

Anormalidades cromossômicas em abortos recorrentes por análise de cariótipo convencional

Alessandra Bernadete Trovó de Marqui ¹

¹ Departamento de Patologia, Genética e Evolução. Instituto de Ciências Biológicas e Naturais. Universidade Federal do Triângulo Mineiro. Campus I. Praça Manoel Terra, nº 330. Uberaba, MG, Brasil. CEP: 38015-050. E-mail: alessandratrovo@hotmail.com

Resumo

Objetivos: descrever a prevalência e os tipos de anormalidades cromossômicas em casais com aborto recorrente e em produtos de concepção.

Métodos: foram realizadas buscas eletrônicas nas bases de dados PubMed/Medline e no Portal Regional da Biblioteca Virtual em Saúde/BVS usando os descritores "chromosomal abnormalities and abortions and prevalence". Após a aplicação de critérios de inclusão e exclusão, 17 estudos foram selecionados.

Resultados: 11 estudos foram realizados em casais com aborto recorrente e seis em produtos de concepção. Os principais resultados em casais com aborto recorrente foram: a frequência de anormalidades cromossômicas variou de 1,23% a 12% e houve predomínio de alterações cromossômicas estruturais (translocações recíprocas, seguidas por Robertsonianas). Nos produtos de concepção, os resultados observados foram: a frequência de anormalidade cromossômica foi acima de 50% em aproximadamente 70% dos estudos; houve predomínio de alterações cromossômicas numéricas (trissomia - cromossomos 16, 18, 21 e 22, seguido de poliploidia e monossomia X).

Conclusões: em resumo, as alterações citogenéticas representam uma importante causa de perdas gestacionais e sua detecção auxilia no aconselhamento genético do casal. Portanto, o valor do conhecimento sobre a prevalência de anormalidades citogenéticas em amostras de aborto espontâneo é indiscutível, uma vez que permite o aconselhamento genético adequado ao casal.

Palavras-chave Aborto espontâneo, Aberrações cromossômicas, Citogenética, Translocação genética, Aconselhamento genético



Introdução

Abortamento recorrente (RM), também conhecido como perda recorrente da gravidez (RLP) ou aborto espontâneo recorrente (RSA), é classicamente definido pelo Royal College of Obstetricians and Gynecologists (RCOG) como a ocorrência de três ou mais abortos consecutivos antes de 20 semanas de gestação.¹ No entanto, a Sociedade Americana de Medicina Reprodutiva (ASRM) recentemente redefiniu a perda recorrente de gravidez como dois ou mais abortos.^{2,3}

A etiologia do RM pode ser multifatorial e, em cerca de 40-60% desses pacientes não há causa identificável, nesse caso a condição é classificada como RM idiopático ou RM inexplicado.^{4,5}

Os principais fatores etiológicos relacionados ao RM são: 1) anormalidades genéticas (rearranjos cromossômicos dos pais e cariótipos embrionários anormais); 2) anormalidades endócrinas; 3) fatores anatômicos; 4) fatores imunológicos; 5) distúrbios trombofílicos herdados; 6) agentes infecciosos; 7) fatores diversos (estilo de vida e fatores ambientais); e 8) novos fatores de risco.⁶⁻⁸

Um estudo recente descreveu as características epidemiológicas e obstétricas de mulheres com RM e alguns fatores de risco foram identificados tais como idade mais avançada, consumo de bebidas alcoólicas e maior índice de massa corporal.⁹ Nesse sentido, modificações no estilo de vida também devem ser implementadas para melhorar o prognóstico reprodutivo.⁷

Fatores genéticos, principalmente anomalias cromossômicas, são a causa mais comum de aborto espontâneo precoce (50 a 60%). As anormalidades cromossômicas podem ser divididas em dois grupos básicos: anomalias numéricas e estruturais. Essas anomalias podem envolver um ou mais cromossomos autossomos, cromossomos sexuais e ambos simultaneamente e são identificadas por meio de métodos citogenéticos convencionais baseados em microscopia de luz.^{4,5}

A cariotipagem convencional é tradicionalmente realizada para elucidar as possíveis causas de perdas fetais, indicando se alguma anormalidade cromossômica foi responsável pelo aborto espontâneo. O uso de citogenética clássica para avaliar o cariótipo fetal no material abortado é complicada pela amostra estar contaminada pelo tecido materno e o risco associado de resultados falso-negativos.¹⁰ Além disso, os produtos de concepção são caracterizados pela baixa qualidade da amostra, que muitas vezes leva à falha de cultura celular.^{11,12} Em caso de falha de cultura ou contaminação materna, as

técnicas moleculares podem contribuir para detectar anormalidades cromossômicas adicionais nessas amostras de abortos, além do cariótipo padrão.¹³

Uma revisão recente também resumiu o conhecimento atual sobre as causas genéticas (anormalidades no cariótipo, status de portadores de doenças recessivas, doenças dominantes e trombofilia) do RM.¹⁰ As razões genéticas podem envolver mudanças no material genético embrionário/fetal ou parental. Portanto, testes genéticos podem ser realizados em ambos os pais, bem como no material abortado (feto ou placenta).¹⁰

A presença de anormalidades no cariótipo em um dos pais é uma das causas mais comuns de RM. Eles são mais comumente encontrados como rearranjos balanceados, isto é, anormalidades que não causam sintomas clínicos em portadores, mas possivelmente induzem a produção de células reprodutivas anormais contendo quantidades anormais de material genético.¹⁰ Em casais com RM, um parceiro - mais frequentemente a mulher - terá um rearranjo cromossômico estrutural geneticamente balanceado, sendo o mais comum uma translocação equilibrada (recíproca seguida por Robertsoniana). As inversões são muito mais raras, mas também estão associadas a um risco aumentado de RM.⁶

Em produtos de concepção, pelo menos 50% de todos os abortos estão associados a anormalidades cromossômicas numéricas - trissomia, poliploidia e monossomia do X.⁶ Portanto, o aconselhamento genético é importante quando um fator genético é identificado.⁶

