

# Estudo da Prevalência de Anomalias Cromossômicas em Abortamentos Espontâneos ou Mortes Fetais



## Prevalence of Chromosomal Abnormalities in Spontaneous Abortions or Fetal Deaths

Raquel BASTOS<sup>1</sup>, Carla RAMALHO<sup>2</sup>, Sofia DÓRIA<sup>3</sup>  
*Acta Med Port* 2014 Jan-Feb;27(1):42-48

### RESUMO

**Introdução:** O abortamento espontâneo é um dos problemas mais frequentes da gravidez, estimando-se que afete, pelo menos, 25% das mulheres que tentam engravidar. O objetivo principal deste trabalho foi o estudo da prevalência das anomalias cromossômicas em perdas gestacionais, analisando a sua relação com a idade materna, idade gestacional e história de abortamentos prévios.

**Material e Métodos:** Realizou-se um estudo retrospectivo em 401 casos de perdas de gravidez que efetuaram análise citogenética e anátomo-patológica, entre janeiro de 2008 e junho de 2012, no Centro Hospitalar de S. João.

**Resultados:** Dos 401 casos enviados para estudo citogenético foi possível obter informação sobre o complemento cromossômico em 333 casos, dos quais 72,7% apresentaram cariótipo normal e 27,3% cariótipo anormal. As aneuploidias representaram 92,3% das cromossomopatias identificadas, sendo as trissomias as mais frequentes, associadas a uma idade materna avançada e a uma idade gestacional precoce. Não se verificou concordância entre os resultados da análise anátomo-patológica e citogenética.

**Discussão e Conclusão:** A prevalência de anomalias cromossômicas, no primeiro trimestre, foi semelhante entre os casos de abortamento esporádico e recorrente. Com o aumento da idade materna observou-se um aumento das trissomias, com um incremento médio de 7,4% no risco de ocorrência por ano. Não foi estabelecida uma correlação cariótipo-patológica significativa. A contaminação materna da amostra foi o principal entrave à determinação exata da prevalência de anomalias cromossômicas. As técnicas de citogenética molecular já disponíveis podem colmatar esta e outras limitações da técnica convencional.

**Palavras-chave:** Abortamento Espontâneo/genética; Aberrações Cromossômicas; Anomalias Cromossômicas; Infertilidade Feminina/genética; Portugal.

### ABSTRACT

**Introduction:** Spontaneous abortion is one of the most frequent problems of pregnancy, estimated to affect, at least, one in every four women who tries to conceive. The main purpose of this work was to study the prevalence of chromosomal abnormalities in gestational losses, evaluating their relation with maternal age, gestational age and previous abortion history.

**Material and Methods:** Retrospective study of 401 pregnancy loss cases that have gone through cytogenetic and anatomopathologic analysis between January 2008 and June 2012, in Centro Hospitalar de S. João, Oporto.

**Results:** Of the 401 cases sent to cytogenetic study, it was possible to obtain information about the chromosomal complement in 333 cases, of which 72.7% showed normal karyotype, and 27.3% abnormal karyotype. Aneuploidies represented 92.3% of the identified chromosomopathies, with trisomies being the most frequent, related with an advanced maternal age and an early gestational age. There was no agreement between the results of the cytogenetic and the anatomopathologic analysis.

**Discussion/Conclusion:** The prevalence of chromosomal abnormalities, during the first trimester, is similar between sporadic and recurrent miscarriages. With increased maternal age, trisomies, the most frequent type of aneuploidy, are more likely to occur, with a mean increment in probability of 7.4% per year. A significant karyotype-pathological correlation was not established. Maternal contamination is the main obstacle to the accurate determination of the prevalence of chromosomal abnormalities. The molecular cytogenetic techniques already available can overcome the limitations of the conventional technique.

**Keywords:** Abortion, Spontaneous/genetics; Chromosome Aberrations; Chromosome Disorders; Infertility, Female/genetics; Portugal.

### INTRODUÇÃO

O abortamento espontâneo é um problema frequente durante a gravidez, estimando-se que afete cerca de 25 a 50% das mulheres que tentam engravidar, apesar de apenas 15% dos casos serem clinicamente reconhecidos.<sup>1,2</sup> Sabe-se que a maioria dos abortamentos ocorre nas primeiras semanas de gestação, especialmente até às 14 semanas.<sup>1</sup> Embora grande parte dos abortamentos seja esporádico, 1-3% dos casais sofre abortamento recorrente, definido como a perda consecutiva de três ou mais gravidezes, com um ainda maior impacto psicossocial.<sup>1,3,4</sup>

Várias patologias têm sido atribuídas como causa de abortamento esporádico, representando as anomalias cro-

mossômicas no produto de concepção cerca de 50-60% dos casos.<sup>2,5,6</sup> A maioria destas anomalias são numéricas (95%), sendo as trissomias as mais prevalentes (60%), mais comumente a trissomia 16, seguidas das poliploidias e da monossomia X.<sup>1,2</sup> No que diz respeito ao abortamento recorrente, a literatura não é tão consensual quanto à frequência das anomalias cromossômicas, existindo autores que afirmam que ocorrem com frequência semelhante à de abortamento esporádico<sup>7-10</sup> e outros que defendem uma menor frequência.<sup>11,12</sup>

O aumento da idade materna está relacionado com um aumento de anomalias cromossômicas no produto de con-

1. Faculdade de Medicina. Universidade do Porto. Porto, Portugal.

2. Departamento de Ginecologia e Obstetrícia. Faculdade de Medicina. Universidade do Porto / Centro Hospitalar S. João. Porto, Portugal.

