

DENISE PONTES CAVALCANTI

Este exemplar corresponde à
versão final da Tese de Dou-
torado apresentada à Faculda-
de de Ciências Médicas da
UNICAMP pela médica Denise
Pontes Cavalcanti.

Campinas, 29 de outubro de 1990

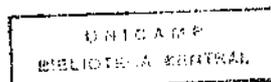
Christine Hackel

Profa. Dra. Christine Hackel
- orientadora -

"ESTUDO CROMOSSÔMICO EM ABORTOS ESPONTÂNEOS E SUAS CORRELAÇÕES
COM DADOS BIOQUÍMICOS E ANATOMO-PATOLÓGICOS"

Tese apresentada à Faculdade de
Ciências Médicas da Universidade
Estadual de Campinas, para obtenção
do título de Doutor na área de
Medicina Interna.

Campinas, 1990



Orientador: Profa. Dra. CHRISTINE HACKEL

"La liberté consiste à pouvoir faire tout ce qui ne nuit pas à autrui: ainsi, l'exercice des droits naturels de chaque homme n'a de bornes que celles qui assurent aux autres membres de la société la jouissance de ces mêmes droits. Ces bornes ne peuvent être déterminées que par la loi".

(Art. 4 de la Déclaration des droits de l'homme et du citoyen. 26/08/1789).

Ao Mestre JOSÉ CARLOS CABRAL DE ALMEIDA

AGRADECIMENTOS

Por ser este um trabalho interdisciplinar, para realizá-lo contei com o apoio e a colaboração de várias pessoas, de áreas distintas e de formações diversas, as quais gostaria de expressar os meus mais sinceros agradecimentos. Se não as menciono, uma a uma, é porque temo que a memória me traia, justo neste momento, e eu cometa a indelicadeza de, momentaneamente, esquecer de citar alguém.

A todos que, de alguma forma, contribuíram para a realização e conclusão deste trabalho o meu muito obrigada.

AGRADECIMENTOS ESPECIAIS

Aos meus pais, José Elmano e Terezinha

A Fernando, meu marido

ÍNDICE

	Página
I. Introdução	1
I.1. Estudos citogenéticos em abortos espontâneos	3
I.2. Incidência das perdas gestacionais	4
I.3. Incidência das aberrações cromossômicas nas perdas gestacionais	5
I.4. Aberrações numéricas	6
I.4.a. Trissomias autossômicas	6
I.4.b. Monossomias autossômicas	8
I.4.c. Euploidias	8
I.4.d. Monossomia X	10
I.5. Mosaicos	11
I.6. Rearranjos estruturais	12
I.7. Mecanismos de formação das aberrações cromossômicas	13
I.8. Origem parental das aberrações cromossômicas	14
I.8.a. Origem parental das trissomias autossômicas	15
I.8.b. Origem parental das triploidias	16
I.8.c. Origem parental das tetraploidias	16
I.8.d. Origem parental da monossomia X	17
I.9. Razão de sexo	18
I.10. Idade gestacional dos abortos espontâneos	19
I.11. Idade de desenvolvimento dos abortos espontâneos	20
I.12. Fatores de risco	21
I.12.a. Idade materna nos abortamentos espontâneos	21
I.12.b. Outros fatores de risco	22
I.13. Fenótipo dos abortos espontâneos	24
I.14. Os conceptos molares	28
I.15. Estudos citogenéticos em abortos consecutivos	30
I.16. As dosagens bioquímicas versus aberração cromossômica	32
a. α -fetoproteína (AFP)	32
b. gonadotropina coriônica humana (HCG)	33
II. Objetivos	36
III. Casuística e métodos	37
III.1. Metodologia utilizada para classificar os abortos	38
III.2. Seleção da amostra índice	40
III.3. Coleta de material da amostra índice	42
III.3.a. Dos abortos	42

III.3.b. Dos sangues maternos	42
III.4. Coleta estocagem e seleção da amostra controle	43
III.5. Coleta dos dados anamnésticos das amostras índice e controle	43
III.6. Estudo citogenético	44
III.6.A. Técnicas de cultivo celular	44
III.6.A.a. Dos abortos	44
III.6.A.a.1. Técnicas de cultura de longa duração	44
III.6.A.a.2. Técnica da preparação direta a partir de vilosidade coriônica (VC)	47
III.6.A.b. Dos pais	48
III.6.A.b.1 Técnica de cultura de curta duração a partir de linfócitos do sangue periférico	48
III.6.B. Análise cromossômica	49
III.6.C. Considerações sobre os abortos com cariótipo 46,XX	50
III.7. Dosagem de α -fetoproteína (AFP)	50
a. primeira incubação	51
b. segunda incubação	52
c. coloração	52
d. leitura das absorbâncias	52
III.8. Dosagem de HCG	53
III.9. Estudo anátomo-patológico	55
III.10. Análise estatística	56
IV. Resultados	58
IV.1. Da amostra índice	58
IV.2. Da amostra controle	67
IV.3. Da análise estatística das variáveis quantitativas (ambas as amostras)	69
V. Discussão	78
V.1. Seleção da amostra índice	78
V.1. Técnicas de cultivo celular	78
V.3. Idade gestacional dos abortos	80
V.4. Freqüências e tipos de aberrações cromossômicas	81
V.5. Aspectos relacionados aos fatores de risco	87
V.6. Aspectos morfológicos (macroscópicos) dos abortos espontâneos	87
V.6.1. Artéria umbilical única (AUU)	88
V.6.2. Saco vitelino (SV)	90
V.7. Cariótipo x exame histopatológico	91
V.8. Dados ultra-sonográficos coletados	96
V.9. Dados da amostra controle	97
V.10. Dosagens bioquímicas	97
VI. Conclusões	104

VII. Resumo	105
VIII. Summary	107
IX.) Definições	109
X.) Referências bibliográficas	110
Apêndice 1	132
Apêndice 2	135
Apêndice 3	138
Apêndice 4	141
Apêndice 5	144
Apêndice 6	147
Apêndice 7	150

I.) INTRODUÇÃO

Em 1964, Warburton & Fraser escreveram: "o abortamento espontâneo é um dos processos patológicos mais comuns e menos conhecidos". Passadas mais de duas décadas, os estudos cromossômicos em abortos espontâneos mostraram ser as cromossomopatias zigóticas a principal causa dos abortamentos espontâneos e propiciaram um entendimento mais amplo sobre as aberrações cromossômicas na espécie humana. A nível individual, o cariótipo dos abortos espontâneos tem se mostrado importante não só para definir as causas do abortamento, como também pela suas possíveis implicações em gestações futuras (Boué et al., 1973; Morton et al., 1987; Warburton et al., 1987).

O valor do estudo anátomo-patológico associado à análise citogenética dos abortos espontâneos tem sido exaltado por alguns autores, os quais, baseados nas correlações existentes entre o cariótipo e os achados anátomo-patológicos dos abortos cromossomicamente anormais, sugerem que as características morfológicas ou expressões fenotípicas, dos produtos de abortamentos espontâneos (embrião ou feto e anexos embrionários) podem predizer o diagnóstico cariotípico (Philippe & Boué, 1969; Boué et al., 1970; Honoré et al., 1976; Boué et al., 1976; Geisler & Kleinebrecht, 1978).

Paralela e mais recentemente, vários trabalhos têm mostrado que determinadas dosagens bioquímicas no soro materno como: α -fetoproteína, acetilcolinesterase, estriol não conjugado e HCG, entre outras, apresentam níveis anormais na vigência de gestações com fetos cromossomicamente anormais (Merkatz et al., 1984;

Muller, 1989; 1989; Wald et al., 1988; Bogart et al., 1987). A utilização dessas dosagens vem sendo empregada para o rastreamento de aberrações cromossômicas no período pré-natal.

O estudo cariotípico de produtos de abortamento espontâneo, contudo, é oneroso e nem todo laboratório de citogenética apresenta condições de realizá-lo, pelo menos em nosso meio. Além disso, muitas vezes o material chega ao laboratório em condições que comprometem a realização e o resultado do exame.

Seria interessante, então, a utilização de testes que permitissem uma abordagem mais simplificada das perdas gestacionais em fases precoces do desenvolvimento. Esses métodos deveriam oferecer segurança, interpretação inequívoca e fácil reprodutibilidade.

I.1.) ESTUDOS CITOGENÉTICOS EM ABORTOS ESPONTÂNEOS

O conhecimento sobre as associações entre as alterações do fenótipo (malformações e/ou dismorfias) e as aberrações cromossômicas, bem como os primeiros relatos sobre triploidia em abortos espontâneos por Penrose & Delhanty (1961) e Delhanty et al. (1961), estimularam vários pesquisadores na década de 60 a orientarem suas pesquisas para o estudo citogenético das perdas gestacionais, mais especificamente dos abortos espontâneos.

Vários trabalhos surgiram mostrando que, além de freqüentes, alguns tipos de aberrações cromossômicas predominavam entre os abortos espontâneos (Carr, 1963; Clendenin & Benirschke, 1963; Thiede & Salm, 1964; Szulman, 1965; Boué et al., 1967; Stenchever et al., 1967; Bowen & Lee, 1969; Arakaki & Vaxman, 1970). Posteriormente, com o advento das técnicas de bandamento cromossômico, tornou-se possível a identificação precisa das aberrações cromossômicas, as quais foram destacadas em trabalhos do continente europeu (Kajii et al., 1973; Lauritsen, 1976; Creasy et al., 1976; Boué et al., 1975; Kajii & Ferrier, 1978), bem como do continente americano (McConnell & Carr, 1975; Hassold et al., 1978; Warburton et al., 1980a; Hassold et al., 1980).

Mais recentemente, as técnicas de HLA (Couillin et al., 1987) e de biologia molecular (Hassold et al., 1985; Hassold et al., 1988) vieram complementar os dados citogenéticos sobre os estudos com abortos espontâneos, e ampliar o conhecimento sobre aspectos distintos das aberrações cromossômicas no homem.

1.2.) INCIDÊNCIA DAS PERDAS GESTACIONAIS

O malogro da reprodução humana pode ser observado em diferentes estágios do desenvolvimento do concepto. Ocorrendo repetidas vezes em fases muito precoces do desenvolvimento, a gestação pode não ser identificada e traduzir-se como aparente esterilidade. Quando a gestação é reconhecida, porém interrompida nos primeiros meses, ela é identificada como abortamento espontâneo. Finalmente, o insucesso reprodutivo pode ser representado por fetos vivos ou mortos portadores de malformações congênitas.

Utilizando modelos matemáticos, Roberts & Lowe (1975) demonstraram que a taxa de perdas conceptuais, além de muito alta, 78%, apresentava uma maior concentração em estágios mais precoces do desenvolvimento humano. Williamson & Miller (1980), utilizando a técnica do radioimunoensaio para dosagem da sub-unidade β da gonadotropina coriônica humana (β -HCG), demonstraram a alta taxa de perdas conceptuais precoces, 41%, em 149 gestações diagnosticadas bioquimicamente. Com a utilização de metodologia semelhante, Edmonds et al. (1982), detectaram uma taxa de perdas gestacionais pós-implantação igual a 62%.

Antes de finalizar esse item, vale a pena ressaltar o trabalho de Jacobs (1986), apresentado no último Congresso Internacional de Genética Humana, uma vez que ele ratifica os dados acima relatados. Partindo de uma revisão sobre epidemiologia de abortos espontâneos e de recém-nascidos, Jacobs (1986) refere que 75% de todas as gestações não sobrevivem ao termo, sendo 25% perdidas antes da implantação, 33% no período de pós-implantação precoce, 15-20% entre a 5^a e a 27^a semana e 1-2% em períodos mais tardios, correspondendo aos natimortos.

I.3.) INCIDÊNCIA DAS ABERRAÇÕES CROMOSSÔMICAS ENTRE
AS PERDAS GESTACIONAIS

Assumindo que 15% das gestações reconhecidas clinicamente terminam em abortamentos espontâneos e, que 50% dos abortos são portadores de aberrações cromossômicas, Hassold (1986) sugere que, pelo menos, 7-8% de todas as gestações humanas diagnosticadas devem ser cromossomicamente desequilibradas. No mesmo trabalho, Hassold (1986) revisou a freqüência dos principais tipos de aberrações cromossômicas entre os abortos espontâneos e comparou-a às freqüências encontradas em natimortos (NM) e nativos (NV) (tabela 1).

Tabela 1 - Freqüência dos principais tipos de aberração cromossômica nos diferentes estágios de desenvolvimento da espécie humana (modificada de Hassold, 1986).

Aberração cromossômica	*Freqüência da aberração em %		
	Aborto espontâneo	NM	NV
Todas as aberrações	50	5	0,5
Trissomias:			
16	7,5	-	-
13, 18 e 21	4,5	2,7	0,14
Aberrações dos cromossomos sexuais	0,3	0,4	0,15
Monossomia X	8,7	0,1	0,01
Triploidia	6,4	0,2	-
Tetraploidia	2,4	-	-
Aberrações estruturais	2,0	0,8	0,3

*Baseada na revisão de Hassold (1986).

Como pode ser observado nessa tabela, existe um declínio considerável na freqüência de anormalidades cromossômicas quando se leva em consideração a fase de desenvolvimento. Enquanto essa freqüência é extremamente alta em abortos espontâneos, em torno de 50%, ela cai para 5% entre os natimortos, sendo ainda 10 vezes menor, 0,5%, entre os nativos. Esse efeito de seleção *in utero* faz com que, ao nascimento, cerca de 95% das concepções cromossomicamente anormais, segundo Hassold (1986), tenham sido eliminadas.

I.4.) ABERRAÇÕES NUMÉRICAS

I.4.a.) Trissomias autossômicas

As aberrações numéricas são as mais frequentemente encontradas entre os abortos espontâneos, sendo representadas pelas aneuploidias (monossomias e trissomias) e pelas euploidias (triploidias e tetraploidias). As mais comuns são as trissomias, as quais ocorrem em cerca de 1/2 dos abortos cromossomicamente anormais, 1/4 de todos os abortos e, aproximadamente 4% de todas as gestações clinicamente conhecidas (Boué et al., 1985; Hassold & Jacobs, 1984). Trissomias de todos os cromossomos, exceto do cromossomo 1, já foram identificadas em abortos espontâneos. A trissomia 1 foi descrita pela primeira vez na espécie humana num embrião de oito células, descoberto a partir de um protocolo de fertilização *in vitro* (Watt et al., 1987). A presença de cromossomo 1 extra, contudo, tem sido detectada, com certa freqüência, em estudos de espermatozoides humanos baseado no teste de hamster (Brandriff et al., 1985; Martin et al., 1983).

Em abortos espontâneos a freqüência individual das trissomias

é muito variada, enquanto a trissomia do cromossomo 16 é extremamente comum, ocorrendo em 1/3 de todas as trissomias autossômicas dos abortos, outras, como as dos cromossomos 3, 5, 6, 11, 12, 17 e 19 são bem menos freqüentes, (Boué et al., 1985; Hassold, 1986). As trissomias dos acrocêntricos, por outro lado, seguem a trissomia do 16, em termos de freqüência.

Baseados na alta freqüência de aberrações que envolvem cromossomos com região centromérica heterocromática polimórfica, Meulenbroek & Geraedts (1982) sugeriram uma possível relação causal entre a presença desses polimorfismos heterocromáticos e a ocorrência de não disjunção.

A grande diferença observada entre as freqüências dos vários tipos de trissomias autossômicas pode ser presumivelmente atribuída a, pelo menos, três fatores: 1) diferentes taxas de não disjunção para cada par de cromossomos; 2) diferenças nas freqüências de aberrações nos gametas na época da concepção e 3) diferenças nas taxas de perdas conceptuais antes de a gestação ser clinicamente reconhecida.

Há evidências mostrando a existência da seleção diferencial. Assim, ao se comparar as taxas e tipos de aberrações cromossômicas encontrados em diferentes populações, como as de abortos espontâneos, natimortos e nativos, constata-se que alguns tipos de aberração só são encontrados entre os abortos, como por exemplo a trissomia do 16, sendo portanto incompatíveis com a vida (tabela 1). De maneira semelhante, também pode-se observar diferenças ou variações nas freqüências de falta de disjunção dos vários cromossomos. Observando a tabela 1 percebe-se que dentre as trissomias autossômicas, a trissomia 16 é, sem dúvida, a mais freqüente, sugerindo, uma maior freqüência de falta de disjunção para esse autossomo em particular.

As trissomias duplas ocorrem com uma freqüência baixa, inferior a 2%, entre os abortos cariotipicamente anormais (Hassold et al., 1980), refletindo, muito provavelmente, a sua reduzida viabilidade (Kajii et al., 1980).

Finalmente, a trissomia tripla de autossomos constitui um evento extremamente raro entre os conceptos estudados, conhecendo-

se poucos exemplos, tais como: 49,XX,+2,+5,+8 (Kajii et al., 1980), e 49,XX,+14,+15,+22 (Hassold et al., 1984).

I.4.b.) Monossomias autossômicas

Baseado no mecanismo que mais freqüentemente origina as aneuploidias - a falta de disjunção, seria de se esperar um número de conceptos monossômicos, pelo menos, igual ao de trissômicos. Porém, entre as aneuploidias, as monossomias autossômicas são virtualmente inexistentes na espécie humana. Acredita-se que os conceptos monossômicos, por serem muito letais, são perdidos precocemente ou não chegam a se formarem. Na realidade, existem observações em camundongos mostrando que conceptos monossômicos são formados com freqüência similar às trissomias, porém, rápida e espontaneamente, são expulsos do organismo materno, durante o período de pré-implantação (Gropp, 1982).

Embora rara, considera-se que a monossomia do 21 é a única monossomia de autossomos observada em abortos espontâneos (Boué et al., 1985).

I.4.c.) Euploidias

A triploidia é uma aberração cromossômica relativamente comum (1-3%) em populações humanas graças à freqüência com que aparece entre os abortos cromossomicamente anormais, cerca de 15-20% (Carr, 1971; Boué et al., 1975; Creasy et al., 1976; Lauritsen,

1976; Couillin et al., 1978; Jacobs et al., 1978; Hassold et al., 1980; Kajii et al., 1980; Meulenbroek & Geraedts, 1982), ou seja, 6,4% entre todos os abortos (tabela 1).

Os abortos triplóides podem ser classificados em três tipos de acordo com a constituição dos cromossomos sexuais: 69,XXY; 69,XXX e 69,XYY. Desses, o primeiro constitui o tipo mais freqüente, enquanto o último, só é observado em raríssimas ocasiões (tabela 2).

Tabela 2 - Representação cariotípica dos abortos triplóides, segundo dados da literatura.

Referência	N° de 3n	Tipo de cariótipo				
		69,?	69,XXY	69,XXX	69,XYY	Hiper3n*
Szulman, 1965	5	1	4	-	-	-
Arakaki & Waxman, 1970	7	-	3	3	1	-
Dhadiat et al., 1970	13	-	8	5	-	-
Carr, 1971	25	-	13	9	-	3
Boué & Boué, 1974	183	27	92	57	7	a
McConnell & Carr, 1975	5	-	4	1	-	-
Creasy et al., 1976	39	-	18	18	1	2
Lauritsen, 1976	14	-	5	9	-	-
Kajii et al., 1980	29	-	16	11	-	2
Hassold et al., 1980	70 ^b	-	49 ^c	16	1	3
Procter et al., 1986	9	1	6	2	-	-

*Todos apresentavam 70 cromossomos. a- Boué et al. (1986) referem 4 casos hipertriplóides nessa amostra. b- Um cariótipo é 68,XX. c- Um cariótipo mostrava também uma translocação equilibrada.

Os cariótipos hipertriplóides, ou seja, com um ou mais cromossomos adicionais além dos 69 esperados, costumam ocorrer com

uma freqüência de 3,5-5% entre os triplóides (tabela 2; Boué et al., 1985). De maneira semelhante aos triplóides puros, os hipertriplóides também mostram uma predominância do complemento gonossômico tipo XXY em detrimento do XXX. O cromossomo extra nesses casos, de maneira semelhante ao que se observa entre os abortos trissômicos é, freqüentemente, representado pelos cromossomos dos grupos E, D e C.

Os cariótipos hipotriplóides são muito mais raramente observados e, todos os casos descritos apresentam 68 cromossomos, sendo os cromossomos ausentes, geralmente, o X levando ao cariótipo 68,XX (Boué et al., 1985; Jacobs et al., 1982; Uchida et al., 1985), ou, muito esporadicamente, o 22: 68,XXY,-22 (Jacobs et al., 1982).

As tetraploidias são observadas em cerca de 5% dos abortos anormais (Boué & Boué, 1974, Hassold et al., 1978; Kajii et al., 1980), ou 2,4% de todos os abortos, sendo virtualmente inexistentes entre nativos e natimortos (tabela 1). Aproximadamente metade dos casos apresenta complemento cromossômico sexual XXXX, enquanto a outra metade mostra cariótipo 92,XXYY.

Os cariótipos hipertetraplóides também já foram encontrados em abortos espontâneos e, em ambos os casos relatados, os cromossomos extras eram o 16: 94,XXYY,+16,+16 (Kajii et al., 1980) e 94,XXXX,+16,+16 (Boué & Boué, 1974).

A hipotetraploidia pode ser aqui exemplificada pelo cariótipo 90,XX detectado num feto de 21 semanas portador de quadro fenotípico característico da síndrome de Turner (Fryns et al., 1987).

I.4.d.) Monossomia X

Esse tipo de aberração cromossômica constitui um dos mais

freqüentes entre os abortos espontâneos, correspondendo a quase 9% de todos os abortos (tabela 1), ou a cerca de 15-25% dos anormais (Boué & Boué, 1974; Creasy et al., 1976; Hassold et al., 1980). Uma revisão realizada pela autora (Cavalcanti, 1986), mostrou que, isoladamente, a monossomia X corresponde a aberração cromossômica mais comum entre abortos espontâneos. Na grande maioria das vezes, e, ao contrário do que acontece em nativos, o cariótipo 45,X aparece como única linhagem, ou seja, praticamente não há mosaico envolvendo a monossomia X em abortos (Boué et al., 1985; Hassold et al., 1988).

