaca abaixo de 100 batimentos/minuto e hematomas subcoriônicos, são considerados preditores de mau prognóstico^{6, 7}.

Tanto o material embrionário quanto o fetal podem ser recuperados e cultivados para pesquisa de anomalias cromossômicas. As aberrações mais frequentemente observadas são a trissomia do cromossomo 16 e monossomia do cromossomo sexual X. Sabe-se que as trissomias estão relacionadas à maior idade materna^{2, 5, 8}.

A investigação causal é formalmente indicada em casos de abortamento habitual, definido como três ou mais perdas consecutivas, mas alguns autores vêm preconizando análise citogenética mesmo no primeiro episódio^{5, 9}.

Com o objetivo de descrever as anormalidades observadas em nosso meio, apresentamos uma compilação retrospectiva da análise de cariótipo em material de produto de abortamento encaminhado para estudo.

MÉTODOS

O presente estudo descritivo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa do Grupo Fleury e envolveu análise retrospectiva dos resultados de exames citogenéticos de produtos de abortamento enviados ao setor de Citogenética do Grupo Fleury Medicina e Saúde após curetagem uterina ou aspiração manual intrauterina (AMIU) em casos de abortamento de primeiro trimestre (até 12 semanas), provenientes de diversos hospitais do Estado de São Paulo, entre janeiro de 2000 e junho de 2009. Todos os produtos foram enviados em recipientes fechados e com formaldeído e, por vezes, acondicionados em meio de transporte.

As amostras enviadas foram cuidadosamente avaliadas em microscópio estereoscópico por citogeneticista experiente para separação do material embrionário ou fetal (vilosidade coriônica) que foi colocado em cultura, sendo o material de origem materna descartado. A amostra foi dividida para método direto e para cultura prolongada.

1. Ex-fellow em Medicina Fetal do Grupo Fleury Medicina & Saúde, São Paulo, SP

2. Doutorado em Obstetrícia – Assessor médico do setor de Medicina Fetal do Grupo Fleury Medicina & Saúde, São Paulo, SP

3. Doutorado em biologia - Bióloga do setor de Citogenética do Grupo Fleury Medicina & Saúde, São Paulo, SP

4. Bióloga do setor de Citogenética do Grupo Fleury Medicina & Saúde, São Paulo, SP

5. Biomédicas do setor de Citogenética do Grupo Fleury Medicina & Saúde, São Paulo, SP

6. Doutorado em Hematologia - Livre-docente em Hematologia – Assessora médica do setor de Citogenética e de Hematologia do Grupo Fleury Medicina & Saúde, São Paulo, SP

Tabela 1- Relação de alterações numéricas

Alteração	Número de casos	%
45,X	26	10,9
69,XXX/XXY	27	11,3
92,XXXX/XXYY	13	5,4
47,XXY	3	1,2
Trissomia:		
1	1	0,4
2	7	2,9
3	2	0,8
4	6	2,4
5	2	0,8
6	1	0,4
7	1	0,4
8	3	1,2
9	3	1,2
10	5	2
11	0	0
12	2	0,8
13	6	2,4
14	0	0
15	13	5,4
16	41	17,29
17	1	0,4
18	5	2
19	0	0
20	5	2
21	11	4
22	20	8
-21	2	0,8
Outras anormalidades	31	13
Total	237	

Tabela 2 - Outra anomalias:

1	+13,+15
2	+21,+22
3	+13,+21
4	+9,+13
5	+18,+21
6	+9,+14
7	+16,+21
8	+15,+16
9	Der(14;14)
10	Der(13;14)
11	Der(13;14)
12	Der(10)t(10;16)(q25;q13)
13	R(14)(p11.2q32)
14	Der(6)t(6;X)(q11;q13)
15	48,XXY,+18
16	Add(17)(p11.2)
17	91,XXYY,+5,-21,-21
18	T(3;4)(q13;q35)
19	70,XXX,+22
20	68,XXX,-21
21	Der(18)(?)
22	68,XXY,-17
23	70,XXX,+18
24	-22,t(9;22)
25	T(3;13)(q27;q14)
26	Dup(9)(q21q34)
27	-15,der(15)add(15)(p11)
28	Mar
29	Add(8)(p21)
30	Inv(Y)

As amostras que não continham material fetal ou vilosidade coriônicas foram recusadas. As culturas foram processadas da forma habitual e, resumidamente, o método direto foi feito com a colocação da amostra em meio de cultura Amniomax® (5 ml com pH 7,0) e deixado em incubação por 24 a 48 horas em estufa de gás carbônico (CO₂) a 37°C. As culturas foram feitas com a colocação da amostra em dois tubos de Leighton, um contendo meio Chang D® e o outro Amniomax® (2,5 mL com pH 7,0) e colocados em incubação em estufa de CO₂ a 37°C. Quando houvesse crescimento adequado, eram adicionados 60 uL de colchicina para cada 5mL de cultura, por 45 minutos. Em seguida o meio era removido e adicionado citrato de sódio a 1% por 10 minutos a temperatura ambiente. Essa etapa foi repetida por duas vezes e depois as lâminas foram preparadas de forma habitual e coradas pela banda G.