3. Departamento de Genética. Faculdade de Medicina. Universidade do Porto, Portugal.

Recebido: 05 de Agosto de 2013 - Aceite: 04 de Outubro de 2013 | Copyright © Ordem dos Médicos 2014



ção e, consequentemente, de abortamentos espontâneos.<sup>2,10,13,14</sup> Ao longo dos anos, e em todo o mundo, vai-se tornando evidente um adiamento progressivo da maternidade com um aumento significativo da idade da primeira gravidez. Em Portugal, num período de apenas 10 anos (1998-2008), houve um incremento no número de partos acima dos 40 anos (de 1,8% para 3,2%) bem como uma mudança do grupo etário em que se verificou a maioria dos mesmos: dos 25-29 anos para os 30-34 anos.<sup>15</sup> Este aumento da idade materna está relacionado com uma maior taxa de abortamentos espontâneos e perdas fetais, seguindo uma curva em 'J' com degrau de aumento aos 35 anos.<sup>16</sup> Tal facto traduz-se num aumento da proporção de cariótipo fetal anormal: 51-54% em mulheres com menos de 35 anos e 74-76% em mulheres mais velhas.<sup>10,17</sup>

Tendo em conta as probabilidades na altura da fecundação, seria de prever o mesmo número de embriões masculinos como femininos. No entanto, existe uma distorção desta relação aquando do parto, nascendo um maior número de fetos do sexo masculino numa relação de aproximadamente 1,05<sup>18,19</sup> (1,053 em Portugal, em 2011).<sup>20</sup>

Assim, tendo em conta o enorme impacto das anomalias cromossómicas no sucesso da gravidez, tivemos, como principais objetivos neste trabalho, a identificação das anomalias cromossómicas mais comuns em abortamentos espontâneos ou mortes fetais, e avaliar a relação destas com idade gestacional, idade materna e história de abortamentos prévios. Adicionalmente, também avaliámos o número relativo de produtos de abortamento do sexo feminino e masculino e a concordância dos resultados obtidos pelo estudo citogenético e anátomo-patológico.

## MATERIAL E MÉTODOS

O presente estudo envolveu a análise retrospectiva dos resultados obtidos pelo estudo citogenético e anátomo-patológico dos produtos de abortamento espontâneo ou morte fetal, ocorridos no Centro Hospitalar de S. João, entre janeiro de 2008 e junho de 2012.

Realizou-se a consulta dos processos clínicos e foi recolhida informação quanto à idade e história obstétrica prévia

da grávida, idade gestacional aquando da perda da gravidez, e resultados da análise genética e anátomo-patológica do produto de abortamento. Este estudo foi aprovado pela Comissão de Ética para a Saúde do Centro Hospitalar de São João/Faculdade de Medicina da Universidade do Porto (FMUP).

Os critérios para estudo citogenético foram os seguintes: interrupções médicas da gravidez; casos de mortes fetais e abortamentos tardios; abortamentos precoces de repetição (mais de 2); e abortamento em casal portador de anomalia cromossómica conhecida. Para o estudo de abortamentos espontâneos, as interrupções médicas da gravidez foram excluídas, evitando um possível enviesamento nos resultados. Além dos que cumpriam os critérios anteriormente referidos, a série de casos analisada incluiu, ainda, abortamentos espontâneos ocorridos em primigestas, no âmbito de um projeto de investigação previamente existente.

Tendo em conta a idade gestacional aquando do abortamento, os produtos analisados foram distribuídos por trimestres gestacionais: o primeiro até às 12 semanas, o segundo entre as 13 e as 24 e o terceiro a partir das 24 semanas de gestação. Para a avaliação do impacto da idade materna nos resultados, definiram-se, também, três grupos de idades: mulheres com menos de 35 anos, entre os 35 e os 39 anos e com mais de 40 anos de idade.

Com o objetivo de estabelecer uma correlação entre a informação anátomo-patológica e a citogenética (cariótipo normal ou anormal), optou-se por estabelecer seis grupos tendo em conta o resultado sugerido pela análise anátomo-patológica: (1) provável cromossomopatia; (2) sem aparente implantação adequada; (3) embrião/tecido embrionário com aparente crescimento desorganizado; (4) provável infeção; (5) indicação de restrição de crescimento fetal; (6) outras, em que foram incluídas todas as restantes indicações.

