

# Estudo citogenético de abortos espontâneos

## *Cytogenetical study on miscarriages*

Aline C.Z. Teixeira<sup>1</sup>; André R.C.P. de Oliveira<sup>2</sup>; Thalita M. Pereira<sup>1</sup>; Adriana N. de Jesus<sup>1</sup>; Melina G. Rodrigues<sup>1</sup>; Renata Salvador<sup>3</sup>; Maria Aparecida de B. Agostinho<sup>2</sup>; Elaine S.O. Rodini<sup>4</sup>

<sup>1</sup>Acadêmica\*; <sup>2</sup>Biólogo\*\*.; <sup>3</sup>Mestre em Ciências Biológicas\*\*.; <sup>4</sup>Professor-Adjunto do Departamento\*

\*Ciências Biológicas – Universidade Estadual Paulista “Julio de Mesquita Filho” – Campus Bauru

\*\*Ambulatório e Laboratório de Genética(ALAGe), Unesp, Bauru

**Resumo** Os abortamentos espontâneos ocorrem por diversas causas, sendo as anomalias cromossômicas do conceito, as mais frequentes. Assim, o estudo citogenético de seus produtos e genitores, seguido do aconselhamento genético aos casais participantes, são condutas essenciais. O presente estudo retrospectivo teve como objetivo investigar os cariótipos de 574 amostras de produtos de abortamentos espontâneos, bem como sangue periférico de casais com abortamentos espontâneos recorrentes, para estimar a frequência de alterações cromossômicas. Os cariótipos foram previamente realizados a partir da cultura de vilosidade coriônica (abortos) e sangue periférico (casais), seguida da técnica de bandeamento G. Concluiu-se que as frequências observadas de alterações cromossômicas entre os abortos (19,69%) e os casais (7,6%) foram concordantes com a literatura, reforçando a importância da análise citogenética nesses casos.

**Palavras-chave** Aborto Habitual; Infertilidade; Aberrações Cromossômicas; Citogenética.

**Abstract** Miscarriages result of several causes, but chromosomal anomalies are the most frequent. Thus, the cytogenetic studies of its products and of the parents, followed by genetic counseling to involved couples, are crucial conducts. The present retrospective work aimed to investigate the karyotypes of 574 samples of miscarriage products, and the peripheral blood of couples involved with recurrent miscarriages in an attempt to estimate the frequencies of chromosomal alterations. Karyotypes were previously made from the culture of chorionic villi (miscarriages) and peripheral blood (couples), followed by the technique of G banding. It was concluded that the observed frequency of abnormal karyotypes among miscarriage products (19.69%) and couples (7.6%) were both consistent with the literature, reinforcing the importance of cytogenetic study in these cases.

**Keywords** Abortion Habitual; Chromosome Aberrations; Cytogenetics.

### Introdução

A incidência de perdas fetais, segundo a literatura, varia de 6,5% a 30% em gestações reconhecidas clinicamente<sup>1</sup>. Se considerarmos aquelas ocorridas antes do reconhecimento da gravidez, essa taxa eleva-se para 33 a 67%<sup>2</sup>. Os abortamentos espontâneos (AE), definidos como interrupção de gravidez antes de 20 semanas de gestação, ocorrem por inúmeras razões. No primeiro trimestre de gestação, cerca de metade são causados por anomalias cromossômicas do conceito<sup>3</sup>, sendo as aneuploidias as mais frequentes<sup>4</sup>. Trissomias são observadas em 50 a 60%, seguidas pela monossomia do X (15 a 25%) e poliplodia (20 a 25%)<sup>5</sup>. Rearranjos cromossômicos estruturais, envolvendo as translocações equilibradas e inversões são as anomalias cromossômicas mais frequentes em casais com abortamentos de repetição<sup>6,7,8</sup>. Há controvérsia quanto às origens materna ou paterna mais comuns responsáveis por esses rearranjos cromossômicos<sup>9</sup>.