Outros fatores genéticos, tais como os polimorfismos genéticos podem contribuir com o RM.^{4,5} Uma revisão sistemática e metanálise recente mostraram associações significativas entre o RM e 53 polimorfismos genéticos de 37 genes. As variantes genéticas de *HLA-G*, *IFNG*, *TNF*, *IL-6*, *IL-10*, *FII*, *FV*, *FXIII*, *ITGB3*, *MTR*, *MTHFR*, *PAI-1*, *NOS3*, *KDR*, *TP53*, *VEGFA*, *CYP17*, *CYP11A1*, *CYP2D6*, *ANXA5* e *XCI* podem servir como marcadores biológicos de RM.¹⁴ Essas variantes genéticas foram associadas à resposta imune, trombofilia, função placentária e sistema hormonal e de desintoxicação e podem contribuir para a patogênese do RM.¹⁵ Embora associações significativas tenham sido encontradas entre muitas variantes genéticas e RM, mais pesquisas funcionais são necessárias para estabelecer seu papel como biomarcadores e sua introdução na prática clínica de rotina.¹⁵

O RM é um importante problema de saúde reprodutiva. Apesar de várias etiologias terem sido identificadas, quase metade dos casos permanece sem explicação. Independentemente da causa, um acom-

panhamento completo com um importante apoio psicológico pode ajudar a maioria dos casais a alcançar um nascimento bem-sucedido.⁷

Diante disso, os objetivos do presente estudo foram descrever a prevalência e os tipos de anomalias cromossômicas em casais com RSAs e em produtos de aborto.

Métodos

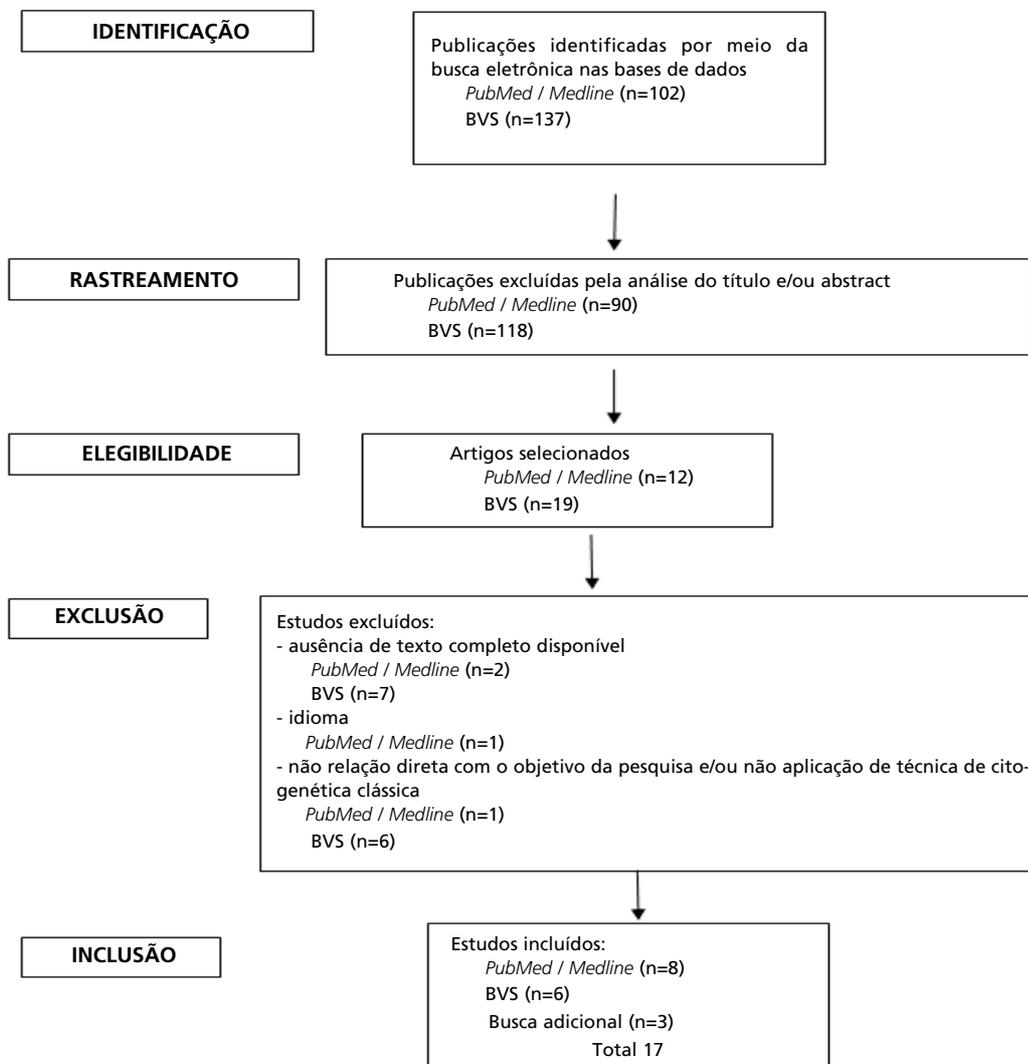
Foram realizadas buscas eletrônicas nas bases de dados *PubMed* / *Medline* (disponível em <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed>) e no Portal

Regional da Biblioteca Virtual em Saúde/BVS (disponível em bvsalud.org) em junho de 2017. Os descritores utilizados em ambas as buscas foram: “*chromosomal abnormalities and abortions and prevalence*”. As etapas da busca eletrônica são apresentadas na Figura 1.

O rastreamento inicial das publicações foi baseado na análise dos títulos e/ou abstracts. Os critérios de inclusão foram: artigos de pesquisa intimamente relacionados aos objetivos da pesquisa, que empregaram a técnica de citogenética convencional; aqueles publicados nos últimos 10 anos (ou seja, entre os anos de 2007 e 2016), no idioma

Figura 1

Fluxograma ilustrando as etapas da busca eletrônica.



inglês, português e espanhol e cujo texto completo estivesse disponível na íntegra, gratuitamente. Foram excluídos aqueles artigos que não cumpriram os critérios previamente estabelecidos.

O cariótipo convencional é definido como a caracterização morfológica do complemento cromossômico de um indivíduo, incluindo número, forma e tamanho dos cromossomos. Ele pode detectar anormalidades em todo o genoma e, portanto, é usado como padrão para detectar anormalidades cromossômicas em amostras de abortos espontâneos.¹³

Dos 102 e 137 artigos identificados no Pubmed/Medline e BVS, oito e seis foram incluídos, respectivamente. Uma busca adicional foi realizada nas referências dos artigos identificados nas bases de dados investigadas e três artigos^{11,12,16} foram incluídos, totalizando 17 trabalhos científicos.

Resultados

Dos 17 trabalhos incluídos nessa revisão bibliográfica, 11 deles foram conduzidos em casais com RM (Tabela 1) e seis em produtos de concepção (Tabela 2). As frequências e tipos de anormalidades cromossômicas em casais com RM e produtos de aborto estão apresentadas nas Tabelas 1 e 2, respectivamente.