A análise genética consistiu na realização das técnicas de Multiplex Ligation-dependent Probe Amplification (MLPA), usando o *kit* comercial P095 (MRC Holland, Amsterdam, The Netherlands) e o cariótipo por bandas GTL,

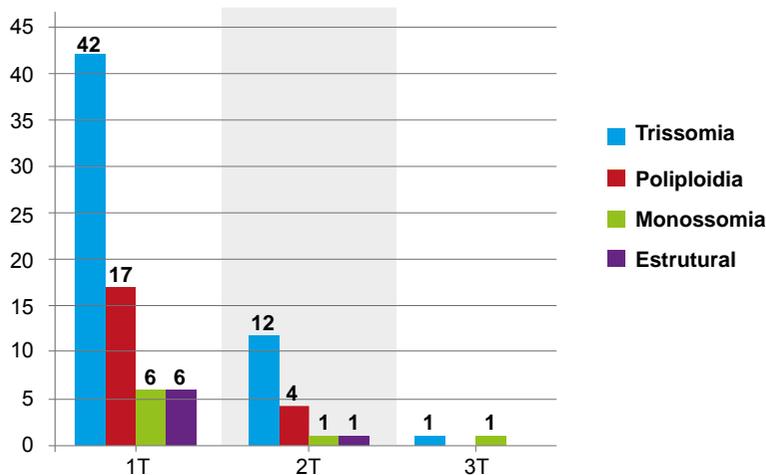


Figura 1 - Número absoluto das cromossomopatias identificadas em cada trimestre gestacional

Tabela 1 - Descrição das anomalias estruturais encontradas e respetiva informação clínica

Anomalias Estruturais	Idade materna	Recorrência	Trimestre
45,X[26]/46,X,del(X)(q)[22]/46,XX[2]	< 35	Não	1º
46,XX,der(8)t(6;8)(q13;p23,1)mat	< 35	Sim	1º
46,XX,dup(15)(q12q13)mat	35 – 39	Sim	1º
45,XX,dup(1q),der(13;14)	35 – 39	Não	2º
46,XX, der(22)	35 – 39	Não	1º
46,XX,i(8)(q11,1)	< 35	Não	1º
47,XX,mar[3]/46,XX[27]	< 35	Não	1º

de acordo com protocolos estabelecidos previamente no Departamento de Genética da FMUP, onde a análise foi realizada.<sup>21,22</sup>

Foi efetuado o estudo estatístico dos dados obtidos utilizando os programas Microsoft Office Excel 2007 e IBM SPSS Statistics 20. Utilizou-se o teste de t-Student tanto para validar a amostra a nível da distribuição e dispersão, como para, em conjunto com o teste qui-quadrado, verificar a significância entre variáveis. Utilizou-se, igualmente, o modelo de regressão logística para análise multivariável e criação de modelos de risco. Foram considerados significativos valores  $p < 0,05$ .

## RESULTADOS

De acordo com os critérios anteriormente referidos, foi realizado estudo citogenético a 401 produtos de abortamento espontâneo ou de morte fetal, dos quais 251 ocorreram no primeiro, 118 no segundo e, apenas, 32 no terceiro trimestre de gravidez.

A análise cromossómica não foi conclusiva, verificando-

-se insucesso de cultura, em 20,0% (80/401) da totalidade de casos analisados. Este insucesso verificou-se em 21,5% (54/251) dos casos do primeiro trimestre, 12,7% (15/118) do segundo e 34,4% (11/32) do terceiro. Em 12 destes 80 casos, a análise pela técnica de MLPA permitiu a identificação de aneuploidia ou de material genético masculino, tendo-se incluído estes casos na totalidade da amostra analisada. Assim, dos 401 produtos de abortamento enviados para estudo genético foi possível obter informação sobre o complemento cromossómico em 333 (83,0%), dos quais 72,7% (242/333) apresentavam cariótipo normal e 27,3% (91/333) cariótipo anormal.

Considerando os casos com cariótipo anormal, em 92,3% (84/91) identificaram-se anomalias numéricas, sendo as trissomias a alteração cromossómica mais comum (55/84; 65,5%). A trissomia 16 ( $n = 17$ ; 30,9%) foi a anomalia mais frequente, seguida da trissomia 18 ( $n = 12$ ; 21,8%) e da 21 ( $n = 8$ ; 14,5%). Identificaram-se, ainda, 21 casos de poliploidia (25,0%) e sete de monossomia X (8,3%) (Fig.1). Adicionalmente, foram encontradas sete anomalias estru-