I.5.) MOSAICOS

A presença de mais de uma linhagem celular de mesma origem genética, o que na prática corresponde a duas linhagens celulares, na grande maioria dos casos, configura o quadro de mosaicismo. Em abortos espontâneos as freqüências de mosaicismo variam de aproximadamente 2% a pouco mais de 5% (Boué & Boué, 1974; Kajii et al., 1980; Creasy et al., 1976; Hassold et al., 1980).

A detecção de mosaicismo depende muito da metodologia utilizada, não só o número de células analisadas é importante, o tecido estudado parece ser de fundamental importância nesse achado. Tanto é assim que, quase todos os mosaicos relatados em abortos foram analisados a partir de âmnio ou córion e não do embrião propriamente dito (Boué et al., 1985).

Trabalhos mais recentes demonstraram a presença de mosaicismo cromossômico confinado ao trofoblasto, em placentas de conceptos portadores de trissomias 13 e 18, sugerindo que a perda do cromossomo extra nas células geritoras da camada citotrofoblástica, favorece a sobrevivência desses conceptos (Kalousek et al., 1989). Tais achados, no entanto, não foram

detectados em conceptos trissômicos para o cromossomo 21 (Kalousek et al., 1989; Cavalcanti - dados não publicados).

Mais comumente os mosaicos são encontrados associados às trissomias em abortos espontâneos e, a linhagem trissômica nesses casos mostra grande semelhança com as trissomias puras no que diz respeito à frequência do cromossomo extra detectado (Boué et al., 1985). É interessante notar também que a frequência de mosaicismo é maior entre as trissomias de cromossomos não acrocêntricos, do que entre as trissomias de acrocêntricos (Hassold, 1982).

I.6.) REARRANJOS ESTRUTURAIS

As anomalias cromossômicas estruturais foram relatadas em estudos sobre abortos espontâneos numa frequência de 3-6% dos anormais (Boué et al., 1985), ou de 2% de todos os abortos (tabela 1). Considerando-se os rearranjos equilibrados percebe-se que a frequência de 0,28%, não difere muito da encontrada em recém-nascidos (0,19%) (Jacobs, 1981), sendo ambas inferior à frequência de rearranjos encontrada em estudos sobre mortes perinatais (0,4%) (Machin & Crolla, 1974; Kuleshov, 1976; Sutherland et al., 1978).

Por outro lado, quando se leva em consideração os rearranjos não equilibrados observa-se que a frequência encontrada em abortos espontâneos (1,54%) é cerca de 30 vezes mais alta que a encontrada em nativos (0,05%) (Jacobs, 1981) e, aproximadamente, três vezes à observada em populações de óbitos perinatais (0,5%) (Machin & Crolla, 1974; Kuleshov, 1976). Boué et al. (1985) referem que, a julgar por trabalhos prévios do grupo, os rearranjos não equilibrados são, em metade dos casos, herdados e na outra metade, um evento ocorrendo de novo.

1.7.) MECANISMOS DE FORMAÇÃO DAS ABERRAÇÕES CROMOSSÔMICAS

O processo ordenado de segregação de cromossomos e/ou cromátides durante a anáfase de uma célula em divisão pode, por várias razões, falhar (falta de disjunção), dando origem a células anormais, sejam elas nulissômicas, monossômicas, dissômicas ou trissômicas, dependendo do tipo de divisão celular em questão, quando apenas um par de cromossomos está envolvido.

Mais raramente, durante o processo de migração de um dado cromossomo para um dos pólos da célula, pode acontecer um atraso anafásico levando à perda desse cromossomo e, conseqüentemente, à formação de células anormais. Se células trissômicas e/ou monossômicas viáveis surgem em tecidos somáticos, seja por um processo de atraso anafásico, seja por um processo de falta de disjunção, o resultado é o mosaicismo (Therman, 1986).

Em relação às euploidias os mecanismos de formação envolvidos podem ser distintos ou semelhantes em ambas, triploidias e tetraploidias.

Entre as triploidias, sabe-se que as mesmas podem surgir de diferentes maneiras a partir de variações de apenas dois mecanismos básicos: fusão de três gametas haplóides ou através da junção de um gameta haplóide e outro diplóide (Jacobs & Morton, 1977). Nessa última situação pode-se presumir que o gameta diplóide, por sua vez, origina-se por falta de segregação de todo o lote cromossômico ou cromatídico.

Denomina-se dispermia a fusão de um óvulo (n) por dois espermatozóides (n cada um deles), diandria a fusão de um óvulo haplóide com um espermatozóide diplóide e diginia a fusão de um óvulo diplóide com um espermatozóide haplóide.

A formação de um tetraplóide pode se dar por meio de três mecanismos distintos: 1) falha na primeira clivagem ou em divisões muito precoces de um zigoto; 2) fusão de dois gametas diplóides e 3) fusão de três ou mais gametas (Jacobs & Morton, 1977).

Quanto aos rearranjos estruturais, eles surgem a partir de quebras cromossômicas, as quais podem ocorrer espontaneamente ou devido à ação de algum agente mutagênico (Therman, 1986). É óbvio que a grande variedade de rearranjos depende do número e dos locais de quebra.

I.8.) ORIGEM PARENTAL DAS ABERRAÇÕES CROMOSSÔMICAS

Baseado no fato, sobejamente conhecido, de que os cromossomos podem apresentar regiões polimórficas, as quais segregam segundo as leis de Mendel, numerosos autores têm utilizado esse conhecimento para estudar a origem parental das aberrações cromossômicas, sejam as aneuploidias, sejam as euploidias.

Embora existam outras técnicas de bandamento cromossômico capazes de evidenciar os polimorfismos, as mais frequentemente utilizadas são as bandas Q (QFQ) e C (CBG) (Lauritsen & Friedrich, 1976; Niikawa et al., 1977; Kajii & Niikawa, 1977; Lauritsen et al., 1979; Hassold & Matsuyama, 1979; Meulenbroek & Geraedts, 1982; Hassold et al., 1984). A banda R (Niikawa et al., 1977; Kajii & Niikawa, 1977) e a banda NOR (Meulenbroek & Geraedts, 1982), também têm sido utilizadas para a detecção de polimorfismos cromossômicos específicos.

Além dos polimorfismos cromossômicos detectados por técnicas citogenéticas, outros procedimentos também têm sido utilizados com o objetivo de se identificar a origem parental das aberrações cromossômicas. Polimorfismos dos antígenos HLA e de DNA (hibridação molecular a partir da técnica de Southern) foram utilizados por Couillin et al. (1987) para determinar a origem parental de abortos triplóides, enquanto que Surti et al. (1986) lançaram mão de técnicas citogenéticas e do estudo de isoenzimas e de polimorfismos no tamanho de fragmentos de restrição (restriction fragment length polymorphism, RFLP) para identificar

a origem parental de tetraplóides. Os RFLP também foram utilizados na identificação da origem parental do X na monossomia X em material de aborto (Hassold et al., 1985; Hassold et al., 1988).

I.8.a.) Origem parental das trissomias autossômicas

Entre os abortos espontâneos, na maior parte das vezes, o cromossomo extra do par trissômico tem origem a partir de erro de disjunção durante a primeira divisão meiótica materna (MImat) (Lauritsen & Friedrich, 1976; Hassold & Matsuyama, 1979; Meulenbroek & Geraedts, 1982; Hassold et al., 1984). Origem parental semelhante também foi detectada entre os mosaicos (Hassold & Matsuyama, 1979), sugerindo que a formação da linhagem celular normal deve ocorrer após a fertilização.

A partir de uma revisão de 5 trabalhos sobre a origem do cromossomo extra entre os abortos trissômicos, Boué et al. (1985), mostraram que o erro de disjunção na MImat é o achado mais freqüente não só nas trissomias de acrocêntricos como também nas trissomias de não acrocêntricos. Também ficou claro, nessa revisão, que somando os erros das meioses I e II, tanto materna quanto paterna, percebe-se que a falta de disjunção é oito vezes mais freqüente durante a ovogênese (19,5%) do que durante a espermatogênese (2,4%).

Em relação à trissomia dupla, os dois eventos levando à formação desse tipo de aberração cromossômica são, aparentemente, independentes, ignora-se, no entanto, se as duas aneuploidias resultam de falta de disjunção de dois cromossomos diferentes no mesmo gameta, ou se ocorre falta de disjunção em cada um dos gametas que participam da formação do zigoto (Boué et al., 1985).

I.8.b.) Origem parental das triploidias

Embora os três principais mecanismos, anteriormente referidos (diandria, diginia e dispermia), sejam capazes de originar conceitos triplóides, numerosos trabalhos utilizando o estudo de polimorfismos cromossômicos (Kajii & Niikawa, 1977; Jacobs, et al., 1978; Lauritsen et al., 1979; Meulenbroek & Geraedts, 1982, Jacobs et al., 1982; Uchida & Freeman, 1985) mostraram, de maneira inquestionável, que a dispermia é o mecanismo que mais freqüentemente leva à formação de triplóides.

Numa revisão, Lauritsen et al. (1979) demonstraram que, de 48 casos informativos, 83,3% dos triplóides eram de origem paterna, sendo, pelo menos, 45,8% originados por dispermia; enquanto que 16,7% dos casos tiveram origem na meiose I materna. Posteriormente, Jacobs et al. (1982), estudando 108 triplóides encontraram 78 casos informativos. Desses, 57 ou 73% eram de origem paterna, sendo 41 ou 53% do total devido à dispermia.

A dispermia, como principal mecanismo de origem dos triplóides, também foi demonstrada analisando-se os polimorfismos de HLA (Couillin et al., 1987).

A origem parental dos hipertriplóides é semelhante à origem dos triplóides e a dos trissômicos em conjunto uma vez que os abortos, cujos cariótipos mostram uma hipo ou hipertriploidia são decorrentes de dois diferentes erros, portanto dois mecanismos de aberração cromossômica independentes, ou pelo menos aparentemente independentes, se associam para formar um cariótipo com uma dupla anomalia. (Boué et al., 1985).

I.8.c.) Origem parental das tetraploidias

Apoiando-se no fato de que, aproximadamente, metade dos

abortos tetraplóides são 92,XXXX e a outra metade 92,XXYY, acredita-se, em geral, que esses dados suportam a hipótese de que o principal mecanismo de formação dos tetraplóides é a falta de clivagem ou de citocinese nas primeiras divisões do zigoto (Jacobs & Morton, 1977; Boué & Boué, 1974; Kajii & Niikawa, 1977; Boué et al., 1985).

Os raríssimos casos de hipertetraploidia - 94,XXYY,+E,+E (Kajii et al., 1980) e 94,XXXX,+16,+16 (Boué & Boué, 1974) têm sido explicados como sendo decorrentes de uma falha na clivagem da primeira divisão de um zigoto com trissomia 16 (Boué & Boué, 1970).

Mais recentemente, Surti et al. (1986) demonstraram que dois tetraplóides, ambos com cariótipo 92,XXXY, foram originados por trispermia. Em verdade, Shepard et al. (1982), utilizando polimorfismos citogenéticos e bioquímicos, já haviam demonstrado esse mecanismo em um aborto tetraplóide com cariótipo 92,XXXX.

I.8:d.) Origem parental da Monossomia X

No passado, a origem do único X nas pacientes portadoras de Síndrome de Turner (45,X), assim como a origem do X extra nos portadores de Síndrome de Klinefelter (47,XXY), foi demonstrada utilizando o estudo de marcadores ligados ao cromossomo X, como por exemplo, o estudo do grupo sanguíneo Xg (Race, 1975).

Baseado nesses dados e na alta incidência do cariótipo 45,X entre abortos espontâneos, supunha-se, até há bem pouco tempo, que a origem do único X presente nesses conceitos poderia afetar o fenótipo e, em particular, a sobrevivência dos mesmos. Acreditava-se que entre os abortos poder-se-ia encontrar uma maior freqüência de abortos 45,X com o X de origem paterna (45,X^P), uma vez que entre os 45,X sobreviventes a maior parte herda o X materno (45,X^M).

Hassold et al. (1985), utilizando a técnica de RFLP em células cultivadas de abortos 45,X, demonstraram que o único X, tanto poderia ser de origem paterna quanto materna e, à semelhança do que acontecia entre os indivíduos vivos com síndrome de Turner, a maior parte dos abortos eram 45,X^M (6 em 9 casos). Mais recentemente, Hassold et al. (1988) confirmaram esses dados estudando uma amostra de 35 abortos.

Aparentemente a falta de disjunção seria o mecanismo de origem de gametas que formaria os conceitos 45,X. Por outro lado, se esta fosse a única fonte de monossomia X, trissomias de cromossomos sexuais como, 47,XXX; 47,XXY ou 47,XYY deveriam ser tão comuns quanto é o cariótipo 45,X, e não o são. Seleção in utero não poderia explicar a baixa frequência daquelas trissomias, inclusive porque a maioria delas sobrevive ao termo. De todo o modo, esses dados fazem supor que uma parte dos 45,X surge a partir de um processo de perda de um cromossomo sexual, não relacionado à falta de disjunção meiótica (Hassold, 1986).

Em relação ao cariótipo 47,XYY, referido acima, Guttenbach & Schmid (1990) demonstraram, utilizando hibridação in situ, que é baixa a frequência de espermatozóides com 2 cromossomos Y (0,27%), refletindo a baixa frequência de XYY que é detectada entre recém-nascidos.

1.9.) RAZÃO DE SEXO DOS ABORTOS

Alguns trabalhos sobre citogenética de abortos espontâneos mostram um excesso de cariótipos femininos entre os cariótipos normais (Hassold et al., 1980; Lauritsen, 1976), enquanto outros mostram um excesso de cariótipos masculinos (Creasy et al., 1976; Kajii et al., 1980). Considerando a grande dificuldade em evitar contaminação de células maternas em culturas de abortos, presume-

se que esse é um dos fatores responsáveis por essas diferenças (Kajii et al., 1973; Hassold et al., 1983).

Hassold et al. (1983) demonstraram que a razão de sexo entre abortos cromossomicamente normais era 1,32, significativamente maior que a razão de sexo detectada em recém-nascidos (1,06-1,07). Para efeito dos cálculos dessa análise, os autores retiraram os casos de 46,XX referentes às molas verdadeiras e eliminaram aqueles correspondentes à contaminação materna. Em relação a todas as trissomias, Hassold et al. (1983) encontraram uma razão de sexo (1,15) significativamente maior que a unidade.

I.10.) IDADE GESTACIONAL DOS ABORTOS ESPONTÂNEOS

Cerca de 90% dos abortamentos espontâneos ocorrem no primeiro trimestre gestacional (Boué et al., 1985) e, de uma maneira geral, eles podem acontecer em qualquer semana dentro desse período. Contudo, existem algumas diferenças quando essa análise é feita observando-se o tipo de cariótipo dos abortos.

Metade dos abortamentos com abortos cromossomicamente normais acontecem até a 17^a semana, enquanto que 60% dos anormais concentram-se em torno da 11^a semana (Creasy et al., 1976; Kajii et al., 1980). Os abortos 45,X e os triplóides, por outro lado, costumam apresentar uma idade gestacional mais avançada, sendo esses, juntamente com os que apresentam trissomias dos cromossomos 21, 18 e 13, responsáveis por 70% dos cariótipos anormais encontrados entre abortos com idade gestacional de 16 semanas (Hassold et al., 1980).

Outra observação interessante é a de que, a idade gestacional média dos triplóides varia de acordo com a origem parental do lote haplóide extra e tende a ser maior quando esse é de origem paterna, em torno de 17 semanas. Ao contrário, o lote haplóide extra sendo de origem materna, a idade gestacional média tende a

ser inferior àquela, ou seja, de 10 ou 13 semanas, dependendo se a falha ocorre na 2ª ou 1ª divisão meiótica respectivamente (Hassold et al., 1980).

Ao contrário do esperado, alguns trabalhos mostraram uma baixa freqüência de aberrações cromossômicas em abortos com idade gestacional inferior a 8 semanas (Creasy et al., 1976; Kajii et al., 1980; Warburton et al., 1980a; Hassold et al., 1980). A verdade, no entanto, é que não têm sido relatadas abordagens que permitam um estudo citogenético mais acurado em fases mais incipientes do desenvolvimento humano. Por outro lado, estudos realizados em gametas têm mostrado uma alta freqüência de aberrações cromossômicas. Entre os gametas masculinos a freqüência de espermatozoides cromossomicamente anormais é da ordem de 8,5% (Martin et al., 1983) enquanto que entre ovócitos a taxa de anormalidades parece ser cerca de 32%, embora a mesma tenha se mostrado discordante nos vários trabalhos como referem Plachot et al. (1987).

I.11.) IDADE DE DESENVOLVIMENTO DOS ABORTOS ESPONTÂNEOS

Embora mais fácil de ser utilizada para estimar a idade do concepto, a idade gestacional é considerada um parâmetro pouco confiável, pois está sujeita a vários tipos de erros e, em relação aos abortos, não reflete a real idade dos mesmos, ou seja, a idade de desenvolvimento.

Uma estimativa do estágio de desenvolvimento pode ser feita por meio de um exame anátomo-patológico acurado, com descrição, macro e microscópica detalhada do aborto (Philippe & Boué, 1969).

Baseado em estimativas de desenvolvimento embrionário numa série de abortos estudados citogeneticamente, Boué & Boué (1970) demonstraram que, em geral, os abortos permanecem retidos in utero durante um período de 7 semanas em média, após a parada de

desenvolvimento. Desse modo a idade real de um aborto (correspondente à parada de desenvolvimento), via de regra, não corresponde a idade gestacional.

I.12.) FATORES DE RISCO

I.12.a.) Idade materna nos abortos espontâneos

À semelhança do que acontece entre NV e NM portadores de trissomias, para os quais existe uma forte associação com a idade materna avançada, alguns trabalhos referentes a abortos têm mostrado associações semelhantes (Boué et al., 1975; Lauritsen, 1976; Kajii et al., 1980; Hassold et al., 1980). Tais associações, porém, variam dependendo do cromossomo em questão.

Entre as trissomias de acrocêntricos, as trissomias duplas e as trissomias dos cromossomos 18 e 20, por exemplo, observa-se o efeito da idade materna de modo extraordinário (Boué et al., 1985). Quanto à trissomia 16, apenas um aumento moderado da idade materna tem sido observado (Boué et al., 1985).

Também é interessante ressaltar que, embora as observações sejam preliminares, não se tem detectado efeito da idade materna, em relação às aberrações numéricas, nem em ovócitos de camundongos (Golbus, 1981), nem em ovócitos de humanos (Sèle, 1989 - dados apresentados na 28ª Reunião da Sociedade Francesa para Estudo da Fertilidade).

A monossomia do X, ao contrário das trissomias está associada a um efeito inverso da idade materna, ou seja, a idade materna média nesses casos tem se mostrado significativamente mais baixa inclusive se comparada às idades maternas dos abortos cromossomicamente normais e nativos (tabela 3) (Kajii & Ohama., 1979; Warburton et al., 1980b).

Tabela 3 - Média e desvio padrão das idades maternas em abortos 45,X, abortos normais e nativos, segundo (I) Warburton et al. (1980b) e (II) Kajii & Ohama (1979).

Ref.	Abortos						
	N	45,X	N	normais	N	Nativos	
I	A1	16	26,2(4,4)	141	30,2(6,0)	6262	28,0(4,8)
	A2	36	22,8(4,9)	343	25,5(6,3)	10046	24,3(5,8)
II		44	25,7(4,4)	206	28,9(5,9)	8987	27,5(5,0)

*Amostra 1 - pacientes da rede privada; amostra 2 - pacientes da rede hospitalar pública. Ambas da cidade de Nova York.

Dados mais recentes mostram uma correlação entre a origem parental dos 45,X e a idade parental, havendo uma idade materna média significativamente mais baixa entre os cariótipos 45,X^P, ou seja entre os casos onde a possível falta de disjunção ocorreu na mãe (Hassold et al., 1988). Esses autores chamam atenção para o fato de que uma fração dos 45,X estaria, desse modo, relacionada a mecanismos de falta de disjunção que ocorreriam mais frequentemente em mulheres mais jovens (Hassold et al., 1988). Na realidade essa associação já havia sido relatada por Penrose na década de 60, por ocasião de seu trabalho sobre falta de disjunção e idade parental (Penrose, 1961).

I.12.b.) Outros fatores de risco

Em relação às trissomias, existem algumas evidências mostrando uma associação entre exposição à radiação e falta de

disjunção cromossômica nos gametas originando conceitos anormais (Alberman et al., 1972; Boué et al., 1975).

Quanto às poliploidias, a associação entre essas e o uso de anticoncepcionais pela mãe, sugerida por Carr (1970), não foi confirmada por outros autores, no entanto, considera-se que as alterações nas fórmulas daquelas drogas podem ter modificado os efeitos colaterais das mesmas (Jacobs, 1977). Por outro lado, tem-se observado um aumento na freqüência de abortos poliplóides em gestações cujas ovulações foram induzidas, especialmente quando o agente terapêutico utilizado foi o HCG (Boué et al., 1975). Estudos experimentais em camundongos mostraram achados semelhantes com aumento dos triplóides originados por diginia (Takagi & Sasaki, 1976).

Os mecanismos envolvidos na triploidia parecem estar mais associados, ou serem mais sensíveis a fatores ambientais que interfiram com a maturação dos ovócitos. Acredita-se que atrasos de fertilização, seja por envelhecimento do espermatozóide no trato genital feminino, seja por atraso na liberação do óvulo maduro (envelhecimento pré-ovulatório), ou ainda por envelhecimento do óvulo, fertilizado tardiamente (envelhecimento pós-ovulatório), podem ter influência na ocorrência de poliploidias (Boué et al., 1985).

