

AVALIAÇÃO CITOGENÉTICA EM CASAIS COM HISTÓRICO DE ABORTAMENTOS ESPONTÂNEOS RECORRENTES

Giovana Zucchetti¹
Mariana Saikoski Faller²
Sharbel Weidner Maluf³
Juliana da Silva⁴

RESUMO

As anomalias cromossômicas estão entre as causas mais comuns de abortamentos espontâneos, principalmente na população de indivíduos com abortos recorrentes. No presente estudo, foram avaliados os cariótipos de sangue periférico de 270 casais, com histórico de abortos espontâneos, encaminhados ao Laboratório de Citogenética e Citogenética Molecular do Hospital de Clínicas de Porto Alegre, para se investigar a presença de rearranjos cromossômicos. Os resultados mostraram que a frequência de alterações cromossômicas foi aproximadamente 7%, principalmente envolvendo translocações e inversões. A análise evidenciou 20 cariótipos alterados, sendo 5,18% (14/270) em mulheres e 2,22% (6/270) em homens.

Palavras-chave: Aborto espontâneo, aborto recorrente, alterações citogenéticas, translocações.

ABSTRACT

The chromosomal abnormalities are among the most common causes of miscarriages, mainly in the population of individuals with recurrent abortion. In this study, we evaluated the karyotypes of peripheral blood of 270 couples with a history of miscarriages, referred to the Laboratory of Cytogenetics and Molecular Cytogenetics, Hospital de Clínicas de Porto Alegre, to investigate the presence of chromosomal rearrangements. The results showed that the frequency of chromosomal alterations was approximately 7%, mainly involving translocations and inversions. The analysis showed 20 modified karyotypes, and 5.18% (14/270) in women and 2.22% (6/270) in men.

Keywords: Miscarriages, recurrent abortion, cytogenetic alterations, translocation.

INTRODUÇÃO

A etiologia da perda fetal recorrente é multifatorial e, na maioria dos casos, não é completamente esclarecida. As causas principais referem-se à incompatibilidade imunológica materno-fetal, alterações da morfologia uterina, prejuízo da função

¹ Bióloga/ULBRA

² Bióloga - Pesquisadora no Laboratório de Citogenética e Citogenética Molecular/Hospital de Clínicas de Porto Alegre e Embriologista na Segir

³ Biólogo – Geneticista, professor visitante do Programa de Pós-Graduação em Farmácia/UFSC.

⁴ Professora – Orientadora do curso de Biologia e do Programa de Pós-Graduação em Biologia Celular e Molecular Aplicada à Saúde/ULBRA (juliana.silva@ulbra.br)

placentária, trombofilia materna e rearranjos cromossômicos nos gametas maternos ou paternos (DUZCAN et al., 2003; KISS et al., 2009; MALUF et al., 2011; REGAN; RAI, 2000; RUBIO et al., 2003; SOUZA et al., 2004; TORRY; HINRICHS; TORRY, 2004). Estes têm importância particular, uma vez que podem levar ao nascimento de criança portadora de malformações. Os gametas que apresentam alterações estruturais originam-se, na maioria das vezes, de translocações cromossômicas equilibradas presentes na mãe ou no pai (ABREU; SARTORELLI; PEREIRA, 2008; CERONI et al., 2013; MALUF et al., 2011; MINOCHERHOMJI et al., 2008; VIEIRA; FERRARI, 2011).