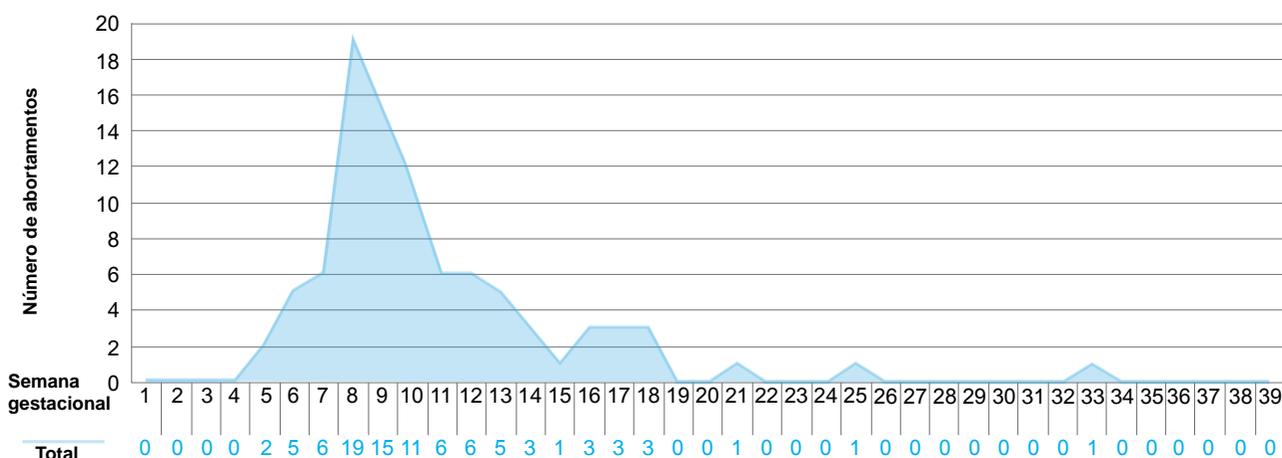


Figura 2 - Distribuição do número total de abortamentos espontâneos, ou mortes fetais, por semana gestacional

turais, cuja descrição está apresentada na Tabela 1. Em dois destes casos verificou-se que a alteração herdada era de origem materna, sendo as restantes alterações 'de novo'.

Verificou-se que 78,0% (71/91) dos casos de cromossomopatia ocorreram no primeiro trimestre, 19,8% (18/91) no segundo e 2,2% (2/91) no terceiro. Identificou-se, então, uma correlação positiva, entre a precocidade da gestação e a existência de anomalias cromossómicas ( $p < 0,001$ ), ocorrendo metade destas (45/91) entre a oitava e décima semanas de gestação (Fig. 2).

Dos 333 casos estudados, 71 eram produtos de abortamento recorrente e 262 de abortamento esporádico. Não se encontrou diferença significativa na prevalência de cromossomopatias, no primeiro trimestre, entre estes dois grupos (36,2% vs 33,8%, respetivamente;  $p > 0,05$ ). No entanto, a idade materna média diferiu, sendo de 32,4 anos no grupo de abortamento esporádico e de 34,8 anos no recorrente ( $p = 0,002$ ).

A idade materna média geral foi de 32,9 anos (desvio padrão: 5,8; Intervalo de Confiança (IC) 99%: [32,1 – 33,8]), com 185 (55,6%) mulheres de idade inferior a 35 anos, 106 (31,8%) entre 35 e 39 anos e 42 (12,6%) acima dos 40 anos de idade. Identificaram-se 22,2% (41/185) de anomalias cromossómicas no grupo mais jovem, 31,1% (33/106) no grupo de idade compreendida entre 35 e 39 anos e 40,5% (17/42) no grupo de mulheres acima dos 40 anos de idade. Identificou-se uma associação positiva entre o aumento da idade materna e a presença de cariótipo anormal ( $p = 0,02$ ), verificando-se um aumento médio de 7,4% (IC 95%: [2,6 – 12,4];  $p = 0,002$ ) no risco de ocorrência destas anomalias por cada aumento de um ano na idade materna. No entanto, analisando as diferentes anomalias cromossómicas detetadas, apenas se verificou esta associação em caso de trissomia ( $p < 0,01$ ), não existindo relação entre o au-

mento da idade materna e um maior risco para poliploidia ( $p = 0,939$ ) ou monossomia X ( $p = 0,568$ ). Tendo em conta as trissomias mais comumente detetadas, verificou-se uma idade materna média superior em caso de trissomia 21 (38,3 anos;  $p < 0,005$ ) do que em caso de trissomia 16 (33,1 anos;  $p < 0,005$ ) ou 18 (34,3 anos;  $p < 0,005$ ).

Analisando os resultados obtidos, verificou-se que 219/333 (65,8%) eram do sexo feminino e 114/333 (34,2%) do sexo masculino. Tendo em conta a idade gestacional, esta predominância do sexo feminino apenas se verificou no primeiro trimestre: 163 (79,1%) casos do sexo feminino e 43 (20,9%) do sexo masculino. Já no segundo trimestre, a relação de casos do sexo feminino e masculino foi, respetivamente, de 41,0% vs 59,0% e no terceiro trimestre de 59,1% vs 40,9%.

Não se identificou diferença na prevalência de anomalias cromossómicas entre os embriões do sexo masculino e feminino (28,9% vs 26,5%;  $p = 0,19$ ), exceto quando estratificado por trimestre: um maior número de cariótipos anormais nos casos de sexo masculino do primeiro trimestre gestacional (55,8% vs 28,8%;  $p = 0,01$ ). A comparação entre os grupos de abortamento esporádico e recorrente quanto à relação entre o número de embriões do sexo masculino e feminino encontra-se na Tabela 2.

O estudo anátomo-patológico dos produtos de abortamento sugeriu cromossomopatia em 89/333 (26,7%) casos. Destes, em apenas 39 (43,8%) foram detetadas anomalias cromossómicas no cariótipo, não havendo concordância entre os resultados destes dois testes ( $p = 0,608$ ). Identificaram-se, ainda, 74 casos com aspetos sugestivos de implantação embrionária anormal, 42 casos de infeção, 29 casos de crescimento desorganizado e 15 de restrição do crescimento fetal. O grupo com indicação de abortamento por possível causa infecciosa foi aquele que incluiu uma menor proporção de casos com cromossomopatia (4/42; 9,5%).