A necessidade do estudo da etiologia dos AE é relevante, uma vez que as anomalias cromossômicas constituem as causas mais frequentes de morte pré-natal. É indicada conduta apropriada, que deve ser iniciada a partir da elucidação da causa, seguida de orientações através do aconselhamento genético aos casais envolvidos<sup>8,10,11</sup>. O nascimento de criança saudável antes ou depois de um aborto não exclui a possibilidade de os genitores apresentarem rearranjo cromossômico balanceado<sup>8</sup>, tornando-se também relevante a análise citogenética dos genitores. Assim, os objetivos principais desse trabalho foram identificar cromossomopatias em material de aborto espontâneo e em casais envolvidos com abortamentos espontâneos recorrentes (AER), para descartar rearranjos cromossômicos.

### Casuística e métodos

No período de janeiro de 1998 a dezembro de 2007, foram encaminhados para o estudo citogenético no ALAGe (Ambulatório

e Laboratório de Genética) da Faculdade de Ciências, da Unesp – Bauru, 574 amostras de produtos de AE e 197 casais com AER. Os produtos de AE foram coletados a partir de curetagem uterina e examinados através do método de maceração mecânica<sup>12</sup>. Foram colocados em frascos contendo meio 199, de onde se separaram as vilosidades coriônicas, que foram maceradas e misturadas a uma solução de soro fetal bovino, amniomax basal e amniomax suplemento e posteriormente colocadas em placas de Petri contendo uma lamínula e incubadas em uma estufa a 37°C e 5% de CO<sub>2</sub>. Após três dias, quando as células se fixaram à lamínula, adicionaram-se 2 ml da solução citada anteriormente, sendo mantidas em cultura por 15 dias, aproximadamente. Após esse período a cultura foi interrompida e feito o bandejamento G, com tripsina, para análise das metáfases. Os cariótipos de sangue periférico foram feitos por cultura de linfócitos<sup>13</sup>, com posterior tratamento das lâminas com bandejamento G e análise. Todos os casais envolvidos com os AE foram encaminhados para o aconselhamento genético, após o resultado do cariótipo. Aqueles que haviam tido AER ou cujos produtos apresentaram anomalias estruturais também foram encaminhados para estudo citogenético. O projeto foi aprovado pelo Comitê de Ética em pesquisa da Faculdade de Ciências sob o protocolo 2054107.

### Resultados e discussão

Entre as 574 amostras analisadas, 250 (43,55%) apresentaram cariótipos normais, 113 (19,69%) alterados e em 211 (36,76%) não se obtiveram resultados. As cromossomopatias observadas entre os 113 cariótipos alterados foram: 80 aneuploidias, 23 euploidias e 10 alterações estruturais. A literatura relata também as aneuploidias como as alterações mais frequentes<sup>14</sup>. A aneuploidia mais frequente foi a Síndrome de Turner, apresentando 12 cariótipos 45,X e 5 mosaicismos (45,X/46,XX). A trissomia mais frequente foi a do cromossomo 16, semelhante a relatos da literatura<sup>15</sup>. A elevada taxa de cariótipos sem resultados (36,76%) deveu-se ao número reduzido de células viáveis em mitose. Isso pode acontecer devido ao fato de que muitos abortos permanecem retidos por um tempo prolongado antes da curetagem, ou o material recebido pelo laboratório apresentar contaminação por bactérias e/ou fungos, material materno, ou ainda escassez de vilosidade coriônica. A análise citogenética dos 197 casais que apresentaram AER, mostrou que 15 (7,6%) deles apresentavam alterações estruturais em um dos cônjuges, envolvendo, principalmente, inversão do cromossomo 9 e translocações equilibradas. Uma alternativa para caracterizar mais satisfatoriamente os fatores genéticos subjacentes a abortamentos espontâneos de primeiro trimestre, seria realizar a rotina citogenética de cariótipo em conjunto com abordagens da genética molecular, como genotipagem de microssatélites e arrayCGH<sup>16</sup>. No entanto, a análise citogenética da vilosidade ainda pode ser considerada como o método mais abrangente, razoavelmente rápido, eficaz e confiável para detectar um amplo espectro de anormalidades cromossômicas em abortos espontâneos<sup>11</sup>.

### Conclusão

Os resultados obtidos concordam com a literatura pertinente e reforçam a importância de se realizar cariótipo em produtos de AE e em genitores com AER, principalmente quando o material de aborto (mesmo que não recorrente) apresenta alterações estruturais. Uma conduta necessária é a aplicação do aconselhamento genético para casais envolvidos com os abortamentos espontâneos<sup>11</sup>. Além desse procedimento auxiliar o casal no entendimento das causas, alerta para a prevenção de novos abortos e o nascimento de conceitos malformados. A emissão de laudos citogenéticos para o médico que encaminha o material para análise, bem como informações sobre o diagnóstico da perda fetal, são relevantes para o esclarecimento do profissional quanto à necessidade desse estudo. O profissional esclarecido poderá prestar um serviço de maior qualidade aos seus pacientes.