Os fatores genéticos são considerados como os mais relevantes na natureza da perda fetal espontânea. Estudos em material de aborto revelam que 50 a 60% dos conceitos de primeiro trimestre abortados naturalmente apresentam alterações cromossômicas e cerca de 5 a 10% dos casais com fracassos reprodutivos apresentam, em pelo menos um cônjuge, translocações equilibradas e/ou inversões (BASTOS et al., 2014; KISS et al., 2009; NAGAISHI et al., 2004; PHILIPP et al., 2003; RODRIGUES et al., 2014; SIMPSON, 2007; SUGIURA-OGASAWARA et al., 2004; TUNÇ et al., 2007). As causas associadas ao abortamento espontâneo recorrente têm sido extensamente discutidas nos últimos anos e estima-se que a taxa de perdas precoces entre as gestações clinicamente reconhecidas esteja entre 5 e 15%, afetando cerca de 2% da população em idade reprodutiva. Em relação à origem materna ou paterna dos rearranjos cromossômicos associada à recorrência dos abortamentos espontâneos, os relatos diferem. Alguns atribuem ao pai portador a maior frequência de perdas reprodutivas, enquanto outros discordam e apontam a origem materna (BADOVINAC et al., 2000).

Considerando-se a importância de se investigar os cariótipos dos casais envolvidos com a perda fetal espontânea recorrente, elaborou-se o presente trabalho que teve como objetivo o estudo citogenético de 270 casais com história de pelo menos dois abortos consecutivos, para se detectar a frequência de rearranjos cromossômicos e avaliar sua importância nas perdas reprodutivas.

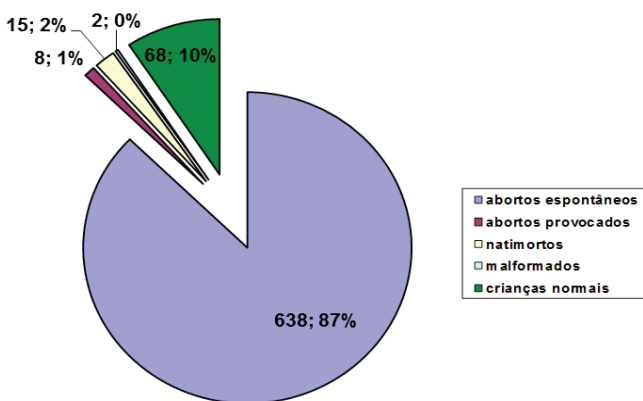
MATERIAIS E MÉTODOS

Foram avaliados os cariótipos de sangue periférico de 270 casais com história de pelo menos dois abortamentos espontâneos consecutivos em primeiro e segundo trimestre de gestação, que foram encaminhados ao Laboratório de Citogenética e Citogenética Molecular do Serviço de Genética Médica do Hospital de Clínicas de Porto Alegre, durante o período de novembro de 1996 a junho de 2008. Foi utilizado protocolo estabelecido no laboratório, sendo feitas culturas de linfócitos de sangue periférico (MOORHEAD et al., 1960) utilizando-se as técnicas de bandeamento G (AMERICAN COLLEGE OF MEDICAL GENETICS, 2008) e analisando cerca de 15 metáfases de cada indivíduo. Nos cariótipos alterados, foram estabelecidos os critérios da *International System for Human Cytogenetic Nomenclature-ISCN* (SHAFFER; TOMMERUP, 2005). Os resultados dos exames de cariótipo foram encaminhados aos médicos responsáveis pelas solicitações e a avaliação final adicionada ao banco de dados (planilha do programa Excel). Este banco de dados foi utilizado para o presente estudo.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

As idades maternas e paternas dos 270 casais variaram de 17 a 45 anos ($30,60 \pm 6,00$) e de 21 a 60 anos ($33,90 \pm 6,08$), respectivamente. Foi relatado um total de 731 gestações para estes casais, sendo 638 resultantes de abortamentos espontâneos e 8 de abortamentos provocados. Entre as gestações a termo nasceram 68 crianças normais, 15 natimortos e 2 crianças malformadas (Figura 1).

Figura 1- Características das gestações dos 270 casais.