Alguns estudos mostraram maior prevalência de anomalias cromossômicas em casais com maior número de abortos.^{16,18} Segundo Ghazaey *et al.*,¹⁶ o maior percentual de anormalidades cromossômicas foi observado em casais com cinco ou mais RSAs (4,7% - 1 RSA, 11% - 2 RSAs, 15% - 3 RSAs, 15% - 4 RSAs e 21,2% - ≥ 5 RSAs). Outro estudo mostrou que anormalidades cromossômicas foram encontradas em 5% dos casais com história de dois abortos, em 10,3% com três abortos e em 14,3% com quatro ou mais abortos.¹⁸

Tabela 1

Tipos e prevalência de anormalidades cromossômicas em casais com RM.

Estudo	Amostra	Tipos de anomalias cromossômicas	Prevalência
Ozawa <i>et al.</i> ¹⁷	2324 casais com história de duas ou mais perdas gestacionais consecutivas	anormalidades cromossômicas: 114 casais 3,18% (74) translocações recíprocas, 0,99% (23) translocações de duas ou Robertsonianas (17 mulheres - 0,73% e 6 homens - 0,26%), 0,43% (10) inversões e 0,39% (9) outras 14 casais com variants normais (0,6%) e 81 com inversões pericêntricas do 9 (3,49%)	4,91%
Kiss <i>et al.</i> ¹⁸	108 casais com história de dois ou mais RSAs	anormalidades cromossômicas: 10 casos (5 mulheres e 5 homens) razão mulher-homem 1:1 análise cromossômica (resultado normal): 46, XX (n=100) e 46, XY (n=103) 5 alterações estruturais (30% de translocação recíproca, 20% de translocação Robertsoniana, 10% de inversão cromossômica) e 5 alterações numéricas (50% de mosaicismo - cromossomos sexuais) em um dos casais, a mulher apresentou duas alterações concomitantes 3 polimorfismos (1,4%)	9,3%
Pal <i>et al.</i> ¹⁹	56 casais com dois ou mais abortos espontâneos	cinco casais - anormalidade cromossômica em um parceiro 4 casos - alterações estruturais (60% translocações recíprocas - mulheres e 20% translocações Robertsonianas D/D - homens) 1 caso - anormalidade numérica (20% síndrome de Down mosaico - homem) 60% (n=3) ocorreram em mulheres e 40% (n=2) em homens razão mulher-homem 1,5:1	8,9%

continua

RSAs: abortos espontâneos recorrentes.

Tabela 1

continuação

Tipos e prevalência de anormalidades cromossômicas em casais com RM.

Estudo	Amostra	Tipos de anormalias cromossômicas	Prevalência
Dutta <i>et al.</i> ²⁰	1162 casais com abortos espontâneos recorrentes	anormalias cromossômicas: 78 casos 1,41% (33) anormalidades estruturais [mais frequente: 21 casos de translocações recíprocas balanceadas e 6 casos de translocações Robertsonianas] – mulheres (18 casos) e homens (9 casos)] 1,89% (44) variantes polimórficos (cromossomo 9) 0,05% (1) anomalia numérica (mosaico XY/XXY)	3,35%
Niroumanesh <i>et al.</i> ²¹	100 casais com dois ou mais abortos espontâneos	anormalidades cromossômicas: 13 casos anormalidades cromossômicas: 8% mulheres e 5% homens razão mulher-homem 1,6/1 4 (30,8%) translocações recíprocas balanceadas 3 (23%) translocações Robertsonianas (grupos D e G) 3 (23%) inversões pericêntricas (cromossomos 7 e 9) 1 (7,7%) inversões paracêntricas (cromossomo 16) 1 (7,7%) cromossomo marcador 1 (7,7%) polimorfismo 9qh+ (mulher que tinha uma história de oito abortos e um nativo) inv(9) – um casal com uma aberração cromossômica similar	12%
Saxena <i>et al.</i> ²²	955 casais com perdas gestacionais espontâneas recorrentes	anormalidades cromossômicas: 49 casos 63,3% (31) translocações recíprocas (18 mulheres e 13 homens), 20,4% (10) translocações Robertsonianas (7 mulheres e 3 homens), 10,2% (5) inversões, 2,04% (1) cromossomo derivativo, 2,04% (1) aneuploidia do cromossomo sexual, 2,04% (1) cromossomo marcador	1,23%
Gonçalves <i>et al.</i> ²³	151 mulheres e 94 parceiros (casais com dois ou mais abortos espontâneos recorrentes de primeiro trimestre)	anormalidades cromossômicas: 13 casos (11 mulheres e 2 parceiros) mulheres: 4,7% mosaicismos do cromossomo X (n=7), 2% translocações recíprocas (n=3) e 0,6% translocações Robertsonianas (n=1) homens: 1% mosaicismos do cromossomo X (n=1) e 1% inversões (n=1) 3,65% alterações estruturais (n=5) e 5,75% alterações numéricas (n=8) variações normais na estrutura dos cromossomos: 4,6% (mulheres, n=7) e 6,4% (homens, n=6), mais frequente: 9qh+ (9 casos)	7,3% (mulher) 2,1% (homem)
Karatas <i>et al.</i> ²⁴	142 casais com abortos espontâneos recorrentes (≥2 perdas gestacionais que ocorreram antes da 20ª semana de gestação)	anormalidades cromossômicas: 33 casos (14 mulheres e 19 homens) razão mulher-homem 0,7:1 análise cromossômica (resultados normais): 46,XX (n=128) e 46,XY (n=123) mulheres: 9 polimorfismos (64,3%), 3 translocações (21,4%) e 2 trissomia do X (14,3%) homens: 19 polimorfismos (100%) 28 polimorfismos: mais frequente 1qh+ (n=9), 9qh+ (n=4) e 16qh+ (n=3)	9,86% (mulher) 13,4% (homem)

continua

RSAs: abortos espontâneos recorrentes.

Tabela 1

conclusão

Tipos e prevalência de anormalidades cromossômicas em casais com RM.