Boué et al. (1975), utilizando curvas de temperatura basal, concluíram que havia um aumento significativo na freqüência de poliplóides quando a ovulação ocorria após o 14º dia. O intervalo médio do primeiro período do ciclo foi de 17,06 dias para triploidia, enquanto que entre as trissomias e abortos com cariótipos normais, esse mesmo intervalo de tempo foi de 15,0 e 14,95 dias respectivamente.

Ainda em relação aos triplóides, Couillin et al. (1977) demonstraram a presença de antígenos HLA comuns entre os pais de abortos triplóides. Mais recentemente, Couillin et al. (1987), estudando uma série maior de gestações molares, na qual incluiu os pais, mostraram uma associação positiva entre os antígenos A 28 e B 7 e os pais dos triplóides.

Utilizando uma outra abordagem, Fellous & Dausset (1970)

demonstraram que no espermatozóide os antígenos HLA estão localizados na região pós-acrossomial, local esse primeiramente envolvido com o óvulo por ocasião da fusão dos gametas durante a fertilização (Ynagimachi, 1973). Supõe-se assim que, os antígenos HLA dos espermatozóides possam desempenhar papel importante durante a fusão dos gametas. Esses achados sugerem que, quando dois gametas apresentam antígenos iguais, o mecanismo que impede a penetração de um outro espermatozóide no óvulo, possa se tornar mais susceptível, permitindo dessa forma a entrada de dois espermatozóides (dispermia) ou mais devido à falha de reação cortical (Couillin et al., 1977; Philippe et al., 1980).

Além dessas associações, demonstradas e sugeridas, entre HLA e abortos triplóides, sabe-se hoje que os abortamentos espontâneos são imunogênicos para a mãe (Gelabert et al., 1981), parecendo indicar, portanto, que o sistema HLA desempenha, de fato, um papel importante no processo de rejeição (Couillin et al., 1987).

I.13.) FENÓTIPO DOS ABORTOS ESPONTÂNEOS

Ainda na era pré-citogenética, mais precisamente nas décadas de 40 e 50, os trabalhos de Hertig confirmaram, de maneira irrefutável, a idéia do Dr. Streeter e de seus discípulos de que a etiologia do abortamento espontâneo deveria ser decorrente de algum defeito do próprio ovo fertilizado, idéia essa expressa naquela época por: "germ plasm defect" (Hertig & Sheldon, 1943; Hertig & Rock, 1944; Hertig & Rock, 1949; Hertig et al., 1956; Hertig et al., 1959).

Em seus trabalhos ficou demonstrado que além da alta taxa de mortalidade em fases incipientes do desenvolvimento humano, a maior parte dos conceptos apresenta alterações morfológicas incompatíveis com o desenvolvimento. Dentre os ovos patológicos estudados por Hertig & Sheldon (1943), metade deles era

representado pelo ovo cego ou anembrionado.

Com o desenvolvimento das técnicas citogenéticas, porém ainda na época pré-banda, alguns trabalhos já mostravam uma correlação entre aberração cromossômica e alterações anátomo-patológicas dos abortos, (Singh & Carr, 1967; Philippe & Boué, 1969; Mikamo, 1970; Boué & Boué, 1970). Após a descoberta das técnicas de bandamento cromossômico, vários estudos utilizando metodologia semelhante à dos trabalhos referidos acima, tentaram delinear melhor o fenótipo dos diversos tipos de aberração cromossômica (Boué et al., 1976; Honoré et al., 1976; Kajii et al., 1980; Geisler & Kleinebrecht, 1978; Byrne et al., 1985; Canki et al., 1988).

A maior incidência de anomalias morfológicas é encontrada entre os abortos mais incipientes, atingindo taxas próximas a 100% quando a idade de desenvolvimento do conceito é inferior a 4 semanas (Mikamo, 1970; Miller & Poland, 1970), caindo para aproximadamente 12%, por volta da 12ª semana (Mikamo, 1970).

A incidência de aberrações cromossômicas, por outro lado, embora alta, é inferior à taxa de anomalia morfológica (Mikamo, 1970). Boué & Bessis (1989), estimaram que 75% dos abortos que param de se desenvolver entre 2-3 semanas, o que corresponde a 4-5 semanas de amenorréia, devem ser portadores de anomalias cromossômicas.

Os efeitos letais das aberrações cromossômicas se fazem sentir primeiro na placenta, e só posteriormente é que o desenvolvimento do embrião ou feto é comprometido (Boué & Boué, 1970; Geisler & Kleinebrecht, 1978). Na verdade, algumas aberrações não permitem, sequer, a proliferação das células da massa interna que vai dar origem ao embrião.

De uma maneira generalizada, pode-se dizer que as principais características de abortos portadores de aberrações cromossômicas são: idade de desenvolvimento inferior a 8 semanas (90% dos casos), retardo de crescimento placentário e longo período de retenção in utero (Boué et al., 1976).

Certas anomalias são tão letais que o exame anátomo-patológico mostra uma parada de desenvolvimento em fases precoces da embriogênese, como é o caso das tetraploidias e de

algumas trissomias, como as que envolvem, por exemplo, os cromossomos 2, 3, 4, 5, 6, 11, 17 e 19 (Boué et al., 1976). Outras anomalias, ao contrário, sobrevivem até o 2º trimestre gestacional, quando então são abortadas, como acontece geralmente com as triploidias e a monossomia X (Philippe, 1986).

Alguns tipos de aberração cromossômica mostram forte associação com determinadas alterações histopatológicas. Por exemplo, entre os triplóides a associação com as transformações hidatiformes da placenta, levando ao quadro de mola parcial (Boué et al., 1976; Honoré et al., 1976; Szulman et al., 1981) é tão freqüente que Philippe et al. (1980) sugeriram o termo de síndrome da triploidia para essa associação. As principais características desses abortos são: presença de embrião ou feto e membranas fetais, daí o nome de mola embrionada, discreta hiperplasia trofoblástica e vilos hidrópicos avascularizados com superfície irregular e aleatoriamente localizados entre vilos não hidrópicos (Szulman et al., 1982; Boué et al., 1976; Philippe et al., 1980; Rehder et al., 1989).

Entre as placentas de abortos trissômicos a hipoplasia trofoblástica com vilos esparsos e avasculares, além de células trofoblásticas intra-vilosas parecem ser as principais características nesses casos (Boué & Philippe, 1969; Boué et al., 1976; Honoré et al., 1976). A presença ou não de embrião e o estágio de desenvolvimento depende do cromossomo envolvido.

Por ser a mais freqüente e, portanto, a mais facilmente estudada, a trissomia 16 foi caracterizada, morfológicamente, como uma vesícula coriônica pequena contendo um embrião de 1 mm ou menos, o que corresponde a uma parada de desenvolvimento no estágio de disco embrionário (Boué et al., 1976).

O terceiro tipo de aberração cromossômica mais freqüente, aqui mencionado, corresponde à monossomia X. O fenótipo nesses casos varia de acordo com a idade do aborto, se muito precoce costuma se apresentar como um saco amniótico intacto, contendo um cordão bem definido ligado a uma porção amorfa de tecido embrionário na sua extremidade (Boué et al., 1976; Canki et al., 1988). Além disso a placenta costuma apresentar trombose

subcorial, a qual é conhecida pelo nome de mola de Breus (Boué et al., 1976; Honoré et al., 1976). Nos abortos mais tardios, assim como entre natimortos portadores do cariótipo 45,X, é comum o achado de fetos hidrópicos portadores de malformações internas e anomalias ectoscópicas principalmente representadas pelo higroma cístico (Singh & Carr, 1966; Boué et al., 1976; Canki et al., 1988; Schwanitz et al., 1989). Na verdade esse fenótipo (característico da síndrome de Turner) parece ser provocado, antes pelo desequilíbrio causado pela razão autossomo/cromossomo X (sendo 44:1 nas pacientes 45,X e 88:2 nos fetos 90,XX), do que pela monossomia do X propriamente dita (Fryns et al., 1987).

Pelo menos para alguns tipos de aberração cromossômica a correlação fenótipo versus cariótipo tem se mostrado tão precisa que certos pesquisadores chegam a sugerir que diante de certos quadros morfológicos o diagnóstico cariotípico poderia ser evocado ou mesmo estabelecido (Philippe & Boué, 1969; Boué et al., 1976; Honoré et al., 1976). Esses últimos, estudando uma série de abortos terapêuticos e espontâneos concluíram que o diagnóstico cariotípico dos abortos poderia ser feito a partir do exame da placenta com uma precisão de aproximadamente 80%. Por outro lado, a experiência pessoal da autora, bem como trabalhos mais recentes (Novak et al., 1988; Rehder et al., 1989; Minguillon et al., 1989) não confirmam essas observações, pelo menos da maneira enfática que foi utilizada por aqueles autores.

Além do exame histopatológico, uma outra abordagem morfológica dos abortos pode ser feita através do exame ultra-sonográfico, uma vez que a precisão dos aparelhos de ultra-sonografia aumentou muito nos últimos anos. A esse respeito, Boué & Bessis (1989), recentemente, comunicaram que têm utilizado essa metodologia para traçar o perfil sonográfico dos abortos.

I.14.) OS CONCEPTOS MOLARES

A chamada degeneração molar é uma anormalidade do parênquima placentário caracterizada pela formação de uma massa cística, cujos cistos correspondem às vilosidades coriônicas dilatadas (Davis, 1986). A partir de conceitos histopatológicos (Vassilakos et al., 1977; Szulman & Surti, 1978a), citogenéticos (Kajii & Ohama, 1977; Jacobs et al., 1978) e de marcadores bioquímicos (Lawler et al., 1979; Jacobs et al., 1980; Lawler et al., 1982) os conceitos molares foram divididos em dois tipos: mola hidatiforme completa ou verdadeira (MH) e mola parcial (MP).

Na MH, a degeneração molar é difusa e não existe feto. As células trofoblásticas continuam sua função de absorção de fluido do espaço intervilloso, porém, dada a ausência de vascularização, o fluido não é drenado, provocando uma distensão progressiva e transformação dos vilos em vesículas. Na MP, ao contrário, o feto está usualmente presente e a vascularização fetal ocorre aleatoriamente em alguns vilos, de modo que apenas os vilos avascularizados distender-se-ão, produzindo uma transformação ou degeneração hidatiforme parcial (Davis, 1986).

A incidência da MH varia em função da região geográfica e do grupo étnico, apresentando uma frequência muito maior nos países do 3° mundo (leste asiático e africano), do que na Europa e no continente americano (Womack & Elston, 1985). Enquanto a frequência é de 1:2000 entre essas últimas regiões, (Bracken et al., 1984), nos países do 3° mundo a MH incide em uma de cada 200 gestações (Correa et al., 1974). As MP, por outro lado, apresentam uma incidência praticamente uniforme em todos os estudos sobre abortos espontâneos (Boué et al., 1985; Hassold, 1986).

Do ponto de vista citogenético e etiológico a MH apresenta, na quase totalidade das vezes, cariótipo diplóide 46,XX, porém de origem androgenética, ou seja, decorrente da fertilização de um óvulo anucleado ou com o genoma funcionalmente inativado, por um

espermatozóide haplóide que duplica seu material genético sem sofrer citocinese (Kajii & Ohama, 1977; Jacobs et al., 1980; Couillin et al., 1985; Couillin et al., 1987). Enquanto o genoma, assim originado, é totalmente paterno, o DNA mitocondrial das MH é de origem materna (Wallace et al., 1982; Edwards et al., 1984).

Embora raras, as MH 46,XY acontecem com uma frequência de aproximadamente 4% entre todas as molas. Elas também apresentam genoma nuclear unicamente paterno, porém se originam por dispermia (Kajii et al., 1984).

As MP, na sua maioria, apresentam cariótipo triplóide, como já referido anteriormente (Szulman & Surti, 1978b; Jacobs et al., 1982). Segundo esses últimos autores, todas as MP são, virtualmente, triplóides, mas nem todo triplóide representa uma mola parcial. Não obstante essa afirmação, outros cariótipos anormais como trissomias autossômicas e monossomia X, têm sido relatados, esporadicamente, associados ao quadro morfológico de MP (Honoré et al., 1976; Vassilakos et al., 1977; Szulman et al., 1981; Jacobs et al., 1982). Mais recentemente, Surti et al. (1986), relataram dois casos de abortos tetraplóides, ambos com fenótipo de MP e originados por trispermia, ou seja, por tripla contribuição paterna. Além disso, cariótipos normais também têm sido associado às MP (Teng & Ballon, 1984). Dentre esses últimos casos, embora raros, destacam-se os casos de mola coexistindo com feto vivo normal (Feinberg et al., 1988; Altemani & Cavalcanti, 1990). Mais raramente ainda, pode-se observar feto diplóide normal associado à mola verdadeira de origem androgenética, devido a uma gestação gemelar (Fisher et al., 1982).

Acredita-se que o fenótipo molar, seja das MH, seja das MP, está associado à contribuição cromossômica predominantemente paterna desses conceitos (Surti et al., 1986). Essa suposição baseia-se nas seguintes observações: 1.) todas as MH apresentam os dois lotes cromossômicos de origem paterna e nenhum materno (Kajii et al., 1984); 2.) os abortos triplóides com dois lotes cromossômicos de origem paterna apresentam fenótipo de MP, enquanto que os triplóides de origem materna não apresentam degenerações hidatiformes, ou seja, fenótipo molar (Jacobs et al.,

1982); 3.) os abortos tetraplóides com três lotes cromossômicos paternos são fenotipicamente caracterizados pela MP (Surti et al., 1986). Além disso, trabalhos experimentais têm demonstrado que enquanto o genoma paterno é essencial para o desenvolvimento dos tecidos extra-embrionários, o genoma materno está relacionado, preferencialmente, com o desenvolvimento do embrião (Surani et al., 1984; Surani et al., 1986; Cattanach, 1986; Barra & Renard, 1988; Babinet et al., 1989). Baseado nesses dados, sugere-se que ambos os tipos de molas, completa e parcial, constituem exemplos clássicos de impressão (imprinting) parental do genoma, que afeta a expressão dos genes (Marx, 1988; Cattanach, 1986).

Devido a hiperplasia trofoblástica, ambas as formas de mola (MP e MH), costumam apresentar secreção elevada de HCG, sendo esta muito mais pronunciada e persistente após o esvaziamento uterino, na MH (Philippe et al., 1980; Szulman & Surti, 1982; Philippe, 1986).

Do ponto de vista evolutivo, aceita-se, em geral, que as MP não costumam apresentar complicações (Philippe et al., 1980), ao contrário, cerca de 10-20% das MH apresentam evolução clínica desfavorável, sendo que 1-3% delas são seguidas por coriocarcinoma e 5-10% por mola invasiva (Davis, 1986).

Considerando que alguns trabalhos têm mostrado a MP evoluindo com doença trofoblástica persistente (Mostoufi-Zadeh et al., 1987), com mola invasiva (Gaber, 1986) e com coriocarcinoma (Looi & Sinesaratnam, 1979), Fox (1989) sugere que se proceda, com as MP, de maneira idêntica como é feito para as MH, ou seja, com monitorização da paciente após o esvaziamento uterino, uma vez que não se conhece o risco real de uma malignização.

I.15.) ESTUDOS CITOGENÉTICOS EM ABORTOS CONSECUTIVOS

Enquanto a análise citogenética de abortos espontâneos é

indispensável para estudos epidemiológicos, a nível individual o interesse clínico pelo cariótipo de um aborto espontâneo depende da utilidade dessa informação para o aconselhamento genético.

Diferentes trabalhos mostraram existir uma correlação entre a constituição cromossômica de diferentes abortos de um mesmo casal (Hassold, 1980). Quando um primeiro aborto é cromossomicamente normal, o subsequente também tem maior probabilidade de apresentar cariótipo normal (Boué & Boué, 1973; Hassold, 1980; Warburton et al., 1987). Corroboram esses dados a associação entre cariótipos normais e abortamento habitual observada por Morton et al. (1987). Hassold, em 1980, também já havia observado que a taxa de perdas gestacionais (32,5%) era muito maior no grupo de pacientes com abortos consecutivos cromossomicamente normais, do que a taxa de 11,5%, observada entre o grupo com abortos seguidos, apresentando cariótipos anormais.

Quanto aos abortos cromossomicamente anormais, os resultados preliminares que sugeriam um risco aumentado de trissomia seguindo um aborto trissômico (Boué & Boué, 1973; Alberman et al., 1975; Lauritsen, 1976), não foram confirmados por trabalho mais recente de Warburton et al. (1987), no qual foram estudadas 273 mulheres com dois abortos cariotipados. Esses autores atribuíram ao risco de recorrência, aparentemente aumentado, o efeito da idade materna. Warburton et al. (1987), também puderam observar uma associação significativa em relação a recorrência de outros tipos de aberração cromossômica, especificamente monossomia X e triploidia, porém, não descartaram a possibilidade de tratar-se de um achado casual.

Morton et al. (1987), por outro lado, demonstraram, por análise de segregação, que existe um risco de recorrência aumentado entre abortos trissômicos, mesmo ajustando os dados em relação à idade materna, porém, segundo esses autores, tal risco não parece suficiente para desempenhar papel importante no aconselhamento genético.

De todo modo, levando em consideração que existe uma associação entre aborto com cariótipo normal e abortamento habitual, conclui-se que o cariótipo de uma aborto espontâneo tem

algum prognóstico e, portanto, grande utilidade para o aconselhamento genético.

I.16.) AS DOSAGENS BIOQUÍMICAS versus ABERRAÇÃO CROMOSSÔMICA

Nos últimos anos várias dosagens bioquímicas no soro materno têm sido relacionadas aos defeitos congênitos e/ou às aberrações cromossômicas in vivo, sendo a mais conhecida delas a dosagem de α -fetoproteína, seja no líquido amniótico, seja no soro materno.

I.16.a.) α -fetoproteína (AFP)

A AFP é uma glicoproteína de estrutura semelhante à albumina, que em papel de eletroforese migra na região α -1. Do ponto de vista evolutivo ela é considerada uma proteína antiga que aparenta ter uma função essencial no início do desenvolvimento humano, porém seu papel é ainda desconhecido (Crandall et al., 1978). No conceito ela é sintetizada desde os primórdios do desenvolvimento do zigoto, inicialmente pelo saco vitelino e posteriormente pelo fígado fetal. Este último é o principal responsável pela sua produção no final do 1º trimestre (Crandall et al., 1978). Ao longo do desenvolvimento fetal a AFP apresenta seu pico máximo entre a 12ª e a 13ª semana, ocasião em que o glomérulo fetal ainda imaturo a filtra para o líquido amniótico. Posteriormente, com a maturação do glomérulo, sua filtração é progressivamente interdita e, portanto, sua concentração no líquido amniótico começa a declinar, atingindo níveis muito baixos ao nascimento (Muller, 1989).

1.16.b.) Gonadotropina coriônica humana (HCG)

O HCG é um hormônio glicoprotéico de peso molecular igual a 38000, o qual é secretado pelo sinciciotrofoblasto (Stuart et al., 1983). O HCG é formado por duas subunidades: α e β , as quais são sintetizadas separadamente. Enquanto a subunidade α é espécie-específica e virtualmente idêntica às subunidades dos três hormônios hipofisários (FSH, LH e TSH), a subunidade β tem estrutura similar à subunidade homônima do LH, porém apresenta marcada diferença na seqüência de aminoácidos (Pandian et al., 1980). Embora a subunidade β confira atividade biológica ao hormônio, ela é biologicamente inativa quando isolada (Stuart et al., 1983; Muller & Boué, 1990). Enquanto a subunidade α (α -HCG) é sintetizada no citotrofoblasto, a subunidade β (β -HCG) tem nas células intermediárias e na camada externa sincicial o seu principal local de síntese, existindo uma correlação entre a proliferação sincicial e os níveis de HCG até a 8ª semana (Hay, 1988; Muller & Boué, 1990).

As dosagens de HCG e/ou de suas subunidades têm sido amplamente utilizadas para a detecção precoce da gestação bem como para o diagnóstico e monitorização de doenças trofoblásticas. Segundo Braunstein et al. (1976) o HCG pode ser detectado cerca de 6 dias após a concepção.

Inicialmente, a AFP foi utilizada em oncologia dada a sua associação com certos tipos de câncer, primeiramente relatada em 1958 por Abelev. Seppala & Ruoslahti (1972) foram os primeiros a reconhecer uma possível utilização da AFP na identificação de certas anomalias fetais no período pré-natal, porém, foram Brock & Sutcliffe (1972) os primeiros a relatar o diagnóstico de defeitos do tubo neural no 2º trimestre da gestação pela medida do nível de AFP no líquido amniótico.

Hoje, a AFP é largamente utilizada em diagnóstico pré-natal, seja a partir da dosagem no líquido amniótico, seja a partir da dosagem no soro materno, estando associada a vários tipos de malformações, incluindo: defeitos da parede abdominal,

(Nørgaard-Pedersen et al., 1985), higromas císticos (Elejalde et al., 1985), aplasia cogênita de cutis (Cruikshank & Granados, 1988) e defeitos de fechamento de tubo neural, entre outras. Além disso, também foram observadas anormalidades placentárias em pacientes com níveis séricos elevados de AFP durante as gestações (Perkes et al., 1982).

Merkatz et al. (1984) demonstraram pela primeira vez a associação entre AFP e aberração cromossômica. Esses autores encontraram níveis significativamente mais baixos dessa proteína nos soros maternos de gestações com fetos trissômicos, do que entre os soros de mulheres gestantes com fetos normais.