As perdas fetais ocorreram mais frequentemente entre a oitava e a décima semana de gestação, durante o primeiro trimestre (Tabela 1). Perdas principalmente durante o primeiro trimestre já foram descritas na literatura (WARREN; SILVER, 2008). O estudo citogenético (cariótipos) revelou 12 casos de alterações cromossômicas (5 translocações e 6 inversões) e 8 casos de polimorfismos em 20 casais (Tabela 2). Nessa amostra foi observada uma prevalência de 6 homens (30%) e 14 mulheres (70%) que apresentaram algum tipo de alteração cromossômica. As alterações cariotípicas foram identificadas nos casais que apresentaram abortamento principalmente durante o primeiro trimestre (80%).

Tabela 1 - História reprodutiva dos casais estudados.

Períodos das perdas	Número de Casais		
	2 abortos	3 ou mais abortos	Total
1º trimestre de gestação	116	113	229
2º trimestre de gestação	23	6	29
1º/2º trimestre de gestação*	8	4	12
Total	147	123	270

*1º/2º Trimestre da Gestação: casais que apresentaram abortamentos nos dois períodos.

A análise evidenciou o total de 20 cariótipos alterados, correspondendo a uma frequência de 5,18% (14/270) em mulheres e 2,22% (6/270) em homens (Tabela 2). As idades maternas e paternas dos indivíduos que apresentaram alteração cariotípica foram de $29,8 \pm 7,6$ e de $31,7 \pm 7,4$ anos, respectivamente. A frequência de rearranjos cromossômicos estruturais observada no presente estudo foi de 7% (20/270), semelhante à descrita na literatura (YAMADA et al., 2004). Embora as translocações sejam mais frequentemente relatadas, as inversões também desempenham um papel importante na perda fetal (CELEP et al., 2006; CERONI et al., 2013; CLEMENTINI et al., 2005; HOGGE et al., 2003; MALUF et al., 2011; RODRIGUES et al., 2014).

Tabela 2 - Achados citogenéticos para os 270 casais avaliados.

Paciente (Idade;Período aborto)	Cariótipo	Tipo de Alteração
I (26; 1° trim)	45,XY,der(21;22)(q10;q10)[10]/ 46,XY [20]	Translocação Robertsoniana
II(43; 1° e 2° trim)	46,XX,t(8;12)(p21;p13)	Translocação Recíproca
III(29; 1° trim)	46,XY,t(1;17)(q42;q25)	Translocação Recíproca
IV(19; 1° trim)	46,XX,t(1;11) (q44;q13)	Translocação Recíproca
V(22; 1° trim)	46,XX,t(2;7)(p13;q36)	Translocação Recíproca
VI(34; 1° trim)	46,XX,add(15)(p11)	Material adicional
VII(23; 1° trim)	46,XX,inv(9) (p11;q12)	Inversão
VIII(21; 1° trim)	46,XX,inv(9) (p11;q12)	Inversão
IX(31; 1° trim)	46,XX,inv(9) (p11;q12)	Inversão
X(31; 1° trim)	46,XX,inv(9) (p11;q12)	Inversão
XI(42; 1° trim)	46,XY,inv(9) (p11;q12)	Inversão
XII(43; 1° e 2° trim)	46,XX, inv(10) (p11;q21)	Inversão
XIII(34; 1° trim)	46,XX, 9qh+	Polimorfismo
XIV(33; 1° e 2° trim)	46,XX, 9qh+	Polimorfismo
XV(30; 1° trim)	46,XX, 9qh+	Polimorfismo
XVI(23; 1° trim)	46,XX, 9qh+	Polimorfismo
XVII(22; 1° e 2° trim)	46,XY, 9qh+	Polimorfismo
XVIII(34; 1° trim)	46,XY, 9qh+	Polimorfismo
XIX (37; 1° trim)	46,XY, 9qh+	Polimorfismo
XX(30; 1° trim)	46,XX, 21ps+	Polimorfismo
TOTAL	-	20

Neste estudo foi observado que 2% dos casais apresentaram translocações e 2,5% algum tipo de inversão. Estes achados são semelhantes aos encontrados na literatura (STEPHENSON; SIERRA, 2006; SIMPSON, 2007; BASTOS et al., 2014). Em relação aos indivíduos com alterações encontramos 20% (4/20) com translocações recíprocas (não-Robertsoniana) e 5% (1/20) com translocação Robertsoniana, diferente de Warren e Silver (2008) que colocam um achado de 50% e 24% de translocações recíprocas e robertsonianas, respectivamente.