Estudo	Amostra	Tipos de anormalias cromossômicas	Prevalência
Ghazaey <i>et al.</i> ¹⁶	728 casais com história de abortos variando de 1-7	anormalidades cromossômicas: 85 (48 mulheres e 37 homens) razão mulher-homem 1,3:1 43,5% (37) translocações recíprocas (24 mulheres e 13 homens) 9,4% (8) translocações Robertsonianas (4 mulheres e 4 homens) 8,3% (7) inversões 8,3% (7) anomalias numéricas 52 anomalias estruturais e 7 anomalias numéricas 30,5% (26) variantes polimórficas	11,7%
Fan <i>et al.</i> ²⁵	1948 casais com dois ou mais abortos recorrentes	anormalidades cromossômicas: 58 casos (20 homens – 34,5% e 38 mulheres – 65,5%) razão mulheres/homens portadores – aproximadamente 2:1 tipos de alterações cromossômicas estruturais: 72,4% (n=42) translocações recíprocas, 19% (n=11) translocações Robertsonianas e 8,6% (n=5) inversões pericêntricas 42 translocações recíprocas (15 homens – 35,7% e 27 mulheres – 64,3%) 11 translocações Robertsonianas (3 homens – 27,3% e 8 mulheres – 72,3%) 5 inversões (2 homens – 40% e 3 mulheres – 60%)	2,98% (alterações cromossômicas estruturais) (1,95% mulher e 1,03% homem)
Sudhir <i>et al.</i> ²⁶	440 casais com pelo menos dois abortos espontâneos consecutivos	anomalias cromossômicas: 15 casos 53,3% (8) translocações recíprocas, 6,7% (1) translocações Robertsonianas, 20% (3) duplicações e inversão e 20% (3) variantes polimórficas Porcentagem de casos carregando translocações: 78% homens e 22% mulheres (razão homem:mulher 1,5:1)	3,41%

RSAs: abortos espontâneos recorrentes.

Tabela 2

Tipos e prevalência de anormalidades cromossômicas em produtos de concepção.

Estudo	Amostra	Tipos de anormalias cromossômicas	Prevalência
Teixeira <i>et al.</i> ¹¹	574 produtos de aborto e	Abortos 211 (36,76%) – sem resultados 250 (43,55%) – cariótipo normal 113 (19,69%) – cariótipo anormal [80 aneuploidias (monossomia do X e trissomia do 16), 23 euploidias e 10 alterações estruturais]	19,7% - abortos
	197 casais com RSAs	Casais 15 (7,6%) – alterações estruturais em um dos cônjuges (inversão do cromossomo 9 e translocações equilibradas)	7,6% - casais
Rolnik <i>et al.</i> ¹²	428 produtos de aborto (até 12 semanas)	46 (10,7%) – não houve crescimento celular 145 (33,9%) – resultados normais 237 (55,4%) – resultados anormais – mais frequente: anomalias numéricas – trissomia do 16 (17,3%), triploidia (11,3%), monossomia do X (10,9%), tetraploidia (5,4%) e trissomia do 15 (5,4%)	55,4%
López <i>et al.</i> ²⁷	120 produtos de aborto espontâneo	46% (55/120) – cariótipos normais 54% (65/120) – cariótipos anormais 52,3% (34) trissomia (32,3% - trissomia do 16, 23,4% trissomia do 22, 11,7% - trissomia do 18, 8,8% - trissomia do 13 e 5,8% - trissomia do 21) 24,6% (16) poliploidia (50% - 69,XXX and 37,5% - 69,XXY) 13,9% (9) monossomia (45,X) 9,2% (6) mosaicos	54%
Salazar <i>et al.</i> ²⁸	677 amostras de tecidos de abortos espontâneos	38,3% (259/677) – cariótipos normais (158 – 46,XX e 101 – 46,XY) 61,7% (418/677) – cariótipos anormais 63,4% (265) trissomias (34,4% - trissomia do 16, 13,6% - trissomia do 21 e 12,8% - trissomia do 22) 19,8% (83) poliploidia 11,5% (48) monossomia (46 – monossomia do X) 5,3% (22) anormalidades estruturais	61,7%
Boué <i>et al.</i> ²⁹	1498 abortos (embrião com menos de 12 semanas)	38,5% (577) – cariótipo normal 61,5% (921) – cariótipo anormal 52% (479) - trissomia (cromossomos dos grupos D – n=109 e E – n=172) 19,9% (183) – triploidia 15,3% (141) – monossomia (45,X - n=140) 6,2% (57) – tetraploidia 3,8% (35) – translocações 1,7% (16) – trissomia dupla 1,1% (10) – mosaicismo anomalias estruturais – somente 3,8%	61,5%
Bastos <i>et al.</i> ³⁰	333 abortos (71 recorrentes e 262 esporádicos)	72,7% (242/333) – cariótipo normal 27,3% (91/333) – cariótipo anormal 92,3% (84/91) alterações numéricas, principalmente trissomias (65,5%; 55/84); 30,9% (17) – trissomia do 16, 21,8% (12) – trissomia do 18 e 14,5% (8) trissomia do 21 25% (21) - poliploidia 8,3% (7) – monossomia do X 7,7% (7) – alterações estruturais	27,3%

RSAs: abortos espontâneos recorrentes.

Discussão

RM continua sendo um problema reprodutivo desafiador para o paciente e o clínico. É um evento traumático para os casais e tem implicações psicológicas, principalmente depressão e ansiedade, e interfere na relação dos casais.³¹⁻³³ Identificar uma causa citogenética para um aborto pode ser psicologicamente importante para superar o luto e a perda, bem como para decidir se é ou não viável tentar novamente.³⁴

Todos os estudos inclusos nesta revisão empregaram o exame do cariótipo, que é a técnica mais comum de citogenética convencional. É uma técnica trabalhosa, requer cultura de células e os resultados podem levar de 10 a 15 dias. Entretanto, pode detectar diferentes tipos de anormalidades cromossômicas. Em casais com abortos recorrentes, foi realizada cultura de linfócitos a partir de sangue periférico, com análise de aproximadamente 20 a 30 metáfases. No caso de produto de aborto, foi utilizado a cultura de tecido (vilo coriônico).

A frequência de anormalidades cromossômicas entre casais com RSAs variou de 1,23% a 12% (Tabela 1). Os resultados do presente estudo são semelhantes aos realizados anteriormente (Tabela 3).