Tabela 2 - Distribuição por trimestre do sexo embrionário e respetiva frequência de anomalias cromossómicas em perdas gestacionais

Cariótipo	Geral						
	1º Trimestre		2º Trimestre		3º Trimestre		
	Masculino	Feminino	Masculino	Feminino	Masculino	Feminino	
Abortamento Esporádico	Normal	13	85	47	30	8	11
	Anormal	17	33	7	9	0	2
Abortamento Recorrente	Normal	6	31	6	4	1	0
	Anormal	7	14	2	0	0	0
<b>Total</b>	<b>43</b>	<b>163</b>	<b>62</b>	<b>43</b>	<b>9</b>	<b>13</b>	
<b>Frequência de anomalias</b>	<b>55,8%</b>	<b>28,8%</b>	<b>14,5%</b>	<b>20,9%</b>	<b>0%</b>	<b>15,4%</b>	

## DISCUSSÃO

A identificação da causa da perda de uma gravidez é um desafio para o clínico. As aneuploidias devem ser investigadas, uma vez que estão frequentemente implicadas como causa de abortamento esporádico, nomeadamente durante o primeiro trimestre.<sup>21,23</sup> Apesar da grande maioria destas anomalias cromossómicas ser esporádica e, portanto, com pouca probabilidade de se repetir, a sua identificação é reconfortante para o casal e possui valor prognóstico quanto ao sucesso de uma próxima gravidez. Vários estudos têm sugerido um melhor prognóstico numa gravidez subsequente a um abortamento por aneuploidia do que após uma situação em que o cariótipo se revelou normal.<sup>11,23,24</sup> Por outro lado, caso se identifique uma anomalia estrutural como causa de abortamento espontâneo, dever-se-á excluir possíveis anomalias cromossómicas nos progenitores, no sentido de poder oferecer um aconselhamento genético/reprodutivo mais adequado.<sup>25</sup>

No presente estudo, numa elevada percentagem de casos (20,0%) não foi possível a obtenção do cariótipo. Este facto está descrito na literatura como uma das limitações associada à técnica de cultura celular e à obtenção de cariótipo fetal, tendo sido reportadas taxas de insucesso de cultura até 40%.<sup>22</sup> A inviabilidade celular pelo elevado tempo de retenção *in utero*, a contaminação bacteriana ou fúngica aquando da recolha da amostra ou, ainda, a contaminação da amostra com células maternas são fatores que contribuirão para esta elevada taxa de insucesso.<sup>26</sup> Assim, a maior percentagem de insucesso verificada no terceiro trimestre da nossa amostra, ter-se-á devido, provavelmente, à inviabilidade celular decorrente de um longo período entre a morte fetal e a receção do material para análise citogenética.

Neste sentido, existem hoje em dia outras técnicas que permitem colmatar essa limitação. Assim, na ausência de obtenção de um cariótipo por insucesso de cultura ou por contaminação externa (técnica convencional), o clínico poderá requisitar ao Laboratório de Genética a realização de outras técnicas, nomeadamente as técnicas de Hibridação Genómica Comparativa por *arrays* (aCGH) e a técnica de PCR Quantitativo por Fluorescência (QF-PCR), que lhe poderão dar informação relativa ao complemento cromossómico do produto fetal em causa, desde que seja reservada uma amostra de ADN para estudo posterior.

Recentemente, Morgen et al<sup>27</sup> sugeriram um protocolo de diagnóstico que se revelou bastante eficaz. Com o objetivo de ultrapassar as duas limitações principais associadas à cultura celular, ou seja, a falência de cultura e a contaminação materna, estes autores propuseram que o protocolo de estudo dos produtos fetais resultantes de perdas gestacionais mais indicado deveria consistir na realização inicial da técnica de QF-PCR e, nos casos cujo resultado encontrado fosse normal, a realização posterior da técnica de *arrays* CGH. Este protocolo revelou-se extremamente eficiente, permitindo a deteção de um maior número de casos com constituição cromossómica anormal e o reconhecimento da maioria das situações de contaminação materna.

De acordo com o esperado, as alterações numéricas constituíram 92,3% das anomalias identificadas, sendo as trissomias as mais prevalentes (65,5%). A maior frequência da trissomia 16, seguida da trissomia 18 e 21 está de acordo com literatura.<sup>24,28</sup> Observamos aumento da prevalência destas anomalias com o avançar da idade materna, com um incremento médio de 7,4% no risco de ocorrência a cada ano. Tendo em conta o seu enorme contributo para abortamento espontâneo, isto torna-se um problema crescente com o progressivo adiamento da maternidade verificado tanto em Portugal como no resto do mundo. No que diz respeito às poliploidias e monossomias, também causas frequentes de abortamento, não se encontrou correlação com a idade materna, tal como o verificado por Rolnik et al.<sup>28</sup>

Quanto às anomalias estruturais, pela sua elevada probabilidade de recorrência, é extremamente relevante fornecer ao casal informação e aconselhamento genético adequado para futuras gravidezes. Para tal, deverá ser realizado o cariótipo de ambos os progenitores no sentido de se averiguar a natureza herdada ou “de novo” da anomalia encontrada na perda gestacional.