Vários trabalhos confirmaram os dados de Merkatz et al. (1984) em relação a trissomia 21 (Davis et al., 1985; Voigtlander & Vogel, 1985; Hershey et al., 1986; Tabor et al., 1987) e a outras trissomias presentes em nativivos (Lindesbaum et al., 1987; Drugan et al., 1989). As triploidias, por outro lado, apresentam níveis elevados de AFP no soro materno (Pircon et al., 1989).

Desde a primeira descrição sobre uma associação entre níveis reduzidos de AFP no soro materno e trissomias autossômicas (Merkatz et al., 1984), vários pesquisadores vêm tentando aprimorar métodos que permitam o rastreamento de aberrações cromossômicas, principalmente de síndrome de Down, em gestações precoces, visando uma maior eficiência dos métodos de diagnóstico pré-natal.

Bogart et al. (1987) foram os primeiros a utilizar a dosagem de AFP e HCG nos soros maternos de gestações anormais com o objetivo de detectar aberração cromossômica.

Outras substâncias têm sido utilizadas com o mesmo fim: estriol não conjugado (Wald et al., 1988a; Canick et al., 1988); β 1-glicoproteína (Wald et al., 1989); γ -glutamiltanspeptidase (Zeitune et al., 1989).

Além dessas, a dosagem de acetilcolinesterase tem sido utilizada, mais recentemente, para detecção do defeitos de fechamento de tubo neural (Muller, 1989). Esse autor também recomenda a medida da atividade de enzimas digestivas (γ -glutamiltanspeptidase, leucina amniopeptidase e fosfatase

alcalina) para a detecção das anomalias digestivas.

Em relação aos abortos espontâneos, embora alguns trabalhos mostrem uma associação entre níveis reduzidos de AFP e de HCG no soro materno e a morte precoce de conceptos humanos (Bennett et al., 1978; Edmonds et al., 1982; Haddow et al., 1987), não se conhece nenhum trabalho sistemático entre citogenética de abortos espontâneos e essas dosagens bioquímicas.

II.) OBJETIVOS

O presente trabalho foi planejado visando o estudo prospectivo de aspectos citogenéticos, anátomo-patológicos e bioquímicos, em uma amostra de abortos espontâneos.

Dada a importância do diagnóstico etiológico das perdas gestacionais precoces para o Aconselhamento Genético, e, levando em consideração as dificuldades de realização do estudo citogenético de abortos espontâneos, por várias razões, o objetivo primordial do presente trabalho foi o de realizar uma avaliação crítica e comparativa dos achados cariotípicos com os achados histopatológicos e bioquímicos e verificar se as associações detectadas permitiriam formular o diagnóstico cariotípico de um aborto espontâneo na ausência do estudo cromossômico do mesmo. Em outras palavras, procurava-se responder a seguinte pergunta: "O estudo histopatológico de um aborto espontâneo associado a dosagens de α -fetoproteína (AFP) e gonadotropina coriônica humana (HCG) no soro materno podem predizer o diagnóstico cariotípico do mesmo?"

III.) CASUÍSTICA E MÉTODOS

No presente trabalho a amostra índice foi constituída por 62 abortos espontâneos do primeiro e do segundo trimestre gestacional, os quais foram selecionados dentre os casos enviados ao Serviço do Prof. Dr. Walter Pinto Jr. no período de março de 1987 a março de 1989 (tabela 5). Também fazem parte dessa casuística amostras de sangue das mães desses abortos.

A amostra controle foi representada por sangue de 48 mulheres nos primeiro e segundo trimestre de gestações clinicamente normais. Fizeram parte dessa amostra dois grupos de gestantes. O primeiro, grupo I, foi selecionado a partir de gestantes submetidas a diagnóstico pré-natal no Serviço do Prof. Dr. Walter Pinto Jr., e portanto, com cariótipos fetais conhecidos. O segundo grupo (grupo II), foi selecionado entre as gestantes matriculadas no ambulatório de pré-natal do CAISM, UNICAMP (Centro de Assistência Integral à Saúde da Mulher da UNICAMP) e encaminhadas ao Laboratório Geral do HC-UNICAMP (Hospital de Clínicas da UNICAMP) para a coleta de sangue para exames rotineiros. Nesse último grupo, os conceptos foram conhecidos porque as evoluções das gestações foram acompanhadas por consulta periódica de seus prontuários.

Os exames citogenéticos foram realizados no Serviço do Prof. Dr. Walter Pinto Jr., e os exames bioquímicos de dosagem de α -fetoproteína (AFP) e de gonadotropina coriônica humana (HCG) no soro materno, foram realizados no Laboratório Fleury (São Paulo, Capital) sob a orientação do Prof. Dr. Gilberto Vieira. Quanto ao estudo anátomo-patológico dos casos, estes foram realizados no Laboratório de Anatomia Patológica do Instituto Fernandes Figueira da Fundação Oswaldo Cruz (Rio de Janeiro, RJ) pela Dra. Hilda Ramos e supervisionados pela Dra. Aparecida Garcia.

III.1.) METODOLOGIA UTILIZADA PARA CLASSIFICAR OS ABORTOS

Todos os abortos foram examinados pela autora, a princípio macroscopicamente e, em seguida, submetidos a microdissecção, sob lupa. O exame foi dirigido visando à identificação de tecidos maternos (decídua) e fetais (partes fetais, cordão umbilical, membranas amniótica e coriônica e saco vitelino). Utilizou-se a classificação modificada de Fujikura et al. (1966) (tabela 4) para catalogar os espécimes.

As partes fetais foram cuidadosamente examinadas visando à detecção de alguma anomalia. O cordão umbilical foi examinado quanto ao número de vasos presentes, sendo esse exame realizado nas duas extremidades e ratificado com a observação armada.

A dissecção da membrana amniótica foi feita a partir da face fetal do saco coriônico procurando pinçar, de um lado o córion e do outro o âmnio e, em seguida, tracionando cada membrana em sentido contrário tentando separá-las.

O saco vitelino (SV), observado, por transparência, através do âmnio, caracteriza-se como uma pequena estrutura arredondada e esbranquiçada que se interpõe entre o córion e a membrana amniótica. Quando visualizado, ele era dissecado juntamente com o âmnio.

As vilosidades coriônicas (VC) foram, inicialmente, expandidas dentro de uma placa de Petri contendo meio de cultura, por meio de um processo de esgarçamento e, em seguida, submetidas à dissecção.

Tabela 4 - Classificação utilizada para catalogar as perdas gestacionais. Modificada de Fujikura et al. (1966).

-
- Grupo I** - espécimes incompletos (decídua e/ou material trofoblástico). Casos com tecido trofoblástico (VC) como único tecido presente ou acompanhado de restos decíduais e/ou pedaços incompletos de âmnio e/ou córion.
- Grupo II** - saco coriônico roto sem embrião. Esse grupo pode ser dividido em dois subgrupos:
A - saco coriônico com coto de cordão umbilical, saco vitelino, ou membrana amniótica,
B - saco coriônico sem as características acima. Casos com apenas o saco coriônico roto.
- Grupo III** - saco coriônico intacto sem embrião. Casos com saco coriônico aparentemente íntegro, não havendo nada no seu interior que lembre tecido embrionário ou cordão umbilical. O saco vitelino pode estar presente ou não.
- Grupo IV** - inclui todos os espécimes com embrião ou feto presente. Esse grupo pode ser dividido em quatro subgrupos:
A - embrião ou feto normal,
B - embrião ou feto atrofiado, nodular ou autolisado. Inclui os casos com retardamento de crescimento.
C - embrião ou feto com anomalias localizadas ou com síndromes conhecidas,
D - espécimes com embrião ou feto tão fragmentados e/ou autolisados, que tornaram impossível uma definição de normalidade.
- Grupo V** - molas. Abortos com aparente degeneração hidatiforme sugerindo o diagnóstico de mola parcial ou completa.
-

III.2.) SELEÇÃO DA AMOSTRA ÍNDICE

Para a obtenção dessa amostra foram analisados 117 abortos espontâneos, sendo incluídos apenas os abortos que apresentaram um cariótipo fetal conhecido e, pelo menos, mais uma outra variável estudada, isto é: dosagem bioquímica sérica materna de AFP e de HCG, ou o resultado do estudo anátomo-patológico do material fixado (tabela 5).

Tabela 5 - Relação dos abortos espontâneos encaminhados ao Serviço do Prof. Dr. Walter Pinto Jr. no período de março de 1987 a março de 1989, e analisados para a seleção da amostra índice.

Abortos incluídos na amostra	62
Abortos excluídos da amostra:	55
dados insuficientes	5
crescimento in vitro insatisfatório	12
contaminação da cultura por células maternas	4
contaminação bacteriana da cultura	7
material insuficiente, apenas restos decíduais	16
cariótipo 46,XX de origem indefinida	8
embrião macerado	3
Total	117

De acordo com a tabela 5, 55 casos foram eliminados da amostra

índice. Dentre eles, cinco apresentavam dados insuficientes. Apesar de terem cariótipo fetal conhecido, não havia amostra de sangue materno para dosagem bioquímica, nem resultado de estudo anátomo-patológico. O subgrupo com crescimento in vitro insatisfatório, correspondeu a 12 abortos cujas culturas in vitro ou não mostraram qualquer crescimento celular, ou o crescimento foi extremamente pobre impedindo a retirada de cultura para o estudo cromossômico. O outro subgrupo foi representado por quatro abortos cujas culturas foram totalmente contaminadas por células maternas. A certeza dessa afirmação baseia-se na análise comparativa dos marcadores cromossômicos polimórficos entre metáfases parentais e metáfases do aborto estudadas com técnica de bandamento Q.

Em sete abortos houve contaminação bacteriana da cultura, sendo que em três casos concluiu-se que o material estava originalmente contaminado, enquanto que nos quatro casos restantes a contaminação ocorreu no laboratório devido à manipulação inadequada ou pela utilização de material previamente contaminado.

Um total de 16 casos teve que ser excluído da amostra índice porque o material de aborto havia sido coletado inadequadamente, de modo que se observou apenas restos deciduais quando da avaliação morfológica inicial.

Em oito casos decidiu-se que os abortos seriam excluídos da amostra índice porque o cariótipo 46,XX encontrado, a partir de vilosidade coriônica cultivada, não foi definido quanto à sua origem, se fetal ou materna. Na quase totalidade desses casos, essa indefinição persistiu porque não se obteve sangue dos pais para estudo cromossômico.

Finalmente, os demais três casos excluídos da amostra o foram porque apresentavam embriões já macerados e não se obteve crescimento celular para estudo cariotípico.

III.3.) COLETA DE MATERIAL DA AMOSTRA ÍNDICE

III.3.a.) Dos abortos

Com exceção de dois casos (2895 e 3256), os quais foram completamente eliminados em casa (abortamentos completos), todos os abortos foram coletados durante a curetagem uterina em frascos estéreis contendo meio de cultura (Ham F.10, Cultilab) ou solução fisiológica 0,9% estéril. Uma vez coletados, os abortos eram transportados imediatamente ao Laboratório para serem processados.

Nos casos em que o envio ao Laboratório não podia ser imediato, os frascos contendo o material da curetagem eram guardados à baixa temperatura (4-10°C) por um período máximo de 48 horas.

III.3.b.) Dos sangues maternos

As amostras de sangue (5-10 ml) de 50 mulheres foram obtidas através de punção de veia periférica, com o auxílio de seringas e agulhas descartáveis, no mesmo dia, porém antes, da curetagem uterina.

Após a coleta, o sangue era colocado em tubos cônicos estéreis e deixado à temperatura ambiente por um período mínimo de duas horas. Após a retração do coágulo, os tubos eram submetidos à centrifugação a 1000 rpm durante 10 minutos e os sobrenadantes transferidos para pequenos frascos estéreis, os quais eram armazenados no congelador (0 a -10°C) até o momento de sua utilização para as dosagens de AFP e HCG.

III.4.) COLETA, ESTOCAGEM E SELEÇÃO DA AMOSTRA CONTROLE

O sangue das mulheres da amostra controle foi coletado e estocado de maneira idêntica ao das mulheres da amostra índice.

No grupo I a coleta foi realizada antes ou imediatamente após a punção obstétrica, fosse ela uma punção de vilosidade coriônica ou de líquido amniótico. No grupo II, a coleta foi feita quando da retirada de sangue para exames rotineiros do protocolo de 'pré-natal'.

Um total de 51 amostras de sangue foram coletadas, sendo 31 pertencentes ao grupo II e 20 ao grupo I. Três (6%) dessas 51 amostras foram eliminadas porque as gestantes apresentaram abortamento espontâneo no curso de suas gestações.

No grupo II as gestações foram acompanhadas, indiretamente, por intermédio de revisão de prontuário, interrogatório escrito ou contato telefônico, de sorte que se conhece o produto de todas as gestações desse grupo. No grupo I, infelizmente, não foi possível um acompanhamento da evolução das gestações, contudo, o resultado dos cariótipos fetais normais ou com rearranjos cromossômicos equilibrados foram considerados suficientes para que tais casos permanecessem nessa amostra.

III.5.) COLETA DOS DADOS ANAMNÉSTICOS DAS AMOSTRAS ÍNDICE E CONTROLE

Os dados anamnéticos da amostra índice foram coletados em uma ficha específica (apêndice 1) imediatamente antes da curetagem, ou durante a consulta à paciente para a entrega do resultado do estudo citogenético. Nos casos em que era impossível o comparecimento da paciente à consulta, os dados de anamnese

foram coletados pelo seu obstetra.

Na amostra controle os dados anamnésticos foram obtidos a partir de consulta aos prontuários das gestantes em ambos os grupos dessa amostra.

III.6.) ESTUDO CITOGENÉTICO

III.6.A.) TÉCNICAS DE CULTIVO CELULAR

III.6.A.a.) Dos abortos

III.6.A.a.1.) Técnicas de cultura de longa duração

Todo o material coletado era inicialmente lavado várias vezes (no mínimo três lavagens), com meio de cultura (Ham F.10, Cultilab) a fim de retirar o excesso de sangue e de coágulos presentes. Em seguida, o material era submetido à microdissecção com o auxílio de uma lupa e de duas pinças cirúrgicas de pontas finas. Essa dissecção visava à separação de tecidos de origem fetal ou embrionária (tecidos embrionários propriamente ditos, cordão umbilical, membrana coriônica, membrana amniótica, VC e SV) dos tecidos de origem materna (basicamente restos deciduais). Quando o saco coriônico se apresentava íntegro, ele era puncionado, previamente à dissecção, e o líquido amniótico, quando presente, era cultivado separadamente.

Quando da dissecção, o material era separado em duas partes. Uma delas era destinada para a cultura visando ao estudo cromossômico e a outra fixada em solução de formol para, posteriormente, vir a ser encaminhada para estudo anátomo-patológico. Ambas as partes eram representadas por porções de todos os tecidos fetais presentes e também por pedaços

de decídua.

Após a dissecação os tecidos eram cortados com tesoura curva de ponta fina, a fim de serem reduzidos a pequenos fragmentos, e tripsinizados separadamente com cerca de 10-15 ml de uma solução de tripsina EDTA 1:250 (Cultilab) aquecida a 37°C.

Foram utilizados dois métodos de tripsinização dependendo da hora em que o material chegava ao Laboratório. Quando o material era processado pela manhã a tripsinização era feita seguindo o protocolo descrito abaixo.

Os tecidos imersos na solução de tripsina eram transferidos para um Erlenmeyer contendo um pequeno ímã e colocado em um agitador eletromagnético por um período de 30-45 minutos. Decorrido esse tempo a ação da tripsina era bloqueada pela adição de igual volume de meio de cultura completo (meio de cultura Ham F.10 acrescido de 20% de soro bovino fetal, Cultilab). Imediatamente todo o material era aspirado, transferido para tubos cônicos e estes centrifugados a 1000 rpm durante 10 minutos. O sobrenadante de cada tubo cônico era desprezado e o centrifugado ressuspenso em cerca de 4 ml de meio de cultura completo, os quais eram posteriormente divididos em dois tubos de Leighton. Estes, após arrolhados, eram colocados em estufa a 37°C.

Quando o material era processado à tarde ou à noite, o método de tripsinização utilizado era semelhante ao descrito acima, diferindo apenas quanto ao tempo e à temperatura em que os tecidos permaneciam em contato com a solução de tripsina. Desse modo, após transferido para o Erlenmeyer, o material era colocado a uma temperatura de 4-10°C por um período de 12-24 horas, em seguida aquecido a 37°C durante 20 minutos e, posteriormente, submetido à agitação, inativação da tripsina e lançamento da cultura de maneira idêntica à descrita acima.

Utilizou-se, também, em alguns poucos casos, um outro procedimento, semelhante ao primeiro já descrito, que se denominou de técnica da dupla tripsinização por envolver duas tripsinizações seguidas do material a ser cultivado. Nesse procedimento, cuja técnica foi baseada na descrita por Niazi & Loeffler (1981), todo o líquido era retirado, após a primeira tripsinização, para ser

lançado em cultura como foi descrito acima. O restante do material, ou seja, os fragmentos de tecidos restantes eram lavados e, em seguida, submetidos a uma nova tripsinização nas mesmas condições descritas anteriormente. Os passos seguintes para o lançamento da cultura também seguiram os já referidos anteriormente.

Independentemente do procedimento utilizado para o lançamento da cultura, a primeira troca de meio era efetuada, em todos os casos, cerca de 24 horas após o início da cultura, principalmente nos tubos contendo vilosidades coriônicas. Dependendo do crescimento, novas trocas de meio eram efetuadas a cada dois dias até que os campos celulares se mostrassem confluentes e com um bom número de células em divisão. Quando o crescimento celular se mostrava lento, os tubos eram deixados em repouso na estufa por um período variável (5-10 dias) até novas trocas de meio.

As repicagens, quando necessárias, eram feitas por meio de descolamento da camada única de células com uma solução de tripsina semelhante a já descrita anteriormente. Após o descolamento, a ação da tripsina era bloqueada pela a adição de meio de cultura completo. Finalmente, o material ressuspense em meio de cultura novo era dividido em duas partes, as quais eram transferidas para dois tubos de cultura.

Para a retirada das culturas, utilizou-se a seguinte seqüência de eventos: 2-4 horas de exposição a 0,1 ml de uma solução de colchicina (4×10^{-5} M) à temperatura de 37°C, seguida de uma breve exposição (1-2 minutos) à solução de tripsina (igual a já referida anteriormente) à temperatura de 37°C, inativação da tripsina com o mesmo meio que estava no tubo antes de adicionar a tripsina, transferência da suspensão para um tubo cônico, centrifugação a 1000 rpm durante 10 minutos e decantação do sobrenadante.

A hipotonia das células era provocada em banho-maria a 37°C com 4 ml de uma solução de KCl 0,075 M de maneira progressiva (procedimento desenvolvido pelo Prof. Dr. Walter Pinto Jr.). Assim, adicionava-se 1 ml da solução hipotônica a cada 3 minutos de intervalo, e, após o último, a hipotonia era interrompida com

0,5 ml de fixador (metanol e ácido acético glacial na proporção de 3:1). Seguia-se a centrifugação do material por 10 minutos a 1000 rpm e decantação do sobrenadante. Após a segunda lavagem, o material continuava no fixador e era deixado em repouso no congelador até o dia seguinte, quando, então, era submetido a mais duas lavagens. Adicionava-se cerca de 0,3 ml de fixador ao botão celular e, após ressuspensão com pipeta tipo Pasteur, 2-3 gotas dessa suspensão eram distribuídas em lâminas limpas, e secas com o auxílio de uma chama de bico de Bunsen.

Nos casos em que havia líquido amniótico presente no material abortado (casos em que o material era representado por saco coriônico intacto), o líquido era puncionado com uma seringa descartável de 10 ml munida de agulha também descartável. Após centrifugação, o sobrenadante era desprezado e o botão celular ressuspensão com cerca de 2-4 ml de meio de cultura completo e distribuído em tubos de Leighton. Daí por diante a técnica é semelhante a que foi descrita acima.

III.6.A.a.2.) Técnica da preparação direta a partir de VC

Em alguns casos utilizou-se essa técnica, concomitantemente com os procedimentos descritos acima para realizar o estudo citogenético do material de aborto.

Após terem sido dissecadas, as VC eram colocadas em um frasco contendo 5ml de meio de cultura completo com 0,1 ml da solução de colchicina (4×10^{-5} M), por um período de tempo de 1-2 horas à temperatura de 37°C, após o qual eram transferidas para uma placa de Petri contendo cerca de 5ml de uma solução hipotônica de citrato de sódio a 0,5%, durante 10 minutos. Decorrido esse tempo, a solução hipotônica era retirada e as VC expostas a 3 ml de uma solução de ácido acético a 60% durante 3-4 minutos, para promover a dispersão celular. Em seguida adicionava-se metanol

para bloquear a ação do ácido, retirava-se essa solução e lavava-se o material 3 vezes com uma solução de fixador (metanol e ácido acético glacial na proporção de 3:1).

Os passos seguintes, quais sejam, ressuspensão do material com uma pequena quantidade de fixador, preparação das lâminas, seguiram as técnicas descritas anteriormente.

Dos 62 abortos estudados na presente amostra, 34 foram submetidos à cultura por meio da técnica de tripsinização simples, 26 foram submetidos à técnica que utilizava a tripsinização à baixa temperatura e nos dois casos restantes, foram utilizados ambos os procedimentos. Apenas nos dois primeiros casos da amostra (apêndice 2), utilizou-se, também, o procedimento de dupla tripsinização das VC. Quanto à técnica da preparação direta a partir de VC, utilizou-se a mesma em dez casos, dos quais apenas cinco apresentaram resultados satisfatórios (apêndice 2).