Houve predomínio de alterações cromossômicas estruturais nos casais com aborto recorrente.^{16,17,19-22,24-26} Esses achados estão de acordo com a literatura.^{34,35,40-44} Apenas em dois estudos houve maior frequência de alterações cromossômicas numéricas²³ ou mesma porcentagem de alterações numéricas e estruturais.¹⁸

Quanto ao tipo de alteração estrutural, as mais frequentes foram as translocações recíprocas, seguidas pelas Robertsonianas^{16-23,25,26} como relatado na literatura (Azim *et al.*³⁵ - 1,6% translocações recíprocas *versus* 0,6% translocações Robertsonianas; Kochhar & Ghosh⁴² - 5,9% translocações recíprocas *versus* 0,7% translocações Robertsonianas; Sheth *et al.*⁴³ - 24,7% translocações recíprocas *versus* 17,64% translocações Robertsonianas). Na translocação recíproca há uma troca de dois segmentos terminais de cromossomos diferentes. A translocação robertsoniana envolve dois cromossomos acrocêntricos com perda de braços curtos e sua fusão pelo centrômero ou próximo dele. Ambas as translocações tanto recíprocas como Robertsonianas são rearranjos balanceados, ou seja, indivíduos portadores das mesmas não apresentam alterações fenotípicas decorrentes delas. Os riscos existentes restringem-se à sua prole, porque dependendo da segregação ocorrida durante a gametogênese pode haver a formação

de fetos cromossomicamente não balanceados e, conseqüentemente, não viáveis.¹⁸ As translocações foram mais comuns em mulheres do que em homens.^{16,17,19,20,22-25} A incidência de translocação é maior no sexo feminino do que no masculino na literatura também.^{42,43} Apenas um estudo mostrou que a porcentagem de homens (78%) portadores de translocações foi maior que em mulheres (22%).²⁶ Portanto, o aconselhamento genético para casais com anormalidades cromossômicas estruturais deve considerar o gênero dos portadores.²⁵ De acordo com alguns autores, homens portadores de translocações exibem fertilidade reduzida.^{47,48} Uma possível explicação para essa diferença é que anormalidades cromossômicas, tais como translocações autossômicas recíprocas em homens portadores, podem causar graves distúrbios meióticos e parada espermatogênica, mas a oogênese geralmente é conservada e resulta na produção de gametas com alto risco de apresentar anormalidades cromossômicas desequilibradas.^{47,48}

Vale destacar que, muitos dos estudos da Tabela 1 incluíram na frequência de anormalidades cromossômicas aquelas alterações consideradas variantes da normalidade (polimorfismos).^{16-18,20,21,23,24,26} A frequência de polimorfismos variou de 0,6%¹⁷ a 100%²⁴ (Tabela 1). No entanto, algumas pesquisas mostraram uma possível associação entre variantes polimórficas e infertilidade.⁴⁹⁻⁵¹ Um estudo recente mostrou um aumento na frequência de variantes polimórficas entre pacientes inférteis (19,4% no grupo de estudo *vs.* 13,4% no grupo controle; $p < 0,01$).⁵¹

Dos 17 estudos inclusos nessa revisão, apenas seis avaliaram produtos de abortamento (Tabela 2). Dois deles referiram não obtenção de resultados e falha da cultura celular na análise citogenética (CA).^{11,12} A CA dos produtos de concepção apresenta pelo menos dois desafios principais, falha na cultura de células e excesso de cariótipos femininos normais relacionados à contaminação por células maternas. Embora a CA de material abortivo seja altamente recomendada, técnicas alternativas complementares à CA tais como a Hibridização *in situ* por Fluorescência/FISH,^{52,53} Multiplex Ligation-dependent Probe Amplification/MLPA,⁵⁴ Quantitative fluorescent polymerase chain reaction/QF-PCR^{55,56} e array Comparative Genomic Hybridization/CGH⁵⁷ têm sido usadas para testes genéticos de amostras de abortos. Estas técnicas não requerem cultura de células e foram propostas para otimizar os resultados genéticos em cariótipos mal sucedidos. Uma comparação das técnicas de citogenética clássica, citogenética molecular e biologia

Tabela 3

Frequências de anormalidades cromossômicas em estudos prévios.

Autores	Número de casais	Frequência de anormalidades cromossômicas %
Azim <i>et al.</i> ³⁵	300	5,3
Rao <i>et al.</i> ³⁶	160	11,25
Celep <i>et al.</i> ³⁴	645	3,86
Elgehzal <i>et al.</i> ³⁷	1400	6,93
Yuce <i>et al.</i> ³⁸	421	3,68
Meza-Espinoza <i>et al.</i> ³⁹	542	5,7
Goud <i>et al.</i> ⁴⁰	380	6,84
El Dahtory <i>et al.</i> ⁴¹	73	6,1
Kochhar & Ghosh ⁴²	788 indivíduos (incluindo 367 casais)	6,8
Sheth <i>et al.</i> ⁴³	4859 indivíduos (2428 casais e três mães solteiras)	3,5
Alaraji ⁴⁴	61	9,83
Flynn <i>et al.</i> ⁴⁵	795	3,52
Turki <i>et al.</i> ⁴⁶	171	6,43

molecular utilizadas para o exame de material embrionário/fetal é apresentada em duas revisões, juntamente com suas vantagens e desvantagens.^{10,13}

Quando os estudos citogenéticos são bem-sucedidos, as técnicas mais recentes podem ter seu uso clínico adicional limitado. No entanto, quando a cultura de tecidos falha, as técnicas moleculares são muito úteis, embora seja importante entender as limitações de cada ferramenta. Desta forma, uma abordagem combinada usando métodos convencionais e moleculares irá elucidar a causa do aborto para quase todas as amostras. Na prática clínica, isso seria o ideal.⁵⁸

Anormalidades cromossômicas em produtos de aborto foi encontrada estar acima de 50% em aproximadamente 70% dos estudos.^{12,27-29} Uma frequência de 61% de anormalidades cromossômicas em produtos de concepção foi detectada por CA.⁵⁵ Outros estudos utilizando citogenética encontraram frequências mais baixas (33,24% e 48%) de anormalidades cromossômicas.^{56,59}

Dois estudos publicados em 2014 e 2017 empregaram CA e QF-PCR.^{55,56} O primeiro aplicou CA em 534 abortos espontâneos, tendo sucesso em 73% (390/534) deles. Cento e quarenta e quatro abortos espontâneos (27%, 144/534) não cresceram em cultura. Um total de 27 casos foram analisados por QF-PCR para os cromossomos 13, 18, 21, X e Y e 30% (8 dos 27 casos) mostraram uma aberração cromossômica numérica por QF-PCR. Duzentos e trinta e sete dos casos (61%, 237/390) apresentaram alterações cromossômicas por CA.⁵⁵ O outro foi

conduzido em 884 produtos da concepção, dos quais 204 foram analisados por citogenética e 680 por biologia molecular baseada em QF-PCR.⁵⁶ Apesar de utilizarem técnicas diferentes, os resultados anormais foram similares (40% por QF-PCR e 48% por citogenética).⁵⁶ Um estudo recente, usando apenas CA convencional, com 457 produtos de concepção, mostrou que 382 casos foram cariotipados com sucesso enquanto que a cultura celular de 75 casos falhou (taxa de falha de cultura: 16,42%). Anormalidades citogenéticas foram detectadas em 127 de 382 casos (33,24%).⁵⁹