A incidência de anomalias cromossómicas no primeiro trimestre foi menor do que a esperada (50-60%),<sup>2,5,6</sup> tanto em caso de abortamento esporádico (33,8%) como em caso de recorrente (36,2%). A presença de contaminação materna deverá ter contribuído para estes valores encontrados, como poderá ser comprovado pela predominância de embriões de sexo feminino com cariótipo normal na totalidade da amostra (161/242; 66,5%). Este achado está de acordo com o descrito na literatura: cerca de 30 a 40% dos cariótipos 46,XX obtidos por técnica convencional, poderão ser de origem materna.<sup>29,30</sup>

Assim, a presença de um maior número de anomalias cromossómicas nos fetos de sexo masculino, verificada no primeiro trimestre, deverá ter, provavelmente, relação com o excesso de contaminação materna do nosso estudo, que poderá ter mascarado os resultados obtidos. Este achado salienta a importância da realização do estudo da exclusão de contaminação materna sempre que forem enviados para estudo citogenético produtos de abortamento precoce.

Não se identificou diferença na prevalência de cromossomopatias, no primeiro trimestre, entre o grupo de abortamento esporádico e recorrente. Estes resultados estão de acordo com alguns estudos prévios<sup>9,10</sup> e contrariam outros que afirmam uma menor taxa de anomalias em caso de abortamento recorrente.<sup>11,12</sup>

Foi evidente um decréscimo da incidência de anomalias cromossómicas com a progressão da gravidez: 78,0% destas ocorreram no primeiro trimestre, 19,8% no segundo e, apenas, 2,2% no terceiro. Assim, estas anomalias demonstram-se ser inversamente proporcionais à idade gestacional, ocorrendo com menor probabilidade com a aproximação do final da gravidez.<sup>1,3,31,32</sup> Isto evidencia uma seleção natural precoce, devendo-se equacionar outras possíveis causas para abortamentos após as 14 semanas de gestação.

Kano et al<sup>19</sup> levanta a possibilidade de, em casos de abortamento recorrente sem anomalias cromossômicas ou outra etiologia conhecida, os embriões abortados serem preferencialmente do sexo feminino. No entanto, neste estudo, a maior proporção de fetos de cariótipo normal do sexo feminino verificada no primeiro trimestre, tanto em caso esporádico como recorrente, poderá, mais uma vez, ser explicada pela presença de contaminação materna nas amostras analisadas. A imaturidade típica dos produtos de abortamento nos primeiros meses gestacionais poderá tornar difícil a garantia da origem do material analisado.

Pela análise anátomo-patológica, houve sugestão de 89 (26,7%) casos de cromossomopatia, porém, somente 39 (43,8%) destes foram concordantes com o resultado do cariótipo, ou seja, com a presença de anomalia cromossômica. Assim, pela discordância dos resultados entre estes dois testes, verificou-se que a análise anátomo-patológica é um método pouco sensível para a identificação de anomalias cromossômicas, não devendo o diagnóstico fundamentar-se no resultado desta análise. Relativamente às restantes causas de abortamento sugeridas pela análise anátomo-patológica, verificámos, como seria de esperar, a menor percentagem de anomalias cromossômicas no grupo de provável infecção (9,5%). Para o menor erro diagnóstico neste grupo, deverá ter contribuído a maior facilidade de identificação das características específicas das células inflamatórias. Pelo contrário, a precisão de diagnóstico nos restantes grupos poderá ser afetada pela subjetividade dos critérios utilizados. Que tenhamos conhecimento, até à data, este foi o primeiro estudo a comparar os resultados obtidos pela análise citogenética e anátomo-patológica.

Consideramos que o tamanho da amostra analisada, 333 casos de abortamento espontâneo ou morte fetal, demonstrou ser um ponto forte do nosso estudo, garantindo uma maior confiança nos resultados obtidos. É de referir, ainda, que nos 12 casos em que apenas se obteve informação do complemento cromossômico por MLPA, não podemos excluir a possibilidade de outras anomalias cromossômicas estarem presentes. Isto porque, apesar da vantagem de requerer apenas uma pequena amostra de ADN e se tratar de uma forma rápida e pouco dispendiosa de deteção de aneuploidias dos cromossomas 13, 18, 21, X e Y<sup>22</sup>, não analisa outras anomalias do cariótipo, nomeadamente a trissomia do cromossoma 16, frequentemente implicada como causa de abortamento espontâneo. Mesmo tendo isto em conta, o uso da técnica de MLPA revelou-se um método bastante útil para a confirmação de grande parte dos resultados obtidos pela análise do cariótipo, além de também permitir a exclusão de algumas das anomalias cromossômicas mais comuns nos casos de insucesso de cultura.

A inclusão, tanto de produtos de abortamento esporádico como de recorrente na totalidade da amostra, foi bastante vantajosa ao permitir o estudo simultâneo da prevalência de cromossomopatias nos dois espectros situacionais.

## CONCLUSÕES

A perda de uma gravidez, independentemente da altura em que ocorre, é um evento com grande impacto no casal que tenta procriar. Além do possível valor prognóstico para uma gravidez subsequente, a análise do cariótipo pode trazer um importante alívio psicológico ao casal e evitar demais investigações.<sup>28</sup> Mesmo em caso de abortamento esporádico, as anomalias cromossômicas revelam-se, frequentemente, como uma principal causa, nomeadamente até à 14<sup>a</sup> semana de gestação, apresentando uma prevalência semelhante à verificada em caso de recorrência. No caso específico da identificação de uma anomalia estrutural, é possível que esta tenha origem num dos progenitores e, assim, torna-se primordial fornecer toda a informação e aconselhamento genético-reprodutivo ao casal. A análise do cariótipo em qualquer produto de abortamento, recorrente ou não, reconfortará então o casal e ajudá-lo-á a decidir quanto à tentativa de uma nova gestação.