Os polimorfismos descritos no presente trabalho mostraram uma frequência semelhante à encontrada nos demais trabalhos, mas não se pode relacioná-los à ocorrência da perda fetal enquanto outros estudos direcionados não forem realizados. Não se observou

na literatura nenhuma informação associando polimorfismos à perda fetal (IYER et al., 2007; MALUF et al., 2011).

Não existe um consenso quanto à realização de análise cromossômica após a ocorrência de dois ou três abortos recorrentes. Existem pelo menos duas correntes que divergem sobre o assunto. O *Royal College of Obstetricians and Gynaecologists* recomenda o exame de cariótipo após três abortos, enquanto o *American College of Obstetricians and Gynaecologists* e a *Dutch Society of Obstetrics and Gynaecology* recomendam a análise cromossômica após dois abortos.

CONCLUSÕES

As perdas fetais ocorreram durante o primeiro trimestre, entre a 8ª e 10ª semana, onde apresentou uma frequência de rearranjos cromossômicos (translocações, inversões e material adicional) de 4,5%. Translocações recíprocas e robertsonianas representam 20% e 5%, respectivamente, dos achados. A indicação de estudos citogenéticos em casais com história de abortamentos espontâneos recorrentes demonstra ser muito importante, sendo indicada para aqueles casais com histórico de pelo menos dois abortamentos no primeiro trimestre de gestação e de causa não esclarecida, independente das idades maternas e paternas, para poder se esclarecer a etiologia da perda fetal e prevenir a malformação congênita.

REFERÊNCIAS

- ABREU, L. S.; SARTORELLI, E. M. P.; PEREIRA, E. T. Citogenética de casais inférteis. **Arq Catarin Med**, v. 37, n. 1, p. 11-17, 2008.
- AMERICAN COLLEGE OF MEDICAL GENETICS. **Standards and Guidelines for Clinical Genetics Laboratories**. 2006. Disponível em: <http://www.acmg.net/Pages/ACMG_Activities/stds-2002/e.htm>. Acesso em: 13 out. 2008.
- BADOVINAC, A. R. et al. Chromosome studies in patients with defective reproductive success. **Am J Reprod Immunol**, v. 44, n. 5, p. 279-283, 2000.
- BASTOS, R.; RAMALHO, C.; DÓRIA, S. Estudos da prevalência de anomalias cromossômicas em abortamentos espontâneos ou mortes fetais. **Acta Med Port**, v. 27, n. 1, p. 42-48, 2014.
- CELEP, F. et al. The frequency of chromosomal abnormalities in patients with reproductive failure. **Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol**, v. 127, n., 1, p. 106-109, 2006.
- CERONI, J. R. M. et al. Abortamento espontâneo de repetição em paciente portadora de translocação cromossômica balanceada. **Rev Fac Ciênc Méd Sorocaba**, v. 15, n. 4, p. 133-135, 2013.
- CLEMENTINI, E. et al. Prevalence of chromosomal abnormalities in 2078 infertile couple referred for assisted reproductive techniques. **Hum Reprod**, v. 20, n. 2 p. 437-442, 2005.