III.6.A.b.) Dos pais

III.6.A.b.1.) Técnica para cultura de curta duração a partir de linfócitos do sangue periférico

Para os casos nos quais foi necessário o estudo cromossômico dos pais, coletou-se de cada genitor uma amostra de 5 ml de sangue, por punção venosa periférica, com seringa descartável e heparinizada. Utilizou-se a técnica de cultura de linfócitos descrita por Moorhead et al. (1960) e padronizada no Laboratório de Citogenética do Departamento de Genética Médica da FCM, UNICAMP. Cerca de 15 gotas de sangue eram adicionadas a frascos contendo 5 ml de uma mistura de meio de cultura (Ham F.10), 20% de soro fetal bovino e 0,01ml de fito-hemaglutinina (Cultilab). Geralmente, do material de cada indivíduo, eram feitas culturas em 3-4 frascos. Após 72 horas de incubação a 37°C as culturas eram retiradas, sendo previamente expostas à ação de colchicina

($4 \times 10^{-5} M$) nos 30 minutos que antecederam as 72 h. A hipotonia era induzida com KCl 0,075 M a 37°C de maneira progressiva e semelhante à descrita na técnica de cultura de abortos, ou seja, por meio da adição de 1ml dessa solução hipotônica a cada 10 minutos de intervalo.

A interrupção da hipotonia, fixação do material e confecção das lâminas eram realizadas de maneira idêntica à descrita para as culturas de longa duração.

III.6.B.) ANÁLISE CROMOSSÔMICA

Todas as metáfases foram estudadas sem bandas (coloração usual) e com bandas Q (Casperson et al., 1970) de acordo com a rotina do serviço. Em alguns casos as preparações também foram analisadas em bandamento G (Sanchez et al., 1973) e, excepcionalmente, por meio de técnicas de bandamento C (Sumner, 1972) e R (Ribeiro e Melaragno, 1987).

Para todos os casos de cultura de linfócitos e para a maioria dos abortos foram analisadas um número mínimo de 11 metáfases. Em alguns casos de aborto não foi possível estudar as 11 metáfases. Nesses casos, o limite mínimo de metáfases estudadas considerado foi de 2.

No apêndice 2 estão relacionados o número de células analisadas e as bandas utilizadas em cada caso. Além disso, estão assinalados os casos nos quais o estudo cromossômico dos pais foi realizado.

Para os abortos com cariótipo 46,XX oriundo de tecido fetal potencialmente contaminável com células maternas, como as VC, procedeu-se o estudo comparativo dos marcadores cromossômicos polimórficos entre as células parentais e as células do aborto, por meio da técnica de bandamento Q.

III.6.C.) Considerações sobre os abortos com cariótipos 46,XX

Considerou-se o cariótipo 46,XX como de origem fetal toda vez que:

1.)o tecido estudado não apresentava contato direto com tecidos de origem materna (ex: partes fetais ou embrionárias propriamente ditas, membrana amniótica, cordão umbilical e líquido amniótico);

2.)o cariótipo fetal foi obtido a partir de tecidos fetais potencialmente contaminados com células maternas (ex: VC e membrana coriônica), mas tendo sido tal possibilidade afastada pela análise com marcadores cromossômicos polimórficos do aborto e dos pais.

3.)o cariótipo do aborto foi obtido por meio da técnica de preparação direta a partir de VC do material. Isto porque a possibilidade de encontro de células decíduais dividindo-se espontaneamente em VC cuidadosamente dissecadas é muito pequena (Blakemore et al., 1985);

4.)o cariótipo do aborto era obtido a partir de tecido potencialmente contaminável com células maternas (VC), porém, submetido, previamente, a duas tripsinizações consecutivas, quando do lançamento da cultura, pois se admite que as células oriundas da segunda tripsinização são totalmente fetais (Niazi & Loeffler, 1981).

III.7.) DOSAGEM DE α -FETOPROTEÍNA (AFP)

Para essas dosagens utilizou-se o teste do enzimo-imunoensaio a partir de kits comerciais fornecidos pelos Laboratórios Abbott, North Chicago, Il, USA.

Esse tipo de ensaio é baseado no princípio do sanduíche, onde a reação imunológica antígeno-anticorpo (Ag-Ac) se dá em fase sólida. Desse modo, esferas apropriadas contendo o anticorpo anti-AFP imobilizado são incubadas juntamente com o espécime a ser estudado, no caso soro. Durante essa incubação a AFP presente no soro liga-se à fase sólida. Posteriormente adiciona-se um conjugado formado pelo anticorpo anti-AFP e por uma enzima (peroxidase). Se houver AFP presente no soro o conjugado ligar-se-á a ela. Se não houver, o conjugado será perdido com a lavagem efetuada, justamente para eliminar partículas não ligadas. O passo seguinte é a adição de um substrato enzimático para o desenvolvimento de cor, cuja intensidade reflete a quantidade de ligação do conjugado. A reação enzimática é bloqueada com a adição de uma solução ácida e a intensidade da cor é lida usando um espectrofotômetro com filtro de 492 nm.

Todas as dosagens foram feitas em duplicata e para cada ensaio foi realizada uma curva padrão e testados dois soros controles, um negativo e um positivo. O número máximo de amostras analisadas por ensaio foi 41.

Com a utilização de kits (Abbott) os ensaios foram desenvolvidos em quatro etapas da maneira como segue.

III.7.a.) Primeira incubação

Inicialmente fazia-se o mapa do ensaio e identificava-se as placas (placas de 20 poços cada) onde se dariam os primeiros passos da reação. Nos primeiros 14 poços pipetavam-se 200 µl dos soros padrão, os quais apresentam concentrações em ng/ml equivalentes a 0,0; 2,0; 5,0; 10,0; 20,0; 40,0 e 60,0. Os demais poços receberam 25 µl dos soros a serem testados, inclusive os controles, mais 175 µl do soro padrão 0,0 ng/ml. Desse modo todas as amostras, assim como os controles, eram testados com uma diluição inicial de 1:8. Em seguida esferas apropriadas recobertas com o anticorpo anti-AFP (cabra) eram colocadas em cada

poço e as placas devidamente cobertas eram incubadas em banho-maria à 45°C por 2 horas. Após esse tempo as esferas eram lavadas 3 vezes com água desionizada mediante a utilização de um aparelho apropriado.

III.7.b.) Segunda incubação

Nessa fase 200 µl do conjugado anticorpo anti-peroxidase de AFP (cabra) era adicionado em todos os poços e as placas eram novamente incubadas em banho-maria à 45°C por 2 horas. Em seguida os poços eram lavados três vezes como descrito acima e as esferas eram transferidas para tubos de ensaio devidamente identificados.

III.7.c.) Coloração

Para cada tubo pipetava-se 300 µl da solução substrato OPD (o-Fenilenediamina . 2 HCl) previamente preparada e incubava-se os mesmos, protegidos da luz e à temperatura ambiente, por um período de 30 minutos. Decorrido esse tempo a reação enzimática era bloqueada pela adição de 1ml de ácido sulfúrico 1 N a cada tubo.

III.7.d. Leitura das absorbâncias

As leituras foram feitas em um espectrofotômetro específico (Quantum Analyzer - Abbott) utilizando um filtro de 492 nm, onde os valores de AFP eram, automaticamente, calculados e referidos em unidades de ng/ml. Esse cálculo era feito levando em consideração o fator de diluição, 8, a que as amostras foram submetidas.

III.8.) DOSAGEM DE GONADOTROPINA CORIÔNICA HUMANA (HCG)

Para essas dosagens utilizou-se a técnica do radioensaio, padronizada e rotineiramente utilizada no Laboratório Fleury e descrita como segue.

As amostras de soro, em número máximo de 35 por ensaio, foram testadas inicialmente sem diluição e sempre em triplicata. Para cada ensaio utilizou-se soros padrão nas concentrações, em mUI/ml, de 0, 39, 78, 313, 625 e 1250 para o desenvolvimento da curva do ensaio; controles do antígeno marcado; controles de soros negativos e de soros positivos com diferentes concentrações e controles de ligação não específica (non specific binding, NSB).

Os reagentes utilizados nesse ensaio foram os seguintes:

1.) Tampão diluente:

EDTA	18,6 g
Gelatina	1,0 g
PBS* 0,02 M pH = 7,5	1000 ml
(* NaCl - 36 g; tampão fosfato - 0,5 M pH = 7,5 - 160 ml; mertiolato - 400 mg; água - 4000 ml)	

2.) Soros padrão:

Soros correspondentes a padrões secundários os quais são calibrados contra o 1st-IRP-hCG (OMS).

3.) Pool de soro humano negativo:

Pool de soros masculinos

4.) 1° anticorpo:

Produzido em coelho contra o hCG e utilizado na diluição inicial de 1:5000.

5.) NRS:

Soro normal de coelho (normal rabbit serum)

6.) Antígeno marcado:

hCG (I^{125}) diluído em tampão específico (EDTA - 18,6 g; albumina bovina - 5,0 g e PBS 0,02 M pH = 7,5 - 1000 ml).

O antígeno é marcado pela técnica da Cloramina T com atividade específica de aproximadamente 100 μ Ci/ μ g.

7.) 2° anticorpo: anticorpo anti-IgG de coelho (produzido em carneiro) e utilizado na diluição de 1:60.

8.) PEG 6,4%:

Poli-etilenoglicol 6,4 g
água 100 ml

Para cada ensaio fazia-se inicialmente o mapa e marcava-se os tubos que iriam ser utilizados (tubos de ensaio de polipropileno 12 x 75 mm) em ordem crescente iniciando-se pelo número 3. Os dois primeiros tubos eram reservados para o controle do antígeno marcado.

Em cada tubo pipetava-se os reagentes acima referidos da maneira como descrito no quadro abaixo.

Reagentes	NSB	Padrão	Amostra	Amostra diluída
Tampão diluente	200 μ l	200 μ l	200 μ l	100 μ l
Soros padrão	100 μ l	100 μ l		
Soros a testar			100 μ l	100 μ l
Pool de soro negativo				100 μ l
1° anticorpo		100 μ l	100 μ l	100 μ l
NRS	100 μ l			
Ag-I	100 μ l	100 μ l	100 μ l	100 μ l
2° anticorpo	100 μ l	100 μ l	100 μ l	100 μ l
PEG 6,4%	1 ml	1 ml	1 ml	1 ml

Todos os ensaios foram iniciados à tarde. Após colocação do antígeno marcado, os tubos eram cobertos e deixados à temperatura ambiente por toda a noite. No dia seguinte, pela manhã, após a adição do 2º anticorpo os tubos eram incubados à 37°C durante 15 minutos. Em seguida adicionava-se o PEG 6,4%, agitava-se os tubos em um agitador e centrifugava-se os mesmos em centrífuga refrigerada a 2500 rpm durante 30 minutos. Após decantação e secagem dos tubos com papel de filtro, os mesmos eram colocados em ordem numérica em estantes apropriadas, as quais eram colocadas no contador gama (Automatic gamma counter - LKB) para leitura.

Após a leitura os valores obtidos foram calculados em computador a partir de programa baseado no modelo logístico não linear de quatro parâmetros (Dudley et al., 1985).

III.9.) ESTUDO ANATOMO-PATOLÓGICO

Como já foi referido anteriormente, uma parte do material dos abortos era separada, fixada em uma solução de formol e guardada em frascos de vidro para serem posteriormente enviados para estudo anátomo-patológico. Em geral o material só era enviado após conclusão do estudo citogenético.

Antes de iniciar o trabalho, convencionou-se que esse estudo seria cego, ou seja, o resultado do estudo citogenético só seria conhecido pelas patologistas após a conclusão do estudo histopatológico.

Posteriormente, uma cópia de todos os laudos foram encaminhados para a autora. Para efeito de análise dos resultados considerou-se apenas o primeiro (principal) diagnóstico referido nas conclusões dos laudos.

Baseado em dados da literatura (Boué et al., 1969; Philippe & Boué, 1969; Philippe & Boué, 1970; Honoré et al., 1976; Szulman & Surti, 1978; Berry, 1980; Ornoy et al., 1981; Philippe, 1986;

Novak et al., 1988), estabeleceu-se que as seguintes alterações histopatológicas seriam sugestivas de aberração cromossômica:

1. vilosidades coriônicas de grande porte, hidrópicas, com contornos sinuosos e, por vezes, com cavitação central;
2. invaginação trofoblástica no estroma viloso;
3. microcistos trofoblásticos;
4. hiperplasia trofoblástica focal, alternada com hipoplasia e focos de verticalização;
5. presença de vasos em vilosidades não hidrópicas;
6. vilosidades coriônicas uniformemente hidrópicas formando vesículas;
7. hiperplasia trofoblástica perivilosa;
8. verticalização do trofoblasto e microcistos trofoblásticos;
9. graus variados de anaplasia;
10. estruturas vasculares primitivas;
11. vilosidades coriônicas de médio porte com contornos regulares e hipotrofia trofoblástica evidente;
12. células do estroma volumosas.

Das alterações citadas acima, as mencionadas nos itens 1 a 5 sugerem o diagnóstico de triploidia; as referidas nos itens 6 a 10, o diagnóstico de mola hidatiforme; e as assinaladas nos itens 11 e 12 o diagnóstico de trissomia autossômica.

III.10.) ANÁLISE ESTATÍSTICA

Para comparação das variáveis quantitativas utilizou-se a análise da variância quando a distribuição era, sabidamente, normal. Para as variáveis bioquímicas aplicou-se o teste não paramétrico de Kruskal-Wallis (Roscoe, 1975).

Utilizou-se também do cálculo do coeficiente de correlação

simples para averiguar possíveis associações entre as variáveis bioquímicas e a idade gestacional (IG) na amostra controle. Na amostra índice utilizou-se a análise de regressão múltipla (Beiguelman, 1988) para averiguação de possíveis associações entre as variáveis, usando ora a AFP, ora o HCG como variável dependente.

As comparações entre proporções e as provas de independência entre caracteres qualitativos foram realizados com o auxílio do teste do χ^2 e do teste exato de Fisher (Beiguelman, 1988).

Em relação à averiguação da precisão do exame histopatológico, utilizou-se fórmulas padrão para o cálculo dos valores preditivos, da sensibilidade e da especificidade (Sackett et al., 1985). O intervalo de confiança para esses valores foi calculado pela fórmula abaixo:

$$p = \frac{\hat{m} + t^2/2 \pm t \sqrt{\hat{\sigma}^2 + t^2/4}}{n + t^2}$$

onde: n = número de casos analisados

\hat{m} = o número de casos favoráveis

t = 1,960 - valor para $\alpha = 0,05$ e ∞ graus de liberdade

$$\hat{\sigma}^2 = \frac{\hat{m} (n - \hat{m})}{n}$$

(comunicação pessoal do Prof. Aquiles Piedrabuena, 1990).

Em todos os casos para os quais foram aplicados testes estatísticos, estabeleceu-se que o nível de significância a ser aceito seria de 5%.

IV.) RESULTADOS

IV.1.) DA AMOSTRA ÍNDICE

Os 62 abortos espontâneos estudados no presente trabalho estão distribuídos, segundo a classificação modificada de Fujikura et al. (1966) na tabela 6.

Tabela 6 - Relação dos 62 abortos estudados, segundo a classificação modificada de Fujikura et al. (1966).

Classificação do espécime	número de casos (%)
Grupo I	7 (11)
Grupo IIa	33 (53)
Grupo IIb	-
Grupo III	6 (10)
Grupo IVa	-
Grupo IVb	1 (2)
Grupo IVc	-
Grupo IVd	10 (16)
Grupo V	5 (8)
Total	62 (100)

Dos cinco casos classificados no grupo V, ou seja, dentro das gestações molares, quatro apresentavam cariótipos triplóides (3538, 3081, 2935 e 4082) e um (2917) apresentava cariótipo 46,XX

e quadro histopatológico compatível com o de mola verdadeira. Dentre os casos triplóides referidos acima, chamou atenção o de número 3538 que era, de fato, uma hipertriploidia - 73,XXY,+2,+7,+18,+20 - e o caso 4082, o qual durante a dissecação do material mostrou que as VC hidrópicas pareciam restritas a um dado local, motivo pelo qual esse caso foi, inicialmente, classificado dentro do grupo IVd.

Em seis casos observou-se cordão umbilical com apenas dois vasos, ou seja, artéria umbilical única (AUU), como é conhecida essa anomalia de cordão (tabela 7). Em dois deles (casos 994 e 4032) além da AUU, observou-se, também, ausência de digitação em mãos e pés, apesar de ambos, coincidentemente, contarem com 14 semanas de idade gestacional, o dobro do tempo em que, normalmente, os dedos já estão bem individualizados (Iffy et al., 1967; Moore, 1983).

Tabela 7 - Relação de abortos, quanto ao tipo de material, IG e cariótipo, nos quais foi observado artéria umbilical única (AUU).

Registro	IG	Material	Cariótipo
3152	11	IIa	45,X
3222	13	IVd	46,XX,del(14)(q24)mat
994*	14	IVd	46,XY
3660	-	IIa	46,XY
4301	12	IIa	45,X
4032*	14	IVd	45,X

* Embriões com ausência de digitação em mãos e pés.

A presença de saco vitelino (SV), foi observada em 5 abortos, sendo 2 deles triplóides (tabela 8).

Tabela 8 - Relação de abortos, quanto ao tipo de material e cariótipo, nos quais foi observado saco vitelino (SV).

Registro	IG	Material	Cariótipo
3065	10	Ia	69,XXX
3151	10	III	69,XXX
3595	12	Ia	47,XX,+15
4301	12	Ia	45,X
3256	-	III	46,XX

No apêndice 3 encontra-se uma listagem de todos os casos da amostra índice, relacionados segundo a idade materna (IM), idade paterna (IP), idade gestacional (IG), número de gestações (G), número de abortamentos (A), cariótipo (Cr), sexo do aborto, indicado pela presença de um ou mais cromossomos Y (Sx), nível de α -fetoproteína no soro materno (AFP), nível de gonadotropina coriônica humana no soro materno (HCG), resultado do estudo anátomo-patológico (AP) e material do aborto segundo a classificação utilizada (Mt).

De acordo com o apêndice 3, dos 62 abortos espontâneos selecionados para a amostra índice 44 apresentavam as três variáveis estudadas, quais sejam: cariótipo do aborto, dosagem de AFP e HCG e resultado do estudo anátomo-patológico. Dos 18 casos restantes, em seis faltava o estudo anátomo-patológico e em 12, as dosagens bioquímicas.

Observando a tabela 9 nota-se que 34 (68%) dos 50 abortos com idade gestacional conhecida eram do primeiro trimestre, 16 (32%) abortos apresentavam IG que variavam entre 13 e 17 semanas. Quanto aos 12 restantes sem IG conhecida isso aconteceu porque a mãe não se lembrava da data da última menstruação (DUM) ou porque esse dado não foi obtido.

As figuras 1 e 2 mostram, respectivamente, as distribuições dos abortos cromossomicamente anormais e normais segundo a idade gestacional.

Tabela 9 - Distribuição dos abortos incluídos na amostra índice, quanto à idade gestacional.

Idade gestacional (em semanas)	Número de abortos	
8	2	1° trimestre gestacional
9	6	
10	12	
11	6	
12	8	
13	6	
14	6	
15	-	
16	2	
17	2	
sem IG referida	12	
TOTAL	62	

Mais da metade dos abortos, isto é 39 (63%) apresentaram cariótipos anormais. Dos 23 que apresentaram cariótipo normal, 13 eram 46,XX e 10 46,XY (tabela 10). Contudo, entre os 46,XX, estão incluídos três casos diagnosticados como mola verdadeira.

Entre os cariótipos anormais, 16 (41%) estavam representados por trissomias autossômicas, sendo que, dentre elas, seis correspondiam à trissomia do cromossomo 16. Um desses merece destaque, uma vez que havia uma anomalia cromossômica estrutural associada: caso 3141-I, cujo cariótipo foi: 47,XX,+16,t(13;16)(q21;p11)mat, (apêndice 4).

Um outro caso de trissomia a ser destacado é o 2555, representado por uma translocação equilibrada herdada da mãe e uma trissomia regular do cromossomo 14: 47,XX,+14,t(5;8)(q35;q12)mat.

Tabela 10 - Classificação dos abortos de acordo com o tipo de cariótipo encontrado.

Tipo de cariótipo	Número	Total de casos	% de todos os casos	% dos anormais
NORMAL		23	37	
46,XX -	13*			
46,XY -	10			
ANORMAL		39	63	
Trissomias autossômicas		16	26	41
47,XX,+2	02			
47,XY,+3	01			
47,XY,+10	01			
47,XY,+13	01			
47,XX,+14,t(5q;8q)mat	01			
47,XX,+15	02			
47,XX,+16	03			
47,XX,+16,t(13q;16p)mat	01			
47,XY,+16	02			
47,XX,+21	01			
47,XY,+21	01			
Triploidia		09	15	23
69,XXX	05			
69,XXY	02			
70,XXX,+21	01			
73,XXY,+2,+7,+18,+20	01			
Monossomia X		05	8	13
Tetraploidias		03	5	7
92,XXYY	02			
92,XXXX	01			
Dupla aneuploidia		03	5	7
46,X,+21	01			
48,XX,+8,+16	01			
48,XX,+16,+21	01			
Deficiência de autossomo		01	2	3
46,XX,del(14q)mat	01			
Translocação equilibrada		01	2	3
46,XX,t(13q;16p)mat, t(7p;20q)	01			
Translocação desequil.		01	2	3
46,XX,-4,+der(4), t(1q;4q)mat	01			

* 3 casos são de mola verdadeira.

Os 9 cariótipos triplóides (23%) ocupam o segundo lugar em frequência, sendo seis casos 69,XXX e três 69,XXY. Dois abortos dentre esses nove triplóides eram, na verdade, hipertriplóides: um deles com cariótipo 70,XXX,+21 e o outro com cariótipo 73,XXY,+2,+7,+18,+20. Em 2 casos (2935 e 3538) o cariótipo dos pais foi determinado, de sorte que o estudo dos marcadores polimórficos pôde ser levado a cabo. Em ambos os casos, observou-se que a origem do cariótipo triplóide era paterna, porém não foi possível caracterizar se o mecanismo era diandria ou dispermia.