Ao contrário dos achados apresentados na Tabela 1, houve predomínio de alterações cromossômicas numéricas nos estudos sobre produtos de abortamento. A frequência de alterações cromossômicas numéricas foi superior a 92%,²⁸⁻³⁰ chegando a 100%²⁷ em quatro dos seis estudos apresentados na Tabela 2. Por outro lado, a frequência de alterações estruturais foi baixa e variou de 3,8% to 7,7%.²⁸⁻³⁰ Em todos os estudos da Tabela 2, anormalidades cromossômicas estruturais foram pouco frequentes nos materiais de concepção, de acordo com a literatura.^{55,59} Quando uma alteração cromossômica estrutural é encontrada no produto abortado, o cariótipo de ambos os pais deve ser feito para avaliar a natureza herdada ou “de novo” da anormalidade encontrada na perda gestacional.³⁰

Em geral, a trissomia foi a aberração cromossômica mais comum detectada em material de aborto, seguida por poliploidia e monossomia do X.^{12,27-30} A trissomia mais frequente foi do

16^{11,12,27,28,30} e outras trissomias, principalmente aquelas envolvendo os cromossomos 18, 21 e 22 também estão implicados no aborto espontâneo.^{27,28,30} Trissomias autossômicas foram as anormalidades cromossômicas predominantes com uma frequência de 48,8% (trissomia do 16 - 12,6%; trissomia do 22 - 7,9%; trissomia do 21 - 5,5% trissomia do 13 - 3,1%; trissomia do 10 - 3,1%), seguida por poliploidia (18,9% - triploidia e tetraploidia) e 45, X (16,5%). Anormalidades cromossômicas estruturais foram raras (9,5%).⁵⁹ Trissomia também foi a aberração cromossômica mais comum detectada em material abortivo, respondendo por 63% (232 de 368), seguida por poliploidia (18,8%; 69 de 368) e monossomia do X (16,6%; 61 de 368).⁵⁶ A trissomia mais frequente foi do 16 (17,4%), seguida pela trissomia do 22 (17,1%).⁵⁶ Outro estudo⁵⁵ mostrou que: (1) a trissomia foi a aberração cromossômica mais comum e responsável por 53% (125/237) dos cariótipos aberrantes; (2) os cromossomos 16, 22, 15 e 21 foram os mais frequentemente envolvidos em aneuploidias; (3) cinquenta e quatro casos (23%, 54/237) com poliploidia e 7% (16 casos) de monossomia do X também foram encontrados e (4) anormalidades cromossômicas estruturais individuais desbalanceadas representaram 4% (10/237) dos cariótipos aberrantes.⁵⁵ Russo *et al.*⁵³ aplicaram FISH em interfase em 855 materiais abortivos embebidos em parafina fixados em formalina e a taxa de aneuploidia detectada foi de 50,3%. As anomalias cromossômicas mais frequentes foram: trissomias autossômicas (60%), poliploidias (23,2%) e monossomia do cromossomo X (14%). Entre as trissomias autossômicas, o cromossomo 22 foi o mais frequentemente envolvido (33,7%) seguido por trissomia dos cromossomos 16 (23,3%), 21 (19,4%), 15 (13,3%), 18 (5,34%) e 13 (5,0%).⁵³

Dois estudos^{16,18} mostraram maior prevalência de anomalias cromossômicas em casais com maior número de abortos espontâneos. Esses achados corroboram dados previamente publicados,⁴¹ que observaram em (2/27) = 7,4% dos casais com

história de dois abortos, em (3/23) = 13% com três abortos e em (4/23) = 17,39% com quatro ou mais abortos.⁴¹ Por outro lado, outros estudos mostraram que a prevalência de anomalias cromossômicas não parece estar relacionada ao número de abortos.^{37,42}

Os presentes achados também confirmam que a análise cromossômica em casais com RM é uma parte importante e necessária da investigação etiológica em perdas fetais. Nesse sentido, é essencial que os ginecologistas/obstetras encaminhem a CA casais que tiveram dois ou mais abortamentos recorrentes, a fim de confirmar ou excluir a contribuição das anormalidades cromossômicas. Quando uma anomalia cromossômica é encontrada em um dos parceiros e é precisamente identificada, um prognóstico mais exato para futuras gestações pode ser dado. O aconselhamento genético com opção de diagnóstico pré-natal deve ser oferecido aos casais com anormalidades cromossômicas.²²

Conclusões

De acordo com os dados apresentados, pode-se concluir que: (1) anormalidades cromossômicas, principalmente rearranjos balanceados, são comuns em casais com RM; (2) as anormalidades parentais mais comuns são translocações balanceadas; (3) a anomalia autossômica mais frequente observada em produtos de concepção é a trissomia do cromossomo 16, seguida de outras aneuploidias autossômicas.

Em resumo, as alterações citogenéticas representam uma das principais causas de perdas na gravidez e sua detecção auxilia no aconselhamento genético do casal. Portanto, o valor do conhecimento sobre a prevalência de anormalidades citogenéticas em amostras de aborto é indiscutível uma vez que permite o aconselhamento genético adequado ao casal. Além disso, em pesquisas com produtos de aborto é apropriada a inclusão de outras técnicas moleculares como complementação à CA convencional.

Referências

1. Royal College of Obstetricians and Gynaecologists (RCOG) (April 2011). "The investigation and treatment of couples with recurrent first-trimester and second-trimester miscarriage". Green-top Guideline No. 17. Royal College of Obstetricians and Gynaecologists (RCOG).
2. Practice Committee of American Society for Reproductive Medicine. Definitions of infertility and recurrent pregnancy loss: a committee opinion. *Fertil Steril.* 2013; 99 (1): 63.
3. Practice Committee of the American Society for Reproductive Medicine. Evaluation and treatment of recurrent pregnancy loss: a committee opinion. *Fertil Steril.* 2012; 98 (5): 1103-11.