Sabe-se que a idade materna avançada é também um dos principais fatores de insucesso da gravidez. Assim, com o atual adiamento da maternidade e conseqüente aumento da probabilidade de abortamento por aneuploidia, torna-se necessário que o clínico informe, atempadamente, as mulheres com intenção de engravidar deste risco progressivo com o avançar da idade.

Para um eficaz estudo de anomalias cromossômicas, evitando a elevada taxa de insucesso de cultura celular, sugere-se uma combinação de técnicas de análise citogenética que permita o estudo da totalidade do cariótipo ou, pelo menos, das aneuploidias mais frequentemente implicadas como causa de abortamentos espontâneos.

Tendo em conta a elevada taxa de contaminação materna neste tipo de estudo, torna-se imprescindível a análise adicional do ADN materno. Só assim será possível a total exclusão de células maternas da amostra, obtendo-se a exata prevalência de anomalias cromossômicas e possibilitando o estudo quanto a uma possível diferença entre a taxa de abortamento de embriões femininos e masculinos.

É de se salientar que este estudo se baseou na análise de dados retrospectivos e que, atualmente, para colmatar as limitações da técnica de MLPA, o Departamento de Genética inclui a técnica de QF-PCR no estudo de abortamentos do primeiro trimestre. Assim, é possível não só exclusão da contaminação materna, principal limitação identificada neste estudo, como ainda o estudo adicional do número de cópias para os cromossomas 15, 16 e 22. Tal como neste último método, a técnica de *arrays* CGH, não necessita de cultura celular, tendo ainda a vantagem adicional de permitir a análise do complemento cromossômico total, com uma resolução bastante superior ao cariótipo convencional.

Por conseguinte, a adoção de um novo protocolo de diagnóstico no estudo genético das perdas gestacionais que incluía a realização das técnicas de QF-PCR e *arrays* CGH em substituição da técnica convencional (cariótipo) parece ser a metodologia mais adequada e com um custo-benefício mais eficaz.

**CONFLITOS DE INTERESSE**

Os autores declaram a inexistência de conflitos de interesse na realização do presente trabalho.

**FONTES DE FINANCIAMENTO**

Não existiram fontes externas de financiamento para a

realização deste artigo.

**AGRADECIMENTOS**

Os autores gostariam de agradecer o contributo imprescindível de João Barbosa na análise estatística dos dados, sem a qual este estudo não seria possível.