- DUZCAN, F. et al. Cytogenetic studies in patients with reproductive failure. **Acta Obstet Gynecol Scand**, v. 82, n. 1, p. 53-56, 2003.
- HOGGE, W. A. et al. The clinical use of karyotyping spontaneous abortions. **Am J Obstet Gynecol**, v. 189, n. 2, p. 397-400, 2003.
- IYER, P. et al. Cytogenetic investigations in couples with repeated miscarriages and malformed children: report of a novel insertion. **Reprod Biomed Online**, v. 14, n. 3, p. 314-321, 2007.
- KISS, A. et al. Anormalidade cromossômicas em casais com história de aborto recorrente. *Rev Bras Ginecol Obstet*, v. 31, n. 2, p. 68-74, 2009.
- MALUF, S. W. et al. **Citogenética Humana**. Porto Alegre: Artmed, 2011.
- MINOCHERHOMJI, S. et al. A case-control study identifying chromosomal polymorphic variations as forms of epigenetic alterations associated with the infertility phenotype. **Fert Steril**, v. 92, n. 1, p. 88-95, 2008.
- MOORHEAD, P. S. et al. Chromosome preparations of leukocytes cultured from human peripheral blood. **Exp C Res**, v. 20, n. 1, p. 613-617, 1960.
- NAGAISHI, M. et al. Chromosome abnormalities identified in 347 spontaneous abortions collected in Japan. **J Obstet Gynaecol Res**, v. 30, n. 3, p. 237-241, 2004.
- PHILIPP, T. et al. Embryoscopic and cytogenetic analysis of 233 missed abortions: factors involved in the pathogenesis of developmental defects of early failed pregnancies. **Hum Reprod**, v.18, n. 8, p. 1724-32, 2003.
- REGAN, L.; RAI, R. Epidemiology and the medical causes of miscarriage. **Baillieres Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol**, v. 14, n. 5, p. 839-854, 2000.
- RODRIGUES, D. D. et al. Abortamentos em paciente com cariótipo 46,XY t(1;20)(q25q12): Relato de caso. **Estudos (Goiânia)**, v. 41, n. esp., p. 41-46, 2014.
- RUBIO, C. et al. Chromosomal abnormalities and embryo development in recurrent miscarriage couples. **Hum Reprod**, v. 18, n. 1, p. 182-188, 2003.
- SHAFFER, L. G.; TOMMERUP, N. **ISCN 2005: International System for Human Cytogenetic Nomenclature**. Basel: Karger, 2005.
- SIMPSON, J. L. Causes of Fetal Wastage. **Clin Obstet Gynecol**, v. 50, n. 1, p. 10-30, 2007.
- SOUZA, M. O. et al. Cytogenetic studies in couples with recurrent miscarriages. **Arq Ciênc Saúde**, v. 11, n. 1, p. 17-19, 2004.
- STEPHENSON, M. D.; SIERRA, S. Reproductive outcomes in recurrent pregnancy loss associated with a parental carrier of a structural chromosome rearrangement. **Hum Reprod**, v. 21, n. 4, p. 1076-1082, 2006.
- SUGIURA-OGASAWARA, M. et al. Poor prognosis of recurrent aborters with either maternal or paternal reciprocal translocations. **Fertil Steril**, v. 81, n. 2, p. 364-373, 2004.

TORRY, D. S.; HINRICH, M.; TORRY, R. J. Alterações vasculares na placenta levando ao aborto relacionados ao receptor no fator de crescimento placentário (PIGF). **Am J Reprod Immunol**, v. 51, n. 4, p. 257-268, 2004.

TUNÇ, E. et al. Cytogenetic study of recurrent miscarriages and their parents. **Russian J Genetics**, v. 43, n. 4, p. 437-443, 2007.

VIEIRA, S. R.; FERRARI, L. P. Investigação de alterações citogenéticas em abortos espontâneos: um retrospecto de 2006 a 2011. **Cadernos da Escola de Saúde**, v. 2, n. 1, p. 1-20, 2011.

WARREN, J. E.; SILVER, R. M. Genetics of Pregnancy Loss. **Clin Obstet Gynecol**, v. 51, n. 1, p. 84-95, 2008.

YAMADA, H. et al. Decrease in a specific killer cell immunoglobulin – like receptor on peripheral natural killer cells in women with recurrent spontaneous abortion of unexplained etiology. **Am J Reprod Immunol**, v. 51, n. 3, p. 241-247, 2004.