4. Agenor A, Bhattacharya S. Infertility and miscarriage: common pathways in manifestation and management. *Womens Health (Lond)*. 2015; 11 (4): 527-41.
5. Diejomaoh MF. Recurrent spontaneous miscarriage is still a challenging diagnostic and therapeutic quagmire. *Med Princ Pract*. 2015; 24 (Suppl. 1): 38-55.
6. Garrido-Gimenez C, Alijotas-Reig J. Recurrent miscarriage: causes, evaluation and management. *Postgrad Med J*. 2015; 91 (1073): 151-62.
7. El Hachem H, Crepau V, May-Panloup P, Descamps P, Legendre G, Bouet PE. Recurrent pregnancy loss: current perspectives. *Int J Womens Health*. 2017; 9: 331-45.
8. Shahine L, Lathi R. Recurrent pregnancy loss: evaluation and treatment. *Obstet Gynecol Clin North Am*. 2015; 42 (1): 117-34.
9. Costa OL, Santos EM, Netto EM. Epidemiological and obstetrics aspects in women with recurrent pregnancy losses at a public maternity in the Brazilian Northeast. *Rev Bras Ginecol Obstet*. 2014; 36 (11): 514-8.
10. Kacprzak M, Chrzanowska M, Skoczylas B, Moczulska H, Borowiec M, Sieroszewski P. Genetic causes of recurrent miscarriages. *Ginekol Pol*. 2016; 87 (10): 722-6.
11. Teixeira ACZ, Oliveira ARCP de, Pereira TM, Jesus NA de, Rodrigues MG, Salvador R, Agostinho MA de B, Rodini ESO. Estudo citogenético de abortos espontâneos. *Arq Ciênc Saúde*. 2009; 16 (2): 59-61.
12. Rolnik DL, Carvalho MHB, Catelani ALPM, Pinto APAR, Lira JBG, Kusagari NK, Belline P, Chauffaille M de L. Análise citogenética em material de abortamento espontâneo. *Rev Assoc Med Bras*. 2010; 56 (6): 681-3.
13. van den Berg MM, van Maarle MC, van Wely M, Goddijn M. Genetics of early miscarriage. *Biochim Biophys Acta*. 2012; 1822 (12): 1951-9.
14. Shi X, Xie X, Jia Y, Li S. Maternal genetic polymorphisms and unexplained recurrent miscarriage: a systematic review and meta-analysis. *Clin Genet*. 2017; 91 (2): 265-84.
15. Tur-Torres MH, Garrido-Gimenez C, Alijotas-Reig J. Genetics of recurrent miscarriage and fetal loss. *Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol*. 2017; 42: 11-25.
16. Ghazaey S, Keify F, Mirzaei F, Maleki M, Tootian S, Ahadian M, Abbaszadegan MR. Chromosomal analysis of couples with repeated spontaneous abortions in north-eastern iran. *Int J Fertil Steril*. 2015; 9 (1): 47-54.
17. Ozawa N, Maruyama T, Nagashima T, Ono M, Arase T, Ishimoto H, Yoshimura Y. Pregnancy outcomes of reciprocal translocation carriers who have a history of repeated pregnancy loss. *Fertil Steril*. 2008; 90 (4): 1301-4.
18. Kiss A, Rosa RF, Dibi RP, Zen PR, Pfeil JN, Graziadio C, Paskulin GA. Chromosomal abnormalities in couples with history of recurrent abortion. *Rev Bras Ginecol Obstet*. 2009; 31 (2): 68-74.
19. Pal S, Ma SO, Norhasimah M, Suhaida MA, Siti Mariam I, Ankathil R, Zilfalil BA. Chromosomal abnormalities and reproductive outcome in Malaysian couples with miscarriages. *Singapore Med J*. 2009; 50 (10): 1008-12.
20. Dutta UR, Rajitha P, Pidugu VK, Dalal AB. Cytogenetic abnormalities in 1162 couples with recurrent miscarriages in southern region of India: report and review. *J Assist Reprod Genet*. 2011; 28 (2): 145-9.
21. Niroumanesh S, Mehdipour P, Farajpour A, Darvish S. A cytogenetic study of couples with repeated spontaneous abortions. *Ann Saudi Med*. 2011; 31 (1): 77-9.
22. Gada Saxena S, Desai K, Shewale L, Ranjan P, Saranath D. Chromosomal aberrations in 2000 couples of Indian ethnicity with reproductive failure. *Reprod Biomed Online*. 2012; 25 (2): 209-18.
23. Gonçalves RO, Santos WV, Sarno M, Cerqueira BA, Gonçalves MS, Costa OL. Chromosomal abnormalities in couples with recurrent first trimester abortions. *Rev Bras Ginecol Obstet*. 2014; 36 (3): 113-7.
24. Karatas A, Eroç R, Albayrak M, Ozlu T, Cakmak B, Keskin F. Evaluation of chromosomal abnormalities and common thrombophilic mutations in cases with recurrent miscarriage. *Afr Health Sci*. 2014; 14 (1): 216-22.
25. Fan HT, Zhang M, Zhan P, Yang X, Tian WJ, Li RW. Structural chromosomal abnormalities in couples in cases of recurrent spontaneous abortions in Jilin Province, China. *Genet Mol Res*. 2016; 15(1).
26. Sudhir N, Kaur T, Beri A, Kaur A. Cytogenetic analysis in couples with recurrent miscarriages: a retrospective study from Punjab, north India. *J Genet*. 2016; 95 (4): 887-94.
27. López AGA, Huerta SB, Gálvan RH, Posadas RA, del Ángel AG, González PG. Diagnóstico citogenético en aborto espontáneo del primer trimestre. *Ginecol Obstet Mex*. 2011; 79 (12): 779-84.
28. Salazar A, Álamos C, Arriagada M, Selman E. Estudio Citogenético en 677 casos de aborto espontáneo. *Revista Anacem*. 2011; 5 (2): 74-7.
29. Boué J, Boué A, Lazar P. Retrospective and prospective epidemiological studies of 1500 karyotyped spontaneous human abortions. 1975. *Birth Defects Res A Clin Mol Teratol*. 2013; 97 (7): 471-86.
30. Bastos R, Ramalho C, Dória S. [Prevalence of chromosomal abnormalities in spontaneous abortions or fetal deaths]. *Acta Med Port*. 2014; 27 (1): 42-8.
31. Serrano F, Lima ML. Recurrent miscarriage: psychological and relational consequences for couples. *Psychol Psychother*. 2006; 79 (Pt 4): 585-94.
32. Mevorach-Zussman N, Bolotin A, Shalev H, Bilenko N, Mazor M, Bashiri A. Anxiety and deterioration of quality of life factors associated with recurrent miscarriage in an observational study. *J Perinat Med*. 2012; 40 (5): 495-501.
33. Legendre G, Gicquel M, Lejeune V, Iraola E, Deffieux X, Séjourné N, Bydlowski S, Gillard P, Sentilhes L, Descamps P. [Psychology and pregnancy loss]. *J Gynecol Obstet Biol Reprod (Paris)*. 2014; 43 (10): 908-17.
34. Celep F, Karagüzel A, Ozeren M, Bozkaya H. The frequency of chromosomal abnormalities in patients with reproductive failure. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol*. 2006; 127 (1): 106-9.
35. Azim M, Khan AH, Khilji ZL, Pal JA, Khurshid M. Chromosomal abnormalities as a cause of recurrent abortions: a hospital experience. *J Pak Med Assoc*. 2003; 53 (3): 117-9.
36. Rao L, Murthy K, Babu A, Venkata P, Deenadayal M, Singh L. Chromosome inversions and a novel chromosome insertion associated with recurrent miscarriages in South India. *Arch Gynecol Obstet*. 2005; 272 (4): 273-7.