A monossomia do cromossomo X ocorreu em 5 casos (13%), seguida das tetraploidias em três casos, sendo dois do tipo XXYY e apenas um caso com constituição cromossômica sexual do tipo XXXX. Dupla aneuploidia também aconteceu em três casos: 46,X,+21, 48,XX,+8,+16 e 48,XX,+16,+21. O estudo cromossômico dos pais deste último aborto foi realizado e a análise de marcadores polimórficos utilizando as bandas Q e C mostraram que, dos cromossomos extra-numerários, o 16 era de origem materna e o 21 de origem paterna.

Os três últimos casos da amostra de abortos com cariótipos anormais incluem uma deficiência autossômica - 46,XX,del(14)(q24)mat, uma dupla translocação, aparentemente, equilibrada - 46,XX,t(13;16)(q21;p11)mat,t(7;20)(p14;q13) (apêndice 4), e uma translocação desequilibrada - 46,XX,-4,+der(4),t(1;4)(q31;q35)mat.

Tomando a presença do cromossomo Y como determinante do sexo masculino, constatou-se um desvio significativo da razão de sexo na amostra índice, especificamente no grupo de abortos com cariótipos anormais, como mostra a tabela 11.

Tabela 11 - Razão de sexo entre os abortos.

Abortos	masc.	fem.	razão	χ^2	GL	p
amostra total	22	40	55:100	5,23	1	< 0,05
cariótipo anormal	12	27	44:100	5,77	1	< 0,05
cariótipo normal*	10	13	77:100	0,39	1	0,50-0,70
trissomia autossômica	7	9	78:100	0,25	1	0,50-0,70

* Estão incluídos três casos com diagnóstico de mola verdadeira.

Em relação a história obstétrica 55 casos da amostra índice total foram informativos. Desses, oito puderam ser classificados como abortamento habitual (casos 3059, 3186, 3222, 3538, 3141.I, 4221, 1855 e 2739) de acordo com os dados do apêndice 3. O cariótipo dos pais foi realizado em cinco casos (apêndice 2), dos quais se encontrou rearranjo estrutural equilibrado em três casos (3222, 3141-II, 1855).

Como referido anteriormente, dos 62 abortos espontâneos estudados citogeneticamente, em 56 foi possível o estudo anátomo-patológico. Desses, cinco foram inconclusivos, enquanto que os demais casos foram classificados visando à detecção de alterações histológicas que sugerissem a suspeita de uma cromossomopatia. Sendo assim, eles foram divididos em 3 grupos: 1.) com alterações sugestivas de anomalia cromossômica; 2.) sem alterações sugestivas de anomalias cromossômicas e 3.) com alterações compatíveis com o diagnóstico de mola verdadeira.

Em relação aos dados apresentados na listagem do apêndice 3, chamou-se de concordantes ou compatíveis os casos em que a anatomia patológica refletia os achados cariotípicos, ou seja, ausência de alterações histológicas sugestivas de anomalia cromossômica nos casos com cariótipos normais e presença de alterações histológicas nos casos que apresentavam cariótipos anormais. De maneira análoga os casos incompatíveis ou não concordantes não deveriam refletir os achados cariotípicos. Fizeram exceção no primeiro grupo (concordantes) os 3 casos de

mola. Finalmente, os casos em que não foi possível estabelecer um diagnóstico, dado a insuficiência de material analisável, foram denominados de inconclusivos.

Os dados da tabela 12 mostraram que existe uma associação entre os achados cariotípicos e anátomo-patológicos, uma vez que a probabilidade dessas variáveis serem independentes, de acordo com o teste exato de Fisher foi 0,84%. A sensibilidade do estudo anátomo-patológico foi 97% (83% - 99%), enquanto que a especificidade foi 33% (16% - 56%). Em relação aos valores preditivos, enquanto o positivo foi 71% (55%- 82%), o negativo foi 86% (47% - 97%). Por outro lado, tomando os casos concordantes, pode-se dizer que 73% dos casos (35 em 48) foram corretamente classificados pelo estudo histopatológico.

Os casos de mola verdadeira foram considerados, separadamente, mais adiante.

Tabela 12 - Associação entre os achados citogenéticos e histopatológicos dos abortos.

Características histopatológicas sugestivas de anomalia cromossômica	Cariótipo	
	anormal	normal
Presentes	29	12
Ausentes	1	6
Número total	30	18

Para os 29 casos referidos na tabela 12, nos quais se encontraram alterações sugestivas de anomalia cromossômica, observou-se que nos laudos da maior parte deles (24) foi aventada uma hipótese sobre o diagnóstico cariotípico. Assim, dentre os nove casos com hipótese de triploidia, quatro eram realmente triplóides: de maneira semelhante, para os 15 casos com hipótese de trissomia, seis apresentavam cariótipos trissômicos, sendo que

um deles era, em realidade uma dupla aneuploidia (46,X,+21). Os cariótipos dos demais trissômicos eram: 47,XX,+16 (dois casos); 47,XY,+3; 47,XX,+21 e 46,XX,-4,+der(4),t(1:4)(q31;q35)mat.

Um dos dados que mais chamou atenção na tabela 12 foi o grupo de 12 casos com cariótipos normais, porém apresentando alterações histopatológicas sugestivas de anomalia cromossômica. Em relação a esse grupo, observou-se que o tipo predominante de material, era o classificado como sendo do tipo III (saco coriônico intacto sem embrião, ou seja, o vulgarmente conhecido ovo cego) com três dos seis casos da amostra total de abortos. Os três casos restantes, da amostra total, são o 2985 com cariótipo 47,XY,+3; o 3151 mostrando um cariótipo triplóide - 69,XXX; e o 3375 que, apesar do cariótipo normal 46,XX, foi classificado, histopatologicamente, como uma mola verdadeira.

Quanto aos dados anamnésticos desses 12 casos, observou-se que em três havia história de abortamento habitual (casos 3059, 3186 e 4221), nenhum deles com causa definida. Além disso, o caso 3074, embora apresentasse história obstétrica caracterizada por GIPIAI, o primeiro filho desse casal apresentava retardamento do desenvolvimento neuropsicomotor, malformações congênitas múltiplas, cariótipo 47,X(Yqh-),+mar,pat e suspeita diagnóstica de síndrome de Smith-Lemli-Opitz levantada pelo colega geneticista Prof. Décio Brunoni (Escola Paulista de Medicina). Essa criança evoluiu para o óbito com 20 dias de vida.

Nos 3 casos classificados, do ponto de vista anátomo-patológico, como molas verdadeiras (2917, 3375 e 3090), apenas um, o 2917, foi catalogado como material do tipo V (mola segundo a classificação de Fujikura et al., 1966 - vide tabelas 4 e 6) na avaliação morfológica inicial. Também chamou atenção nesse grupo o fato de não se ter detectado valores elevados de HCG no soro materno. Quanto a análise citogenética desses casos, procurou-se reavaliá-las com a finalidade de se tentar detectar homozigose de marcadores cromossômicos polimórficos. Tal possibilidade, contudo, só foi confirmada em um caso, o 2917. Nas metáfases de células cultivadas desse aborto observou-se que os cromossomos mais informativos quanto aos marcadores fluorescentes

polimórficos eram os dos pares 14 e 21. Uma vez que nesse caso foi utilizada a técnica de dupla trisinzização para a cultura de VC, pôde-se verificar, claramente, que as metáfases oriundas de células da primeira tripsinização ora apresentavam os pares cromossômicos 14 e 21 idênticos quanto aos marcadores, ora apresentavam cromossomos com marcadores distintos, indicando tratar-se de uma cultura mista. Já as metáfases provenientes de células da segunda tripsinização, todas elas mostravam que os cromossomos homólogos dos pares 14 e 21 eram exatamente iguais, sugerindo, uma homozigose de marcadores.

Nos outros casos de mola a hipótese de os cromossomos homólogos serem idênticos foi afastada no caso 3375, enquanto que no 3090 ela não pôde ser conclusiva, uma vez que não havia marcadores cromossômicos informativos.

Em relação às dosagens bioquímicas percebeu-se, em uma primeira avaliação, que tanto os valores de AFP quanto os de HCG no soro materno, estão, generalizadamente, baixos. A avaliação estatística desses resultados é apresentada mais adiante.

Quanto aos valores de AFP, fizeram exceção três casos (2903, 2914 e 3063), cujos níveis detectados encontravam-se extremamente elevados se comparados aos demais valores dessa mesma amostra (apêndice 3). Nesses três casos observou-se que o 3063 apresentava cariótipo anormal do tipo 46,X,+21; o 2914 apresentava ecografia pré-curetagem mostrando uma segunda imagem em frente a imagem embrionária, sugerindo cordão anômalo; enquanto o 2903 não mostrava nada digno de nota, nem em relação ao estudo cromossômico, nem de acordo com os dados anamnésticos.

IV.2.) DA AMOSTRA CONTROLE

Os dados da amostra controle estão compilados no apêndice 5. A razão de sexo na amostra controle (15 masculinos e 33

femininos ou 45:100) mostrou um desvio significativo $\chi^2 = 6,75$; GL=1; $P < 0,01$) provocado pelo grupo I, uma vez que neste grupo a razão de sexo foi de 27:100 ($\chi^2 = 6,37$; GL = 1; $P < 0,01$), enquanto que no grupo II a razão de sexo foi igual a 61:100 ($\chi^2 = 1,69$; GL=1; $0,20 > P > 0,10$).

No grupo II pôde-se observar também o tipo de recém-nascido (RN). Assim, a maior parte, 72% ou 20 RN eram de termo e adequados para a idade gestacional (RNT/AIG). Dois casos eram pré-termos (RNPT), três casos eram pequenos para a idade gestacional (RNPIG) e, finalmente, três casos eram grandes para a idade gestacional (RNGIG).

Analisou-se o grupo I quanto a indicação do DPN, tendo-se observado que, em 11 casos a indicação foi a idade materna avançada e nos oito casos restantes, a maior parte (6 casos) teve como indicação o fator ansiedade dos pais. Em dois casos de mães jovens, ambas, com 30 anos de idade, a indicação foi decorrente de anomalia cromossômica em filho anterior. Em um dos casos a mãe apresentava uma história obstétrica GIIPIApI, sendo a primeira gestação um menino com cariótipo 46,XY,i(17q) que foi a óbito com poucas horas de vida; a segunda gestação foi abortada eletivamente pois o feto mostrava cariótipo 47,XY,+21, descoberto por diagnóstico pré-natal, e, finalmente, na terceira gestação, atual-passada, o exame do DPN mostrou cariótipo feminino normal 46,XX. Quando da primeira gestação desse casal, foi realizado estudo cromossômico de ambos, que mostrou ser os dois portadores de cariótipos normais. No segundo caso, a mãe, portadora de uma translocação equilibrada 13q;16p, estava gerando uma criança com cariótipo igual ao seu, 46,XX,t(13;16)(q21;p11) (apêndice 4).

3.) DA ANÁLISE ESTATÍSTICA DAS VARIÁVEIS QUANTITATIVAS (Ambas as amostras)

Como já foi mencionado anteriormente, três casos (2903, 2914 e 3063) apresentavam valores de AFP no soro materno muito elevados, tendo sido, por isso, eliminados da amostra índice para efeito da análise estatística (apêndice 3).

A amostra índice foi subdividida em quatro grupos:

grupo 1 → abortos com cariótipos anormais - 38 casos;

grupo 2 → abortos com cariótipos normais, porém com AP (anátomo-patológicos) anormais, grupo dos incompatíveis - 12 casos;

grupo 3 → abortos com cariótipos normais e AP sem alterações, grupo compatível - 5 casos;

grupo 4 → abortos com cariótipos 46,XX e AP tipo mola verdadeira - 3 casos.

Apenas 1 caso ficou fora desses grupos (caso 4171), uma vez que era o único com cariótipo normal mas sem estudo AP.

Para efeito de aplicação dos testes estatísticos considerou-se apenas os 3 primeiros grupos, uma vez que o quarto grupo continha apenas 3 casos.

As variáveis quantitativas analisadas de cada grupo foram: IM, IP, IG, G, AFP e HCG.

As variáveis IM, IP, IG e G não mostraram diferenças significativas quando submetidas à análise de variância (tabelas 13, 14, 15, e 16).

Apesar de os resultados acima referidos não terem mostrado diferenças significativas entre os grupos da amostra índice, quando agrupados segundo os critérios anteriormente definidos, observou-se pequenas, porém significativas, diferenças ao se comparar as variáveis IM e IG nos subgrupos da amostra índice, agora selecionados segundo o tipo de cariótipo. Os dados da

tabela 19 mostram que a IG é mais alta nos abortos triplóides que nos demais subgrupos de abortos com cariótipos anormais ($F = 4,90$; $P < 0,01$). Observou-se também que a IG é significativamente mais alta entre os triplóides, tanto quando se compara trissômicos versus triplóides ($F = 8,86$; $P < 0,01$), quanto quando a comparação é feita entre esse último e o subgrupo de tetraplóides ($F = 6,15$; $P < 0,05$).

Quanto à variável IM, observou-se que ela é significativamente mais alta entre os abortos trissômicos do que entre os que apresentam monossomia do cromossomo X ($F = 6,64$; $P < 0,05$) (Tabela 19).

Em relação às variáveis bioquímicas, essas também mostraram diferenças significativas quando comparados entre si os valores encontrados nos grupos da amostra índice e na amostra controle (tabelas 17 e 18). Entretanto, observou-se que as diferenças existem quando se compara a amostra índice com a amostra controle, tanto para a variável AFP ($H = 46,58$; $GL = 1$; $p < 0,01$), quanto para a variável HCG ($H = 42,97$; $GL = 1$; $p < 0,01$). A comparação entre os grupos da amostra índice não mostrou diferenças significativas nem para a variável AFP ($H = 4,65$; $GL = 2$; $p = 0,10$), nem para a outra variável bioquímica - HCG ($H = 0,80$; $GL = 2$; $p = 0,67$).

Dado que as variáveis bioquímicas da amostra controle, AFP e HCG, mostraram correlação com a IG; sendo positiva com AFP ($r = 0,42$) e negativa com HCG ($r = -0,47$), procurou-se ajustar esses valores à média da idade gestacional da amostra índice, por intermédio da fórmula $y_a = y + b(\bar{x} - x)$; onde: y_a é a variável ajustada; y é o valor original da variável dependente; b é o coeficiente de regressão; \bar{x} é a média da variável independente e x é o valor da variável independente em questão.

Os valores ajustados das variáveis bioquímicas também mostraram diferenças significativas quando comparados com os valores originais da amostra índice (tabelas 17 e 18).

As variáveis da amostra índice também foram submetidas a uma análise de regressão múltipla. Quando a variável dependente foi a AFP, observou-se uma associação com o número de abortamentos ($r =$

0,37; P = 0,04). Por outro lado, quando a variável dependente foi o HCG, notou-se associação com a IG ($r = 0,38$; $P = 0,03$).

Ainda em relação às variáveis bioquímicas, pode-se observar na figura 3 que não houve distinção entre os níveis de AFP no soro materno do grupo de abortos com cariótipo normal com o grupo de abortos com cariótipo anormal. No primeiro grupo 17 (85%) mostraram níveis de AFP abaixo de 0,5 MoM (multiples of the median) Apenas dois valores desse grupo (10%) estavam acima de 2,0 MoM. De maneira semelhante, no segundo grupo, 26 dos valores (87%) encontravam-se abaixo de 0,5 MoM, e apenas uma dosagem (3%) foi detectada muito acima de 2,0 MoM.

Quanto às dosagens de HCG no soro materno, observa-se também que os valores de ambos os grupos da amostra de abortos encontram-se abaixo de 0,5 MoM; 15 (75%) entre o grupo com cariótipo normal e 26 (87%) para o grupo dos anormais (figura 4).

Os valores de AFP e HCG compilados, juntamente com os respectivos múltiplos da média encontram-se no apêndice 6.

Tabela 13 - Análise da variância da IM (idade materna) entre os diferentes grupos da amostra índice e entre esta e a amostra controle.

Amostra	N	\bar{x}	s(x)
A. índice (G1)	35	29,17	6,91
" (G2)	12	29,58	4,38
" (G3)	5	33,00	5,96
A. controle	48	29,17	7,47
A. TOTAL	100	29,41	6,86

F = 0,54; GL = 99; P = 0,66

Tabela 14 - Análise da variância da IP (idade paterna) entre os diferentes grupos da amostra índice e amostra controle.

Amostra	N	\bar{x}	s(x)
A. índice (G1)	33	32,06	8,08
" (G2)	12	32,75	5,28
" (G3)	5	32,60	4,28
A. controle	16	35,50	7,44
A. TOTAL	65	32,94	7,25

$$F = 0,82; GL = 65; P = 0,44$$

Tabela 15 - Análise de variância da IG (idade gestacional) entre os diferentes grupos da amostra índice e amostra controle.

Amostra	N	\bar{x}	s(x)
A. índice (G1)	30	11,43	2,11
" (G2)	9	11,22	1,99
" (G3)	4	11,50	1,73
A. controle	48	12,52	3,23
A. TOTAL	91	11,99	2,77

$$F = 1,33; GL = 91; P = 0,27$$

Tabela 16 - Análise de variância da variável G (número de gestações) entre os diferentes grupos da amostra índice e amostra controle.

Amostra	N	\bar{x}	s(x)
A. índice (G1)	32	2,44	0,84
" (G2)	12	2,50	2,00
" (G3)	5	2,00	1,00
A. controle	43	3,23	2,20
A. TOTAL	92	2,79	1,71

$$F = 1,95; GL = 91; P = 0,13$$

Tabela 17 - Avaliação da variável AFP (α -fetoproteína) no soro materno por meio da média e do desvio padrão e comparação dessa variável entre os diferentes grupos da amostra índice e amostra controle por meio do teste de Kruskal-Wallis.

Amostra	N	\bar{x}	s(x)
A. índice (G1)*	29	6,50	3,74
" (G2)*	9	4,17	2,55
" (G3)*	5	8,77	6,23
A. controle*	48	30,14	22,80
Valores ajustados**	48	26,75	20,64

* H = 48,35; GL = 3; p < 0,01

** H = 41,36; GL = 1; p < 0,01.

Tabela 18 - Avaliação da variável HCG (gonadotropina coriônica humana) no soro materno por meio da média e do desvio padrão e comparação dessa variável entre os diferentes grupos da amostra índice e amostra controle por meio do teste de Kruskal-Wallis.

Amostra		N	\bar{x}	s(x)
A. índice	(G1)*	29	8129,24	7897,69
"	(G2)*	9	18047,56	29993,91
"	(G3)*	5	11460,20	23568,11
A. controle*		47	47821,28	33314,55
Valores ajustados**		47	56004,83	27059,66

* H = 43,15; GL = 3; p < 0,01

** H = 54,69; GL = 1; p < 0,01.

Tabela 19 - Análise da variância da IM (idade materna) e IG (idade gestacional) entre os subgrupos da amostra índice, relacionados segundo o tipo de cariótipo (trissomia, triploidia, monossomia X e tetraploidia).

Variável	Subgrupo	N	\bar{x}	s(x)
IG	^a trissomia	9	10,56	1,24
	^a triploidia	9	13,22	2,39
	^a monossomia X	5	11,80	1,48
	^a tetraploidia	3	9,67	0,58
IM	^b trissomia	13	31,85	6,97
	^b triploidia	9	26,67	5,15
	^b monossomia X	5	23,40	3,05
	^b tetraploidia	3	28,33	4,72

^a F = 4,90; P < 0,01

^b F = 3,02; P < 0,05

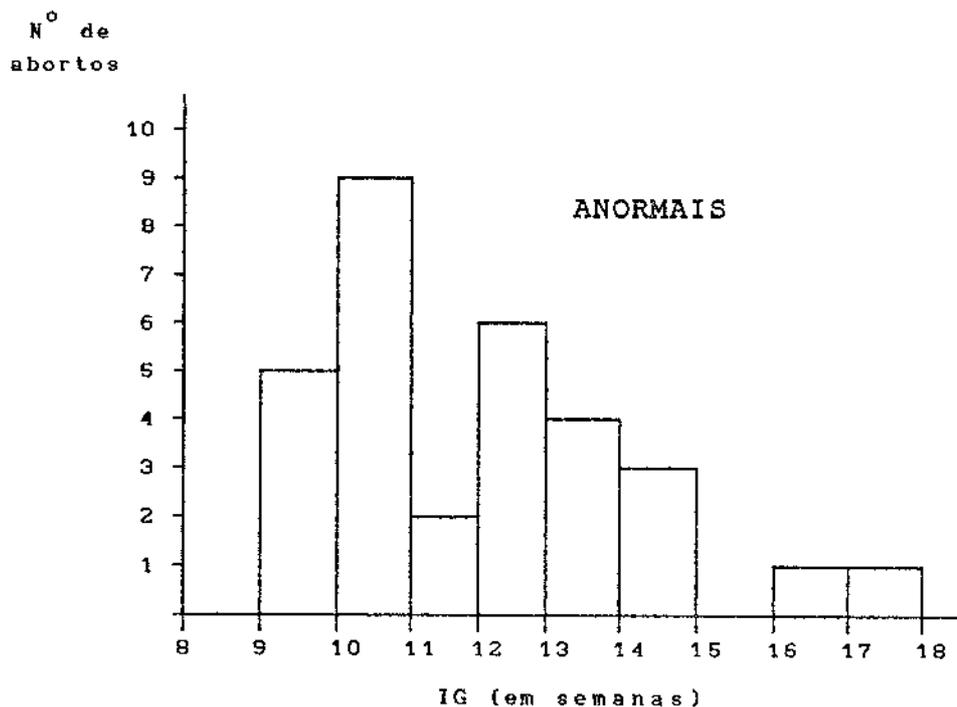


Figura 1 - Relação dos abortos cromossomicamente anormais segundo a idade gestacional em semanas.