A análise foi feita ao microscópio óptico (Olympus BX60®), contando-se 20 células em estágio de metáfase, com captura em sistema computadorizado (Applied Imaging®) e confecção de cariótipo. Os resultados foram descritos conforme o Sistema Internacional de Nomenclatura para a Citogenética (ISCN) de 2009¹⁰.

RESULTADOS

No período avaliado, foram realizadas 428 análises de cariótipo em produtos de abortamento. A idade média das pacientes foi de 33 anos (variação de 13 anos a 46 anos). Foram observados 145 resultados normais (33,9%) e 237 resultados anormais (55,4%). Em 46 amostras não houve crescimento celular (10,7%). As anormalidades numéricas foram as mais frequentes, destacando-se a trissomia do 16 (41 casos), a triploidia (27 casos), a monossomia do X (26 casos), a tetraploidia (13 casos) e a trissomia do 15 (13 casos) - Tabelas 1 e 2.

DISCUSSÃO

Apesar de todos os avanços da Obstetrícia e da Genética nas últimas décadas, o abortamento continua sendo intercorrência frequente na gestação. Desafiador para os profissionais destas áreas e angustiante para os pais, principalmente em casos de perdas recorrentes. Grande parte dos abortamentos de primeiro trimestre são devidos a cromossomopatias¹¹. As anormalidades cromossômicas foram evidenciadas em 55,4% dos produtos de abortamento

avaliados neste estudo, confirmando dados prévios da literatura que demonstram que 45% a 70% de todos os abortamentos de primeiro trimestre são decorrentes de anormalidades cromossômicas¹²⁻¹⁵.

A cromossomopatia de maior frequência neste trabalho foi a do cromossomo 16, o que está de acordo com os dados da literatura¹²⁻¹⁴. A ocorrência de trissomias está relacionada à idade materna mais avançada, o que constitui crescente problema nos dias de hoje, visto que a média de idade materna tem aumentado na maioria dos países¹². Alguns estudos sugerem que abortamentos sem alterações do cariótipo e que, portanto, podem ser decorrentes de outras causas (endócrinas, imunes, anatômicas, etc), são mais frequentes em mulheres com até 35 anos¹.

As poliploidias e a monossomia do X também são causas comuns de abortamento^{1, 14}, o que foi confirmado neste estudo. Estas anormalidades, entretanto, não possuem relação evidente com a idade materna¹². A escassez de dados quanto à frequência dos diferentes tipos de alterações em nosso meio suscitou o presente estudo.

A detecção de cerca de 55% de anormalidades em material de abortamento espontâneo, sem prévia seleção, está de acordo com dados da literatura^{4, 11}. Em estudo realizado na China, Zhang et al.⁴ avaliaram 115 produtos de abortamento e constataram que 61% deles apresentavam anormalidades cromossômicas, sendo 90% delas numéricas e 10% estruturais, ressaltando que a utilização da reação em cadeia da polimerase e da hibridização genômica comparativa são técnicas úteis em casos nos quais não há crescimento celular em meio de cultura ou em que há contaminação com células maternas¹¹. As taxas de falha de crescimento celular citadas na literatura encontram-se entre 10% e 15%, o que está de acordo com a taxa encontrada no presente estudo (10,7%).

Embora um episódio isolado de abortamento seja um evento ao acaso na grande maioria das vezes e a investigação etiológica completa não seja formalmente indicada, alguns autores^{1, 5, 8} sugerem que a análise citogenética nestes casos possa ser reconfortante do ponto de vista psicológico e influenciar sobre a decisão de tentar uma nova gestação, principalmente para pacientes com 36 anos ou mais¹.

Em estudo semelhante no qual foram avaliados 420 produtos de abortamento estratificados pela idade materna, Stephenson et al.¹ encontraram 46% de anormalidades cromossômicas. Os autores sugerem a pesquisa de outros fatores etiológicos após duas perdas gestacionais precoces com cariótipo normal, o que levaria à antecipação do diagnóstico e à introdução mais precoce de medidas terapêuticas eficazes¹. A avaliação citogenética em episódios isolados permitiria identificar alterações decorrentes de erros da meiose que ocorrem ao acaso. O encontro de anormalidade cromossômica dispensaria demais investigações e levaria a uma diminuição dos custos¹.

A literatura médica, todavia, é carente de estudos que avaliem a recomendação de análise citogenética em todos os casos de abortamento de primeiro trimestre. Não há dados quanto à relação de custo e efetividade desta prática.