### Referências bibliográficas

1. Jansen RPS. Spontaneous abortion incidence in the treatment of infertility. *Am J Obstet Gynecol.* 1982;143:451-73.
2. Hook EB. Chromosome abnormalities: prevalence, risks and recurrence. In: Brock DJH, Rodeck CH, Ferguson-Smith M, editors. "Prenatal diagnosis and screening". Edinburgh: Churchill Livingstone; 1992. p: 351-92.
3. Jacobs PA, Hassold TJ. Chromosome abnormalities: origin and etiology in abortions and live births. In: 7<sup>th</sup> International Congress; 1986; Berlin. Proceedings. *Hum Gen.* 1987. p. 233-44.
4. Tsuribe PM. Estudo citogenético em produtos de abortamento [tese]. Botucatu: Universidade Estadual Paulista; 2000.
5. Glass RH, Golbus MS. Habitual abortion. *Fertil. Steril.* 1978;29(3):257-65.
6. Simpson JL, Meyers CM, Martin AO, Elias S, Ober C. Translocations are infrequent among couples having repeated spontaneous abortions but no other abnormal pregnancies. *Fertil. Steril.* 1989;51:811-4.
7. Souza MO, Capannacci J, Agostinho MAB, Rodini ESO. Estudo Citogenético em casais com abortamentos espontâneos recorrentes. *Arq Ciênc Saúde.* 2004;11(1):17-9.
8. Düzcan F, Atmaca M, Cetin GO, Bagci H. Cytogenetic studies in patients with reproductive failure. *Acta Obstet Gynecol Scand.* 2003;82:53-6.
9. Badovinac AR, Tomljanovi AB, Evi NS, Kapovi M, Vlasteli I, Randi L. Chromosome studies in patients with defective reproductive success. *Am J Reprod Immun.* 2000;44(5):279-83.
10. Garcia MRS. Aconselhamento genético direcionado ao abortamento espontâneo: um estudo do nível de entendimento dos propósitos [tese]. Botucatu: Universidade Estadual Paulista; 2004.
11. Morales C, Sánchez A, Bruguera J, Margarit E, Borrell A, Borobio V, et al. Cytogenetic study of spontaneous abortions using semi-direct analysis of chorionic villi samples detects the broadest spectrum of chromosome abnormalities. *Am J Med Genet.* 2008;1:66-70.
12. Heaton DE, Czepulkowski BH, Horwell DH, Coleman DV.

Chromosome analysis of first trimester chorionic villus biopsies prepared by a maceration technique. *Prenat Diagn.* 1984;4:279-87.

13. Moorhead PS, Nowell PC, Mellman WJ, Battips DM, Hungerford DA. Chromosome preparations of leukocytes cultured from human peripheral blood. *Exp Cell Res.* 1960;20:613-6.

14. Santos CB, Boy RT, Santos JM, Silva MPS, Pimentel MMG. Chromosomal investigations in patients with mental retardation and/or congenital malformations. *Genet Mol Biol.* 2000; 23:703-7.

15. Kondo Y, Tsukshiro S, Tanemura M, Sugiura-Ogasawara M, Suzumori K, Sonta S. Maternal uniparental disomy of chromosome 16 in a case of spontaneous abortion. *J Hum Genet.* 2004;49(4):177-81.

16. Zhang YX, Zhang YP, Gu Y, Guan FJ, Li SL, Xie JS, et al. Genetic analysis of first-trimester miscarriages with a combination of cytogenetic karyotyping, microsatellite genotyping and arrayCGH. *Clin Genet.* 2009;75:133-40.

---

**Correspondência:**

Elaine S. de Oliveira Rodini

Departamento de Ciências Biológicas UNESP

Av. Engº Luiz Edmundo Carrijo Coube 14-01, Vargem Limpa

17033-360 - Bauru - SP

Tel.: (14)3103-6048

e-mail: elaine@fc.unesp.br

---