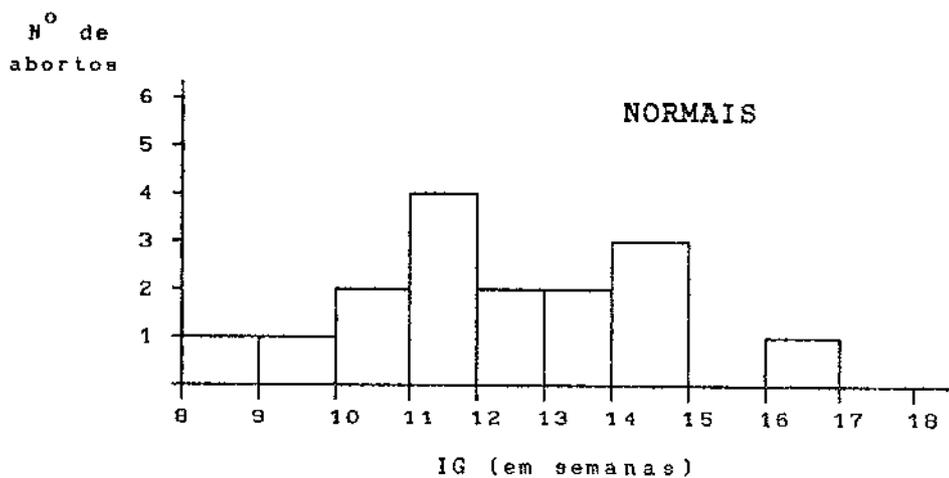


Figura 2 - Relação dos abortos cromossomicamente normais segundo a idade gestacional em semanas.

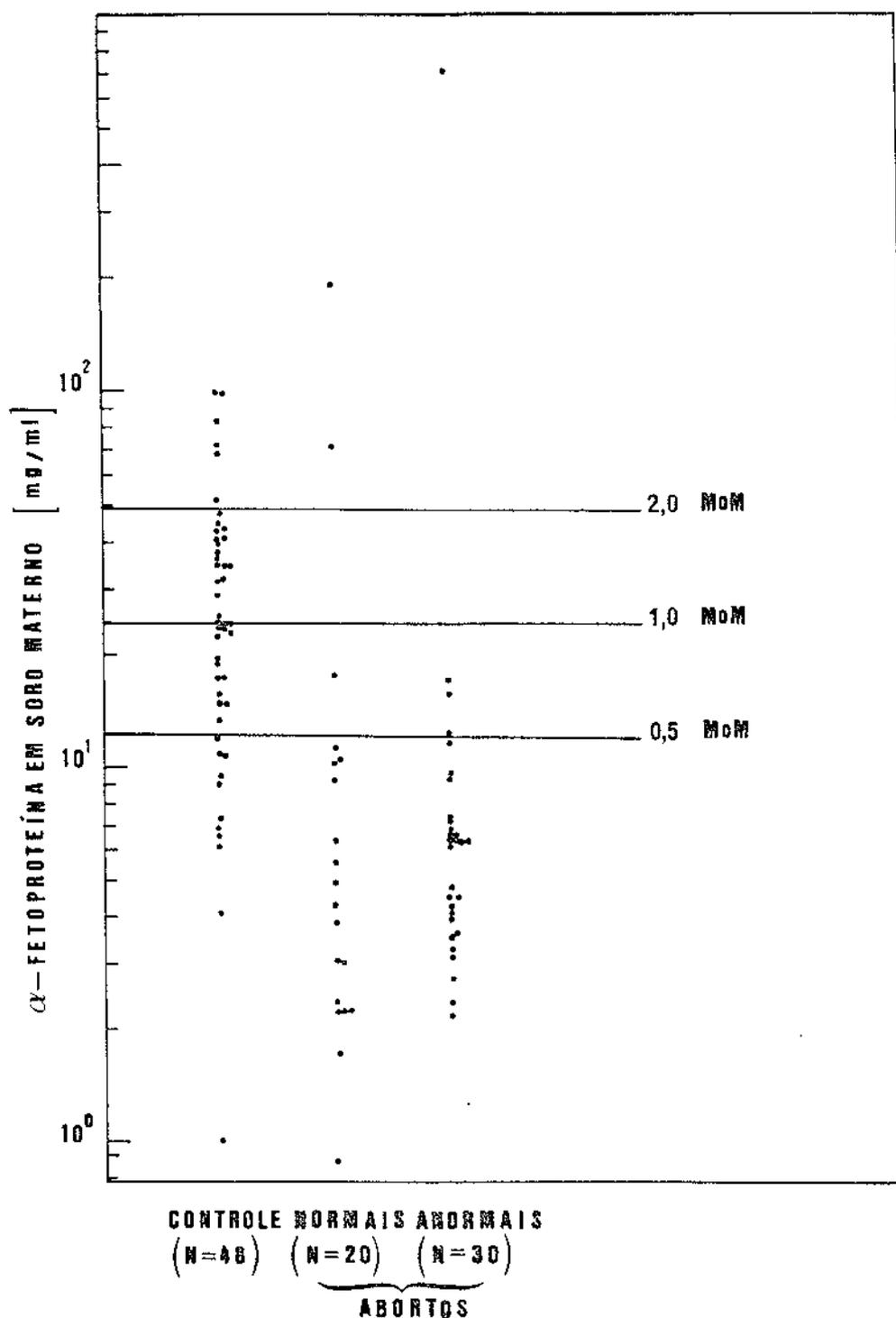


Figura 3 - Distribuição dos valores de AFP no soro materno nas amostras controle, de abortos cromossomicamente normais e anormais.

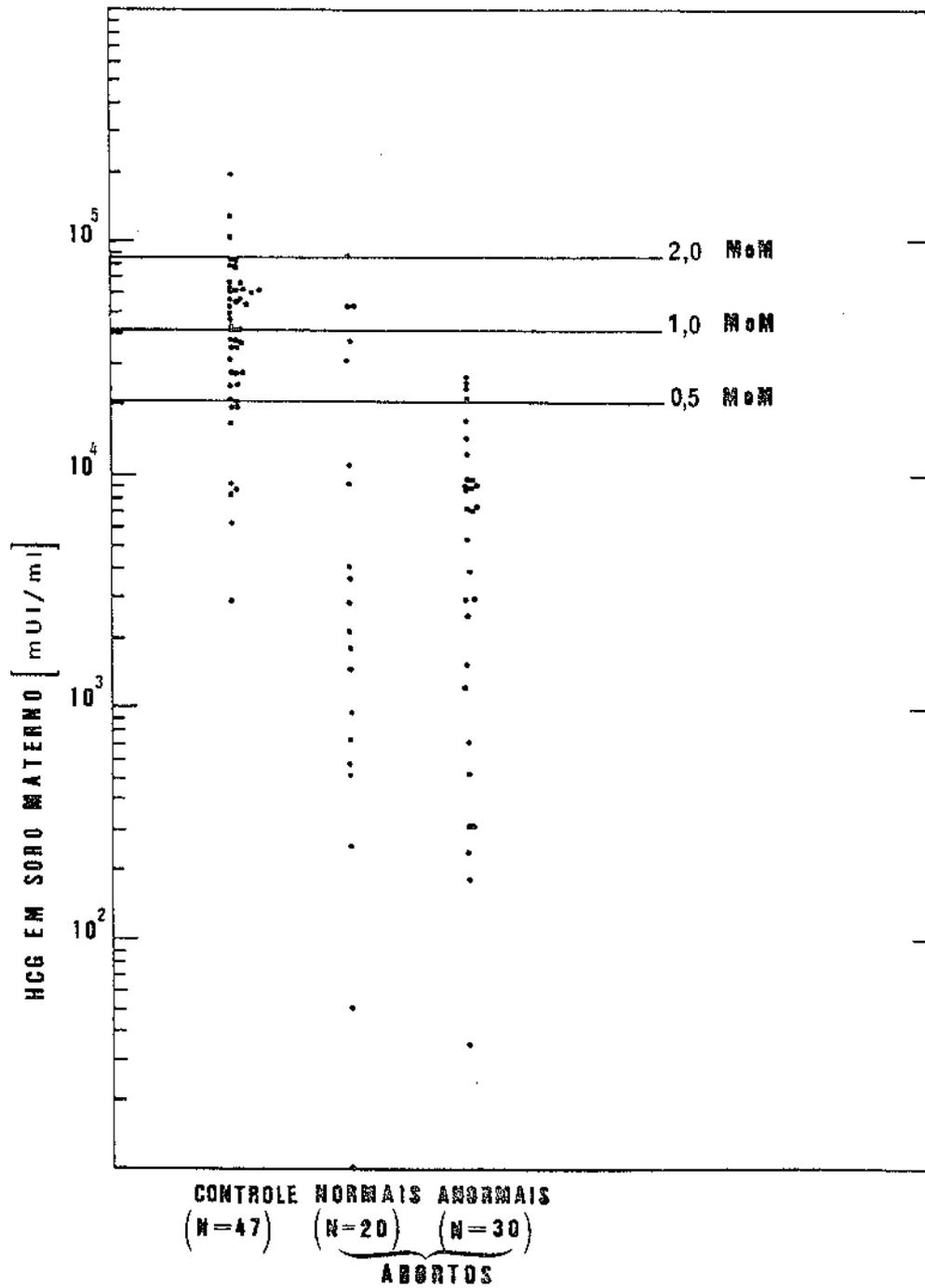


Figura 4 - Distribuição dos valores de HCG no soro materno nas amostras controle, de abortos cromossomicamente normais e anormais.

V.) DISCUSSÃO

V.1.) Seleção da amostra índice

A seleção da amostra índice, no presente trabalho, culminou com a eliminação de uma grande quantidade material (55 em 117), como apresentado na tabela 5. Dentre os dados apresentados nessa tabela merece destaque o item referente à contaminação materna.

A contaminação da cultura por células maternas (CCM) constitui um problema raramente abordado nos trabalhos referentes a estudos cromossômicos de abortos, sendo poucos os autores que fazem alusão a esse aspecto (Kajii et al., 1973; Hassold et al., 1983; Cavalcanti, 1986; Cavalcanti et al., 1988). Por outro lado, com a utilização de VC para o diagnóstico pré-natal no 1º trimestre gestacional, pôde-se observar uma crescente preocupação com respeito à CCM (Niazi et al., 1981; Blakemore et al., 1985; Olson et al., 1986; Cooke et al., 1986; Verjaal et al., 1987; Cheung et al., 1987; Hertz et al., 1987; Williams et al., 1987; Pinto Jr. et al., 1989).

V.2.) Técnicas de cultivo celular

Dentre os procedimentos utilizados para o cultivo de células do material abortado, o desenvolvimento da técnica que mantinha os tecidos expostos à tripsina à baixa temperatura por um período

prolongado, visava apenas a uma adequação à rotina existente no laboratório. Durante o desenrolar desse trabalho, concluiu-se que ambos os procedimentos, exposição à tripsina por 30-45 minutos e por 12-24 horas, são semelhantes, no que diz respeito aos resultados da cultura.

A terceira técnica utilizada, inspirada no trabalho de Niazi & Loeffler (1981), visa à obtenção de uma cultura pura de células fetais quando o tecido utilizado é a VC. Assim, na 1ª tripsinização ocorre o desgarramento das células mais externas, sincício e citotrofoblasto e ainda das eventuais células maternas que estejam na superfície da vilosidade. Na 2ª tripsinização então, a ação dessa enzima far-se-á na vilosidade "desnuda", ou seja, contendo apenas as células mesenquimatosas do centro da mesma, de sorte que após essa tripsinização obter-se-á uma suspensão de células fetais puras, sem contaminação com células maternas.

Embora Niazi & Loeffler (1981) tenham assinalado que as culturas de suspensões de células mesenquimatosas começavam a proliferar rapidamente dentro dos dois primeiros dias, formando uma camada de fibroblastos por volta do 5º- 10º dia, não foi isso que se observou no presente trabalho. Na verdade, a suspensão de células mesenquimatosas parecia conter muito pouco material com o tempo de exposição à tripsina utilizado, motivo pelo qual se observou um crescimento celular muito lento. Pensou-se, então, que as células mesenquimatosas da vilosidade eram mais resistentes à ação da tripsina, não havendo uma dispersão celular muito satisfatória para o cultivo *in vitro* com as condições laboratoriais utilizadas. Esse, inclusive, foi um dos motivos que limitou a utilização dessa técnica no presente trabalho, não sendo pois, possível concluir sobre a sua eficácia como procedimento a ser utilizado na rotina.

Afora as técnicas utilizadas para cultivo celular, um passo de fundamental importância para a obtenção de resultados satisfatórios, quando se utilizou VC como tecido cultivado, foi a observação de que as culturas deveriam ser submetidas a uma troca de meio, no máximo, 24 horas após o seu lançamento. Acredita-se

que fatores tóxicos, provavelmente do próprio metabolismo, ou decorrentes, talvez, da tripsinização prévia, se concentram no meio, ameaçando a sobrevivência das próprias células. Observação semelhante foi relatada por Thiede (1960), ao sugerir que as camadas mais externas do trofoblasto exercem um efeito inibitório *in vitro* na cultura de VC.

V.3.) Idade gestacional dos abortos

No presente trabalho, mais da metade dos abortos estudados (68%), eram do 1º trimestre gestacional (tabela 9), como esperado. Sabe-se que cerca de 90% de todos os abortamentos ocorrem durante o primeiro trimestre (Boué et al., 1985).

Quando se analisa a figura 1 mostrando a distribuição dos abortos anormais segundo a IG, observa-se uma maior concentração deles em fases mais precoces, com um máximo na 10ª semana (9 casos) e queda nítida após a 12ª semana. Em relação aos abortos cromossomicamente normais (figura 2) não se observa uma tendência para uma maior concentração em qualquer faixa etária. Comparando esses dados às distribuições de abortos em relação à IG apresentadas por Creasy et al. (1976), percebe-se uma semelhança entre elas, principalmente em relação a curva dos abortos cromossomicamente anormais. A propósito, na distribuição apresentada por aqueles autores, o pico máximo encontrava-se na 11ª semana com 60% dos abortos anormais aí concentrados.

Com relação aos dados apresentados na tabela 19, no que diz respeito à IG média dos abortos triplóides (13,22 semanas), observa-se uma concordância com os dados da literatura (Creasy et al., 1976; Boué & Boué, 1970; Lauritsen, 1976;), ou seja, a triploidia, embora letal, é compatível com uma sobrevivência, em média, maior que as trissomias de alta letalidade. Por outro lado, quando se leva em consideração a origem parental do lote

haplóide extra, observa-se que a IG média nesses abortos tende a ser maior quando a origem é paterna (por volta de 17 semanas) e menor (entre 10-13 semanas) quando a origem é materna (Hassold et al., 1980).

No presente trabalho a IG dos triplóides variou de 10 a 17 semanas. Os dois abortos com origem parental conhecida (2935 e 3538), em ambos os casos com o lote haplóide extra paterno, mostraram IG de 17 e 13 semanas respectivamente (apêndice 3).

Embora não se saiba qual o mecanismo exato pelo qual a origem parental do lote haplóide afeta o desenvolvimento do conceito, acredita-se que essa diferença de comportamento está relacionada com o mecanismo de impressão (imprinting) do lote parental (Marx, 1988).

V.4.) Freqüências e tipos de aberrações cromossômicas

A freqüência de aberrações cromossômicas encontrada nesse trabalho - 63%, reflete, antes de mais nada, uma adequada seleção da amostra. Tanto assim que, entre os abortos com cariótipos normais, não se observou um excesso de 46,XX (dado esse, quando presente, sugestivo de contaminação da cultura com células maternas), ao contrário, a razão de sexo foi igual a unidade.

Freqüências mais baixas de aberrações cromossômicas foram relatadas (Procter et al., 1986 - 28%; Hassold et al., 1978 - 46,7%; Creasy et al., 1976 - 30,5%; Arakaki et al., 1970 - 49,2% Kajii et al., 1980 - 57%). No entanto, freqüências acima de 60% foram detectadas por Boué et al. (1975) - 61% e Szulman (1965) - 64%. Na verdade essas diferenças refletem diferentes metodologias utilizadas, inclusive na seleção da amostra, pois muitos autores incluíram, em seus trabalhos, espécimes com mais de 20 semanas como sendo abortos.

A distribuição dos tipos de aberração cromossômica está de

acordo com o esperado, ou seja, os cariótipos mais comuns foram: as trissomias autossômicas (41%), as triploidias (23%), e a monossomia X (13%) (tabela 10). Entre os abortos anormais, a metade, aproximadamente, apresenta trissomia autossômica (Boué & Boué, 1974; Lauritsen, 1976; Hassold et al., 1980; Cavalcanti et al., 1988). Triploidias e monossomia X apresentam frequências semelhantes entre os abortos anormais, 15-20% em média, porém, em geral, observa-se uma maior frequência de cariótipos 45,X se comparada às triploidias (Szulman, 1965; Carr, 1970; Arakaki & Waxman, 1970; Lauritsen, 1976; Hassold et al., 1980), constituindo o tipo mais comum de aberração cromossômica se considerada isoladamente (Lauritsen, 1976; Cavalcanti, 1986). Alguns trabalhos, dentre os quais se inclui o presente, ao contrário dos anteriormente citados, mostram uma frequência de triploidia superior a de monossomia do X (Kuliev, 1971; Kajii et al., 1973; Boué & Boué, 1974).

Dentre as trissomias autossômicas o achado mais comum foi, como esperado, a trissomia do 16. Além desta, chamam atenção no grupo das trissomias dois casos que, além do cromossomo extra, apresentavam também um rearranjo estrutural. No primeiro caso (2555), cujo cariótipo encontrado foi 47,XX,+14,t(5q;8q)mat, o cromossomo extra não tinha, aparentemente, nenhuma relação com o rearranjo estrutural herdado da mãe. Se a origem do 14 extra fosse materna, poder-se-ia pensar que, de alguma forma, a translocação equilibrada poderia ter predisposto a falta de disjunção do 14, porém, não existem evidências para apoiar essa hipótese.

Boué & Boué (1974) relataram quatro casos de associação de duas anomalias diferentes, sendo todos eles exemplos de associação entre um rearranjo estrutural transmitido pela mãe e uma trissomia de um cromossomo não envolvido no rearranjo. Meulensbroek & Geraedts (1982), relataram um caso de trissomia 13 em um aborto, sendo o pai portador de uma translocação robertsoniana t(21;22).

O outro caso (3141-I) envolvendo uma trissomia autossômica associada a um rearranjo estrutural - 47,XX,+16,t(13q;16p)mat, no presente trabalho, sugere, pelo menos, duas possibilidades em

relação à sua origem, uma vez que os cromossomos 16 dos pais não foram informativos. Em primeiro lugar, se o cromossomo 16 extra fosse de origem paterna, dir-se-ia então que um espermatozóide anormal, com uma dissomia do 16, se associou, coincidentemente, com um óvulo portador de um rearranjo equilibrado herdado da mãe. Ao contrário, o que aliás é muito mais provável, assumindo-se que o cromossomo 16 extra fosse de origem materna, concluir-se-ia que o cariótipo desse aborto representava um erro de disjunção (segregação 3:1), do tipo trissomia de intercâmbio (Therman, 1986). Esse tipo de trissomia implica na associação dos dois cromossomos translocados (translocação equilibrada) com um cromossomo homólogo extra normal, como observado no presente caso. A translocação dos cromossomos 13 e 16 observada no presente trabalho, parece ser o único caso descrito na literatura até o momento.

A presença de cromossomo acrocêntrico no rearranjo estrutural, como no presente caso, constitui um dos fatores que favorecem a segregação 3:1 (Therman, 1986). Sabe-se também que a disjunção ou segregação anômala 3:1 de uma translocação equilibrada sempre resulta em trissomias ou monossomias totais ou parciais e, em 90% dos conceitos não equilibrados, a mãe é a portadora da translocação. (Almeida, 1983).

Três exemplos de segregação 3:1 na literatura, em particular, merecem destaque aqui. No primeiro exemplo, uma mulher portadora de uma translocação do tipo (9q-;21p+) teve duas filhas anormais, ambas com cariótipos não equilibrados resultantes de segregação 3:1. Uma delas era portadora de trissomia parcial 9p (trissomia terciária) e a outra de trissomia 21 (trissomia de intercâmbio) (Habedank & Faust, 1978). Numa outra família, o pai era portador de uma translocação (13q-;18q+) e dos cinco abortos apresentados pelo casal, três foram estudados citogeneticamente: o primeiro apresentava uma trissomia terciária [47,XY,+13q-]; o segundo uma translocação não equilibrada [46,XX,13q-], e o terceiro uma trissomia de intercâmbio [47,XX,t(13q-;18q+),+18] (Kajii et al., 1974).

O terceiro exemplo de segregação 3:1 a ser ressaltado nessa

discussão é o que envolve a conhecida translocação (11q;22q). Mais de 100 famílias já foram analisadas a partir de estudos colaborativos (Fraccaro et al., 1980; Iselius et al., 1983), de onde se concluiu que essa translocação é relativamente freqüente e que, virtualmente, todos os casos apresentam os mesmos pontos de quebra (11q23.3 e 22q11.2). Além disso, acreditava-se até recentemente que o único cariótipo não balanceado encontrado na prole de portadores mostrava sempre uma trissomia parcial caracterizada por: 47,XX ou XY,+der(22)t(11;22)(q23.3;q11.2), a qual é decorrente de disjunção anômala 3:1, na 1ª divisão meiótica. Na verdade, o único caso que apresentou cariótipo diferente do citado foi relatado há pouco tempo por Lockwood et al. (1989): 47,XY,t(11;22)(q23.3;q11.2),+der(22)t(11;22)(q23.3;q11.2)pat, decorrente de uma falta de disjunção na 2ª divisão meiótica ou de falta de disjunção mitótica.