CONCLUSÃO

As alterações citogenéticas, principalmente as aneuploidias, representam importante causa de perdas gestacionais e a detecção destas auxilia o aconselhamento genético do casal. Dentre as mais de 50 alterações descritas, a trissomia do cromossomo 16 é a mais frequentemente encontrada, seguida de outras trissomias, das poliploidias e da monossomia do X.

A análise citogenética deve ser realizada rotineiramente em casos de abortamento habitual, mas sua realização cotidiana em episódios

isolados de abortamento, embora possua benefício teórico, deve ser melhor avaliada em estudos futuros.

Conflito de interesse: não há

SUMMARY

CYTOGENETIC ANALYSIS OF MATERIAL FROM SPONTANEOUS ABORTION

OBJECTIVE. To describe chromosomal abnormalities in spontaneous abortion material.

METHODS. A retrospective compilation of karyotype analysis of slides stained with Band G was carried out by optical microscopy with materials of 428 abortion products referred for study.

RESULTS. There were 145 normal results (33.9%) and 237 abnormal results (55.4%). In 46 samples there was no cell growth (10.7%). Numerical abnormalities were the most frequent, especially trisomy 16 (41 cases), triploidy (27 cases), monosomy X (26 cases), tetraploidy (13 cases) and trisomy 15 (13 cases).

CONCLUSION. Cytogenetic alterations are an important cause of pregnancy loss and their detection helps the genetic counseling to the couple. Trisomy 16 is the most often found change. [Rev Assoc Med Bras 2010; 56(6): 681-3]

KEY WORDS: Cytogenetics . Abortion. Chromosomal alterations.

REFERÊNCIAS

- Stephenson MD, Awartani KA, Robinson WP. Cytogenetic analysis of miscarriages from couples with recurrent miscarriage: a case-control study. *Hum Reprod.* 2002;17:446-51.
- Gardo S. [Spontaneous abortion and genetic natural selection]. *Orv Hetil.* 1993;134:1459-64.
- Gardo S, Bajnoczky K. [Chromosome analysis in spontaneous abortion using direct preparation of chorionic villi]. *Orv Hetil.* 1991;132:2727-9.
- Ljunger E, Cnattingius S, Lundin C, Anneren G. Chromosomal anomalies in first-trimester miscarriages. *Acta Obstet Gynecol Scand.* 2005;84:1103-7.
- Morton NE, Chiu D, Holland C, Jacobs PA, Pettay D. Chromosome anomalies as predictors of recurrence risk for spontaneous abortion. *Am J Med Genet.* 1987;28:353-60.
- Choong S, Rombauts L, Ugoni A, Meagher S. Ultrasound prediction of risk of spontaneous miscarriage in live embryos from assisted conceptions. *Ultrasound Obstet Gynecol.* 2003;22:571-7.
- Varelas FK, Prapas NM, Liang RI, Prapas IM, Makedos GA. Yolk sac size and embryonic heart rate as prognostic factors of first trimester pregnancy outcome. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol.* 2008;138:10-3.
- Eiben B, Bartels I, Bahr-Porsch S, et al. Cytogenetic analysis of 750 spontaneous abortions with the direct-preparation method of chorionic villi and its implications for studying genetic causes of pregnancy wastage. *Am J Hum Genet.* 1990;47:656-63.
- Warburton D. Chromosomal causes of fetal death. *Clin Obstet Gynecol.* 1987;30:268-77.
- Shaffer LG, Slovak ML, Campbell LJ. *ISCN - An International System for Human Cytogenetic Nomenclature.* S Karger AG; 2009.
- Zhang YX, Zhang YP, Gu Y, et al. Genetic analysis of first-trimester miscarriages with a combination of cytogenetic karyotyping, microsatellite genotyping and arrayCGH. *Clin Genet.* 2009;75:133-40.
- Be C, Velasquez P, Youlton R. Spontaneous abortion: cytogenetic study of 609 cases. *Rev Med Chil.* 1997;125:317-22.
- Ford JH, Wilkin HZ, Thomas P, McCarthy C. A 13-year cytogenetic study of spontaneous abortion: clinical applications of testing. *Aust N Z J Obstet Gynaecol.* 1996;36:314-8.
- Philipp T, Kalousek DK. Generalized abnormal embryonic development in missed abortion: embryoscopic and cytogenetic findings. *Am J Med Genet.* 2002;111:43-7.
- Goud TM, Mohammed Al Harassi S, Khalfan Al Salmani K, Mohammed Al Busaidy S, et al. A cytogenetic studies in couples with recurrent miscarriage in the Sultanate of Oman. *Reprod Biomed Online.* 2009;18:424-9.

Artigo recebido: 10/05/10
Aceito para publicação: 05/08/10