37. Elghezal H, Hidar S, Mougou S, Khairi H, Saâd A. Prevalence of chromosomal abnormalities in couples with recurrent miscarriage. *Fertil Steril*. 2007; 88 (3): 721-3.
38. Yuce H, Tekedereli I, Elyas H. Cytogenetic results of recurrent spontaneous abortions in Turkey. *Med Sci Monit*. 2007; 13 (6): CR286-89.
39. Meza-Espinoza JP, Anguiano LO, Rivera H. Chromosomal abnormalities in couples with reproductive disorders. *Gynecol Obstet Invest*. 2008; 66 (4): 237-40.
40. Goud TM, Mohammed Al Harassi S, Khalfan Al Salmani K, Mohammed Al Busaidy S, Rajab A. Cytogenetic studies in couples with recurrent miscarriage in the Sultanate of Oman. *Reprod Biomed Online*. 2009; 18 (3): 424-9.
41. El-Dahtory FA. Chromosomal abnormalities as a cause of recurrent abortions in Egypt. *Indian J Hum Genet*. 2011; 17 (2): 82-4.
42. Kochhar PK, Ghosh P. Reproductive outcome of couples with recurrent miscarriage and balanced chromosomal abnormalities. *J Obstet Gynaecol Res*. 2013; 39 (1): 113-20.
43. Sheth FJ, Liehr T, Kumari P, Akinde R, Sheth HJ, Sheth JJ. Chromosomal abnormalities in couples with repeated fetal loss: An Indian retrospective study. *Indian J Hum Genet*. 2013; 19 (4): 415-22.
44. Alaraji SMH. Chromosomal abnormalities associated with recurrent spontaneous abortions in Iraqi women. *Med J Babylon*. 2014; 7: 2.
45. Flynn H, Yan J, Saravelos SH, Li TC. Comparison of reproductive outcome, including the pattern of loss, between couples with chromosomal abnormalities and those with unexplained repeated miscarriages. *J Obstet Gynaecol Res*. 2014; 40 (1): 109-16.
46. Turki RF, Banni HA, Assidim M, Al-Qahtani MH, Abduljabbar HS, Jamel HS, Rouzi AA, Abuzenadah AM. Analysis of chromosomal and genetic disorders in patients with recurrent miscarriages in Saudi Arabia. *BMC Genomics*. 2014; 15 (Suppl. 2): P73.
47. Dong Y, Du RC, Jiang YT, Wu J, Li LL, Liu RZ. Impact of chromosomal translocations on male infertility, semen quality, testicular volume and reproductive hormone levels. *J Int Med Res*. 2012; 40 (6): 2274-83.
48. Flannigan R, Schlegel PN. Genetic diagnostics of male infertility in clinical practice. *Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol*. 2017; 44: 26-37.
49. Minocherhomji S, Athalye AS, Madon PF, Kulkarni D, Uttamchandani SA, Parikh FR. A case-control study identifying chromosomal polymorphic variations as forms of epigenetic alterations associated with the infertility phenotype. *Fertil Steril*. 2009; 92 (1): 88-95.
50. Mierla D, Stoian V. Chromosomal polymorphisms involved in reproductive failure in the romanian population. *Balkan J Med Genet*. 2012; 15 (2): 23-8.
51. Morales R, Lledó B, Ortiz JA, Ten J, Llácer J, Bernabeu R. Chromosomal polymorphic variants increase aneuploidies in male gametes and embryos. *Syst Biol Reprod Med*. 2016; 62 (5): 317-24.
52. Jia CW, Wang L, Lan YL, Song R, Zhou LY, Yu L, Yang Y, Liang Y, Li Y, Ma YM, Wang SY. Aneuploidy in Early Miscarriage and its Related Factors. *Chin Med J (Engl)*. 2015; 128 (20): 2772-6.
53. Russo R, Sessa AM, Fumo R, Gaeta S. Chromosomal anomalies in early spontaneous abortions: interphase FISH analysis on 855 FFPE first trimester abortions. *Prenat Diagn*. 2016; 36 (2): 186-91.
54. Kim JW, Lyu SW, Sung SR, Park JE, Cha DH, Yoon TK, Ko JJ, Shim SH. Molecular analysis of miscarriage products using multiplex ligation-dependent probe amplification (MLPA): alternative to conventional karyotype analysis. *Arch Gynecol Obstet*. 2015; 291 (2): 347-54.
55. Jenderny J. Chromosome aberrations in a large series of spontaneous miscarriages in the German population and review of the literature. *Mol Cytogenet*. 2014; 7: 38.
56. Teles TM, Paula CM, Ramos MG, Costa HB, Andrade CR, Coxir SA, Penna ML. Frequency of Chromosomal Abnormalities in Products of Conception. *Rev Bras Ginecol Obstet*. 2017; 39 (3): 110-4.
57. Shen J, Wu W, Gao C, Ochin H, Qu D, Xie J, Gao L, Zhou Y, Cui Y, Liu J. Chromosomal copy number analysis on chorionic villus samples from early spontaneous miscarriages by high throughput genetic technology. *Mol Cytogenet*. 2016; 9: 7.
58. Hardy K, Hardy PJ. 1(st) trimester miscarriage: four decades of study. *Transl Pediatr*. 2015; 4 (2): 189-200.
59. Yakut S, Toru HS, Çetin Z, Özel D, Şimşek M, Mendilcioğlu İ, Lüleci G. Chromosome abnormalities identified in 457 spontaneous abortions and their histopathological findings. *Turk Patoloji Derg*. 2015; 31 (2): 111-8.

Recebido em 15 de Outubro de 2017

Versão final apresentada em 23 de Abril de 2018

Aprovado em 04 de Maio de 2018