**REFERÊNCIAS**

- Warren JE, Silver RM. Genetics of pregnancy loss. *Clin Obstet Gynecol.* 2008;51:84-95.
- Rai R, Regan L. Recurrent miscarriage. *Lancet.* 2006;368:601-11.
- Stephenson M, Kutteh W. Evaluation and management of recurrent early pregnancy loss. *Clin Obstet Gynecol.* 2007;50:132-145.
- Toth B, Jeschke U, Rogenhofer N, Scholz C, Wurfel W, Thaler CJ, et al. Recurrent miscarriage: Current concepts in diagnosis and treatment. *J Reprod Immunol.* 2010;85:25-32.
- Robberecht C, Pexsters A, Deprest J, Fryns JP, D'Hooghe T, Vermeesch JR. Cytogenetic and morphological analysis of early products of conception following hystero-embryoscopy from couples with recurrent pregnancy loss. *Prenat Diagn.* 2012;32:933-42.
- Miskovic S, Culic V, Konjevoda P, Pavelic J. Positive reproductive family history for spontaneous abortion: Predictor for recurrent miscarriage in young couples. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol.* 2012;161:182-6.
- 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.
- Morikawa M, Yamada H, Kato EH, Shimada S, Yamada T, Minakami H. Embryo loss pattern is predominant in miscarriages with normal chromosome karyotype among women with repeated miscarriage. *Hum Reprod.* 2004;19:2644-7.
- Marquard K, Westphal LM, Milki AA, Lathi RB. Etiology of recurrent pregnancy loss in women over the age of 35 years. *Fertil Steril.* 2010;94:1473-7.
- Grande M, Borrell A, Garcia-Posada R, Borobio V, Munoz M, Creus M, et al. The effect of maternal age on chromosomal anomaly rate and spectrum in recurrent miscarriage. *Hum Reprod.* 2012;27:3109-17.
- Ogasawara M, Aoki K, Okada S, Suzumori K. Embryonic karyotype of abortuses in relation to the number of previous miscarriages. *Fertil Steril.* 2000;73:300-4.
- Sullivan AE, Silver RM, LaCoursiere DY, Porter TF, Branch DW. Recurrent fetal aneuploidy and recurrent miscarriage. *Obstet Gynecol.* 2004;104:784-8.
- Morikawa M, Yamada H, Kato EH, Shimada S, Sakuragi N, Fujimoto S, et al. Live birth rate varies with gestational history and etiology in women experiencing recurrent spontaneous abortion. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol.* 2003;109:21-6.
- Cleary-Goldman J, Malone FD, Vidaver J, Ball RH, Nyberg DA, Comstock CH, et al. Impact of maternal age on obstetric outcome. *Obstet Gynecol.* 2005;105:983-90.
- Santos V, Moura M, Pinto JP, Almeida V, Maio J. Características sócio-demográficas das puerperas e seguimento da gravidez: o que mudou em 17 anos? *Acta Med Port.* 2011;24:877-84.
- Nybo Andersen AM, Wohlfahrt J, Christens P, Olsen J, Melbye M. Maternal age and fetal loss: Population Based Register Linkage Study. *BMJ.* 2000;320:1708-12.
- Sugiura-Ogasawara M, Ozaki Y, Kitaori T, Suzumori N, Obayashi S, Suzuki S. Live birth rate according to maternal age and previous number of recurrent miscarriages. *Am J Reprod Immunol.* 2009;62:314-9.
- Del Fabro A, Driul L, Anis O, Londero AP, Bertozzi S, Bortotto L, et al. Fetal gender ratio in recurrent miscarriages. *Int J Womens Health.* 2011;3:213-7.
- Kano T, Mori T, Kimura A. Gender ratio distortion in abortuses and live births from patients with recurrent spontaneous abortion. *Am J Reprod Immunol.* 2009;62:125-7.
- Instituto Nacional de Estatística. Lisboa: INE; 2012. [consultado 2012 Dez 13]. Disponível em: <http://www.ine.pt>.
- Doria S, Carvalho F, Ramalho C, Lima V, Francisco T, Machado AP, et al. An efficient protocol for the detection of chromosomal abnormalities in spontaneous miscarriages or foetal deaths. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol.* 2009;147:144-50.
- Carvalho B, Doria S, Ramalho C, Brandao O, Sousa M, Matias A, et al. Aneuploidies detection in miscarriages and fetal deaths using multiplex ligation-dependent probe amplification: An alternative for speeding up results? *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol.* 2010;153:151-5.
- Sugiura-Ogasawara M, Ozaki Y, Katano K, Suzumori N, Kitaori T, Mizutani E. Abnormal embryonic karyotype is the most frequent cause of recurrent miscarriage. *Hum Reprod.* 2012;27:2297-303.
- Carp H, Toder V, Aviram A, Daniely M, Mashiach S, Barkai G. Karyotype of the abortus in recurrent miscarriage. *Fertil Steril.* 2001;75:678-82.
- Nagaishi M, Yamamoto T, Iinuma K, Shimomura K, Berend SA, Knops J. Chromosome abnormalities identified in 347 spontaneous abortions collected in Japan. *J Obstet Gynaecol Res.* 2004;30:237-41.
- Dória S. Mecanismos genéticos subjacentes ao abortamento espontâneo. Porto: Departamento de Genética, Faculdade de Medicina da Universidade do Porto; 2010.
- Morgen EK, Maire G, Kolomietz E. A clinical algorithm for efficient, high-resolution cytogenomic analysis of uncultured perinatal tissue samples. *Eur J Med Genet.* 2012;55:446-54.
- Rolnik DL, Carvalho MH, Catelani AL, Pinto AP, Lira JB, Kusagari NK, et al. Cytogenetic analysis of material from spontaneous abortion. *Rev Assoc Med Bras.* 2010;56:681-3.
- Karaoguz MY, Nas T, Konac E, Ince D, Pala E, Menevse S. Is cytogenetic diagnosis of 46,Xx karyotype spontaneous abortion specimens erroneous? Fluorescence in situ hybridization as a confirmatory technique. *J Obstet Gynaecol Res.* 2005;31:508-13.
- Jarrett KL, Michaelis RC, Phelan MC, Vincent VA, Best RG. Microsatellite analysis reveals a high incidence of maternal cell contamination in 46,Xx products of conception consisting of Villi or a combination of Villi and membranous material. *Am J Obstet Gynecol.* 2001;185:198-203.
- Wapner RJ, Lewis D. Genetics and metabolic causes of stillbirth. *Semin Perinatol.* 2002;26:70-4.
- Benkhalifa M, Kasakyan S, Clement P, Baldi M, Tachdjian G, Demiroglu A, et al. Array comparative genomic hybridization profiling of first-trimester spontaneous abortions that fail to grow in vitro. *Prenat Diagn.* 2005;25:894-900.

Raquel BASTOS, Carla RAMALHO, Sofia DÓRIA

# Estudo da Prevalência de Anomalias Cromossómicas em Abortamentos Espontâneos ou Mortes Fetais

Acta Med Port 2014;27:42-48

Publicado pela **Acta Médica Portuguesa**, a Revista Científica da Ordem dos Médicos

Av. Almirante Gago Coutinho, 151

1749-084 Lisboa, Portugal.

Tel: +351 218 428 215

E-mail: [submissao@actamedicaportuguesa.com](mailto:submissao@actamedicaportuguesa.com)

[www.actamedicaportuguesa.com](http://www.actamedicaportuguesa.com)

ISSN:0870-399X | e-ISSN: 1646-0758



ACTA MÉDICA  
PORTUGUESA