Em relação ao caso (3141) do presente trabalho, anteriormente assinalado, é interessante notar também que o terceiro aborto do casal, o segundo estudado nessa amostra, como mostra o apêndice 4, também apresentava a translocação equilibrada herdada da mãe, porém, nesse caso, como resultado de uma segregação alternada (2:2). Além disso, esse aborto apresentava uma outra translocação equilibrada (de novo), para a qual não se tem uma explicação convincente. Sabe-se porém que, embora numa baixa freqüência (0,28%), os rearranjos equilibrados ocorrem também entre os abortos espontâneos (Boué et al., 1985). Finalmente a quarta gestação desse casal, enfim viável, também era resultado de uma segregação alternada envolvendo os cromossomos translocados da mãe (apêndice 4).

Observou-se ainda, mais dois casos de rearranjo não equilibrado no presente trabalho. No primeiro, uma pequena deficiência da porção distal do braço longo do cromossomo 14 aparentou ser, pelo menos nessa família, de alta letalidade. A mãe, portadora de uma translocação equilibrada envolvendo as porções distais dos cromossomos 4 e 14 [46,XX,t(4;14)(p16;q24), apresentava uma história obstétrica assim caracterizada: GIVFIAIII. Com exceção da segunda gestação (abortamento

terapêutico) e da última (aborto estudado nesse trabalho), as outras duas referiam-se a conceptos anormais; na primeira um natimorto polimalformado com cariótipo não equilibrado e na terceira um aborto com ovo não embrionado.

Os principais exemplos de deficiência terminal do braço longo do cromossomo 14 são os casos de $r(14)$, a maior parte de ocorrência de novo. Nesses, o ponto de quebra no braço longo se situa, geralmente, em q32, e as crianças afetadas, na grande maioria do sexo feminino, apresentam, além do retardamento mental, quadro dismórfico discreto, dentro do qual se destacam certas alterações retinianas e convulsões rebeldes ao tratamento (Gilgenkrantz et al., 1984; Raoul et al., 1984; Rethoré et al., 1984).

Embora os pontos de quebra dos casos da literatura, acima referidos, sejam diferentes dos pontos de quebra do caso (3222) do presente trabalho, acredita-se que a alta letalidade desse último possa ser decorrente da perda de um gene muito importante, levando a estado de hemizigose.

O último caso com rearranjo estrutural não equilibrado: $46,XX,-4,+der(4)t(1;4)(q31;q35)mat$ no presente trabalho, foi decorrente de uma segregação tipo adjacente 1, como é aliás a maior parte das translocações equilibradas não balanceadas entre os abortos espontâneos (Hassold et al., 1980).

Dentre os cariótipos triplóides chama atenção, em primeiro lugar, a preponderância do complemento cromossômico sexual tipo XXX em detrimento do XXY (6:3).

Como apresentado anteriormente na introdução, tabela 2, praticamente todos os trabalhos mostram ser o complemento XXY muito mais freqüente que o XXX. Szulman et al. (1981) mostraram que entre os conceptos triplóides não molares (14% dos triplóides), havia um ligeiro predomínio dos XXX (4 XXX para 3 XXY). No presente trabalho, não se observou situação semelhante entre os triplóides com estudo histopatológico conhecido. Acredita-se que mais observações são necessárias, antes de se concluir sobre uma possível associação entre triplóides não molares e predomínio de cariótipo com complemento cromossômico sexual XXX.

Um outro ponto a ser ressaltado entre os triplóides é a aparente alta incidência de cariótipos hipertriplóides, 2 casos em 9 (22%) na presente amostra. A incidência de hipertriploidia é de cerca de 5% entre os triplóides, como já referido anteriormente (tabela 1).

O cariótipo 73,XXY,+2,+7,+18,+20, observado nesse trabalho, parece ser o único exemplo conhecido de hipertriploidia com 73 cromossomos entre abortos triplóides. Uma vez que se demonstrou a presença de dois lotes paternos na origem desse aborto e, que cariótipos desse tipo são formados por diferentes erros (Boué et al., 1985), sugere-se que, mais provavelmente dois gametas duplamente dissômicos estavam envolvidos na formação desse conceito, supondo a dispermia como mecanismo de origem da triploidia.

Dentre os cariótipos com aneuploidia dupla na presente amostra, o 46,X,+21 parece, também, ser o único exemplo até agora descrito em abortos, apesar de já ter sido detectado em crianças malformadas (Townes et al., 1975; Schinzel, 1984). Aneuploidia dupla envolvendo uma monossomia do X, como no presente caso, também foi identificada, em material de aborto, por Meulenbroek & Geraedts (1982), porém com cariótipo 46,X,+7.

Nos outros dois cariótipos com aneuploidia dupla, na verdade trissomia dupla, observou-se idade materna avançada em ambos. Uma forte associação entre trissomias duplas e idade materna avançada já havia sido referida por Hassold et al. (1984).

Num dos casos (2739) de trissomia dupla da presente amostra, demonstrou-se que os dois cromossomos extras apresentavam origem parental distinta, ou seja, enquanto um havia sido herdado da mãe o outro o foi do pai. Situações semelhantes também foram referidas por Hassold et al. (1984) em dois dentre 9 casos estudados, sendo que em um dos casos, na realidade uma trissomia tripla, 49,XX,+14,+15,+22, os cromossomos 15 e 22 extras, eram de origem paterna enquanto que o 14 extra havia sido doado pela mãe.

V.5.) Aspectos relacionados aos fatores de risco

Considerando os casos informativos quanto à história obstétrica, 14% (8 em 55) apresentavam história de abortamento habitual. Se comparada com a amostra controle, na qual 7% (3 em 43 - apêndice 5) dos casos informativos apresentavam história de abortamentos recorrentes, percebe-se uma diferença nítida entre essa duas amostras. No entanto, essa taxa encontrada na amostra controle é semelhante à referida por Tharapel (1985), segundo o qual cerca de 5% de todos os casos encaminhados a um serviço de Genética Clínica são representados pelos casos de abortamento habitual.

A aparente alta freqüência (3 em 5) de rearranjos equilibrados em casais com história de abortamento habitual na presente amostra, deve-se a um viés parcial da amostra, uma vez que havia um encaminhamento tendencioso de abortos em cujas mães já se sabia existir um rearranjo equilibrado. Segundo os dados da revisão feita por Boué et al. (1985) observa-se que a freqüência de rearranjos estruturais em casais com história de abortamento habitual varia de 2,8 a 17,8%.

Em relação à IM, observou-se diferenças significativas entre os subgrupos abortos trissômicos e abortos com monossomia X da amostra índice, havendo uma IM média mais alta entre os primeiros e mais baixa entre os últimos (tabela 19), como era esperado (Kajii & Ohama, 1979; Warburton et al., 1980b; Boué et al., 1985).

V.6.) Aspectos morfológicos (macroscópicos) dos abortos espontâneos

Em relação à classificação do material, chamou atenção o

relativamente pequeno número de casos enquadrados no grupo III - saco coriônico intacto vazio (Tabela 6), também conhecido como ovo cego ou anembrionado. A julgar pelos elegantes trabalhos de Hertig, 5% de todas as gestações clinicamente reconhecidas, correspondendo à metade dos ovos patológicos por ele estudados, são representados pelo ovo anembrionado (Hertig & Sheldon, 1943; Hertig & Rock, 1949). Acredita-se que a maior parte dos espécimes abortados é, de fato, constituída pelo ovo anembrionado, e que a sua não identificação como tal deve-se ao fato de que, muito frequentemente, o saco coriônico é rompido antes ou durante a curetagem uterina (53% dos casos da tabela 6 foram classificados no grupo II - saco coriônico roto). Para exemplificar isso, recorda-se que em um dos casos da presente amostra índice (3152) a autora pôde acompanhar a gestante durante o exame ultra-sonográfico bem como durante o esvaziamento uterino (ambos realizados no mesmo dia). No decorrer da realização da ultra-sonografia, foi observado um ovo cego com área trofoblástica escassa e, por ocasião da curetagem, observou-se ruptura do saco coriônico. Por isso mesmo esse caso foi classificado como sendo do grupo III (apêndice 3).

Fujikura et al. (1966) também encontraram uma incidência baixa de abortos classificados no grupo III - 5,5% ou 18 casos em 327 estudados.

Além de classificar os abortos, o exame inicial dos espécimes também permitiu a detecção de outros achados como artéria umbilical única e presença de saco vitelino.

V.6.1.) Artéria umbilical única

A AUU, como é conhecida a ausência de um dos vasos do cordão umbilical, foi descrita pela primeira vez no período renascentista e vem sendo objeto de estudo de alguns pesquisadores desde o

século passado. Trata-se de uma anomalia vascular detectada tanto em recém-nascidos vivos, com uma incidência de 0,72% (Bryan & Kohler, 1974), quanto em abortos espontâneos, com uma frequência de 1,5% (Byrne & Blanc, 1985). É bem conhecida a sua associação com malformações major, muitas das quais letais (Philippe, 1986). Bryan & Kohler (1974) encontraram uma incidência de 17,5% de malformações associadas. Outros autores observaram também a presença de lesões arterioscleróticas nas artérias ilíacas de crianças com idades de 18 meses e 4 anos, constituindo as lesões arterioscleróticas mais precoces do sistema arterial humano (Meyer & Lind, 1974). Dentre os fetos que são abortados espontaneamente e que apresentam AUU, encontram-se, também, aberrações cromossômicas na maioria deles, sendo as trissomias autossômicas, especialmente a do cromossomo 18, o achado mais freqüente, inclusive entre os recém-nascidos vivos (Byrne & Blanc, 1985).

Neste trabalho detectou-se AUU em seis casos, dos quais quatro apresentavam cariótipos anômalos (tabela 7). Considerando esses dados tem-se que a taxa de AUU nessa amostra é de 9,7%, isto é, seis vezes maior que a taxa de 1,5% encontrada por Byrne & Blanc (1985). Contudo, essas amostras diferem muito quanto à IG média: 12,8 semanas no presente trabalho e 23,2 semanas nos casos apresentados na tabela 1 do trabalho Byrne & Blanc (1985). Esses dados permitem sugerir que a AUU é uma malformação que, apesar de ser observada em fetos viáveis, ela é encontrada, mais frequentemente, em fetos precocemente inviáveis.

Observando os cariótipos apresentados na tabela 7, chama atenção o fato de que, entre os 4 anormais, 3 estavam representados pela monossomia do cromossomo X, mostrando uma associação não usual de acordo com os dados da literatura.

Na série de fetos estudados por Byrne e Blanc (1985), dos 6 que apresentavam AUU e cariótipo anormal, apenas um era portador do cariótipo 45,X, os demais estavam distribuídos da seguinte maneira: 1 triploidia, 3 trissomias do 18 e uma do 7. A associação AUU com cariótipo 45,X foi relatada também por Richart & Benirschke (1958) numa menina que morreu no 19º dia de vida e apresentava cromatina X negativa. Singh & Carr (1966), numa série

de 13 abortos com cariótipos 45,X estudados, descreveram um caso com a mesma associação detectada num feto de 75 mm de comprimento crânio-caudal e, aproximadamente, 21 semanas. Finalmente, tem-se notícia de que essa associação também foi detectada por Bryan & Kohler (1974) numa menina de 5 anos de idade que apresentava monossomia do cromossomo X em estado de mosaico.

Apesar de não ter sido realizado um exame histológico específico do cordão umbilical nos abortos que apresentavam essa estrutura, as observações feitas no presente trabalho permitem as seguintes suposições:

1) a alta incidência de AUU em conceptos 45,X (3 em 5), não representa o que ocorre usualmente, sendo consequência de uma concentração casual nessa amostra;

2) essa incidência corresponde ao que ocorre usualmente, não tendo sido observada em outros trabalhos em consequência da IG mais avançada dos abortos se comparada com a IG na presente amostra.

Ainda em relação à tabela 7, dois casos que estão incluídos na mesma apresentavam falta de digitação de pés e mãos, quando suas IG eram de 14 semanas. Como já foi mencionado anteriormente, acredita-se que essa falta de digitação traduza antes uma prolongada retenção *in utero*, do que uma malformação. Em média os abortos permanecem retidos *in utero* durante 7 semanas após a parada de desenvolvimento do mesmo (Boué & Boué, 1970).

V.6.2.) Saco vitelino

Quando a observação é feita pelo lado fetal da membrana amniótica, o saco vitelino (SV) é visto como uma estrutura esbranquiçada de formato arredondado, localizada sob o âmnio (Moore, 1983). Segundo descrições baseadas em exames ultra-sonográficos, o SV mantém-se próximo ao pólo embrionário em

fases precoces da gestação e, posteriormente, por volta da 11ª semana, ele é comprimido pelo crescimento do saco amniótico ou torna-se reduzido por hipotrofia própria (Ferrazzi et al., 1988).

Observou-se SV em 5 casos do presente trabalho, sendo todos, com exceção de um, portadores de anomalias cromossômicas (tabela 8). O único caso com cariótipo normal apresentava, ao estudo histopatológico, alterações sugestivas de anomalia cromossômica (apêndice 3). Ferrazzi et al. (1985), num trabalho prospectivo, examinaram, por ultra-sonografia, 845 mulheres que seriam submetidas a diagnóstico pré-natal do 1º trimestre, e observaram que a melhor visualização do SV era na 7ª semana. Dos 130 casos de abortamentos, os autores puderam observar SV em 82,1% dos fetos que ainda apresentavam atividade cardíaca, contra 54,5% que não apresentavam batimentos cardíacos. Além disso, entre os oito casos em que a única estrutura dentro do saco gestacional era o SV, o cariótipo foi anormal.

Esses dados podem sugerir, no mínimo, uma relação entre aberração cromossômica do conceito e visualização do SV, dado esse útil tanto para sonografistas quanto para patologistas e geneticistas.

V.7.) Cariótipo x exame histopatológico

Os resultados da avaliação entre as correlações cariótipo versus anatomia patológica mostraram que o estudo histopatológico tem valor limitado, não sendo possível utilizá-lo como exame diagnóstico preditivo na ausência do cariótipo. Enquanto o valor preditivo positivo do achado "histopatológico sugestivo de anomalias cromossômicas" foi 71%, o valor preditivo negativo foi 86%. Além disso, embora a sensibilidade tenha sido alta, 97%, a especificidade do exame histopatológico mostrou-se muito baixa, 33%, indicando que o exame histopatológico tem valor limitado para

identificar os abortos carotipicamente normais. Em outras palavras, o exame histopatológico mostrou ser mais eficaz para prever aberração cromossômica do que para inferir a normalidade de um cariótipo de um aborto.

Resultados semelhantes foram obtidos por Novak et al. (1988); Minguillon et al. (1989) e Rehder et al. (1989). Minguillon et al. (1989), visando o diagnóstico etiológico, utilizaram metodologia de avaliação dos abortos semelhante à do presente trabalho, eles classificaram os abortos, do ponto de vista histopatológico, em cromossomicamente normais e anormais. Esse mesmos autores encontraram que o valor preditivo do estudo histopatológico foi 55%, indicando que a precisão para diferenciar os abortos cromossomicamente anormais dos normais, baseado no exame histológico, foi muito baixa (Minguillon et al., 1989). Na verdade, o que esses autores chamaram de valor preditivo corresponde à razão entre os casos concordantes sobre o total de casos estudados. Um cálculo semelhante no presente trabalho mostra um valor de concordantes igual a 73% (35 por 48).

De todo modo, observou-se uma maior precisão do estudo histopatológico em relação aos abortos triplóides (Novak et al., 1988; Minguillon et al., 1989) e aos tetraplóides e trissômicos para os cromossomos 9, 12 e 16 (Minguillon et al., 1989).

No presente trabalho, 57% (4 em 7) dos abortos triplóides foram diagnosticados corretamente pelo exame histopatológico; já entre os trissômicos, em apenas 40% (6 em 15) deles, foi aventada a hipótese diagnóstica de trissomia pelo estudo histopatológico.

Dentre os três casos diagnosticados histologicamente como mola verdadeira, dois chamaram atenção (3375 e 3090), uma vez que se observou nos mesmos uma membrana semelhante à amniótica.

É geralmente aceito que, por definição, a mola verdadeira ou completa é uma gestação anormal, na qual transformações hidatiformes afetam toda a placenta na ausência de embrião e do seu invólucro, o âmnio (Vassilakos et al., 1977; Szulman & Surti, 1982; Ohama et al., 1986; Philippe, 1986).

Baseado nisso, o diagnóstico de mola seria invalidado, por definição, nesses dois casos. No caso 3375, é possível que a

presença de âmnio tenha sido confundida pela autora, uma vez que essa membrana não foi identificada no exame histopatológico. Diferentemente, no caso 3090, a membrana amniótica com conjuntivo hipercelular, inclusive, foi identificada no exame histológico, e posteriormente reconsiderada como não sendo âmnio pela patologista (Ramos, 1990, comunicação pessoal). Interessante notar que dos laudos dos três casos de mola, esse (3090) foi o único duvidoso, havendo para ele um segundo diagnóstico, de mola parcial. Assim, é mais provável que esse tratava-se, de fato, de um caso de mola parcial.

Complementando a discussão acima, é válido ressaltar também que outros autores consideram que, embora em raríssimas vezes, as gestações molares (MH) podem se acompanhar de anexos e tecido embrionário amorfo (Strauss et al., 1967).

A homozigose de marcadores polimórficos foi confirmada apenas no caso 2917, indicando, fortemente, a origem androgenética da mola, como acontece na maioria das molas verdadeiras (Kajii & Ohama, 1977). Por outro lado, molas clássicas podem não apresentar polimorfismos cromossômicos idênticos, por exemplo, quando sua origem se dá por dispermia (Surti et al., 1979; Jacobs et al., 1982).

Apesar das diferenças referidas entre mola completa e parcial, parece que esses conceitos podem ser modificados. Hemming et al. (1987), utilizando citometria de fluxo demonstraram que uma parte das molas descritas como completas apresentavam padrão triploide e outras, histologicamente compatíveis com o diagnóstico de mola parcial, mostraram padrão diplóide. Mais recentemente, Rehder et al. (1989) e Fox (1989) sugeriram que as molas, parcial e completa, poderiam representar gradações de uma única doença, ao invés de entidades distintas. Baseado nesses dados, questiona-se o termo "síndrome da triploidia" sugerido por Philippe et al. (1980) para se referir à associação mola parcial com cariótipo triploide.

Outro dado que também chamou atenção foi o fato de não se ter observado níveis elevados de HCG, como normalmente se espera encontrar (Philippe, 1986), porém, sabe-se que gestações molares

podem cursar com níveis normais de HCG (Campbell et al., 1970).

Em 12 abortos cariotipicamente normais o exame histopatológico sugeria cariótipo anormal, ou seja, 67% dos abortos normais.

Algumas observações merecem destaque nesse grupo. Primeiro, três casos (3 em 12 ou 25%) apresentavam história de abortamento habitual, aproximadamente o dobro da proporção encontrada para a amostra geral que foi 14%.

Vários estudos mostraram que abortos recorrentes tendem a apresentar cariótipos normais (Hassold, 1980; Morton et al., 1987; Warburton et al., 1987), porém não há referência quanto a relação desses abortos com o aspecto morfológico dos mesmos.

Supondo que uma parte dos abortos cariotipados normais possam ser decorrentes de genes letais, poder-se-ia pensar que esses casos recorrentes com histopatológico anormal teriam como causa do abortamento genes letais recessivos autossômicos ou ligados ao X (abortamentos de causa gênica) e portanto, com risco de recorrência de 25%. Em termos de aconselhamento genético, esses riscos não sofreriam grandes modificações, uma vez que se costuma utilizar um risco de recorrência de abortamento para casais inférteis, em torno de 25% (Warburton & Fraser, 1964).

O caso 3074 também poderia ser incluído nesse grupo de abortamentos de causa gênica, uma vez que na história desse caso há um dado sugestivo de herança recessiva autossômica. Os pais haviam tido um filho polimalformado, com suspeita diagnóstica de Síndrome de Smith-Lemli-Opitz, que evoluiu para o óbito com 20 dias de vida. Essa síndrome, como se sabe, é de etiologia autossômica recessiva, podendo ser letal levando à morte fetal ou ao nascimento de natimortos (Winter et al., 1988).

Considerando-se que esses 4 abortos (os 3 com história de abortamento habitual e o caso 3074), sejam de etiologia autossômica recessiva, então 67% dos abortos desse grupo permaneceriam com etiologia desconhecida, reforçando a grande heterogeneidade desse grupo (Cariótipos normais e AP sugestivo de anomalia cromossômica).

Assim, para esses 67% (casos sem etiologia definida), poder-

se-ia pensar em hipóteses etiológicas tais como: criptomosaicismo, mosaicismo placentário e dissomia ou isodissomia uniparental.

O criptomosaicismo é uma condição que, embora sugerida, é de difícil comprovação, pois para afastá-la com segurança haveria necessidade de, além de analisar um número de células muito grande, essa análise ser realizada em, praticamente, todos os tecidos presentes.

O mosaicismo restrito à placenta, condição relativamente freqüente segundo Kalousek & Dill (1983) e Kalousek et al. (1989), poderia passar despercebido nos casos em que o tecido estudado não foi de origem placentária.

A dissomia uniparental com cariótipo normal, compreende um novo mecanismo (do ponto de vista de conhecimento) para a ocorrência de doenças genéticas no homem. Esse termo, proposto por Engel (1980) corresponde à presença de dois cromossomos homólogos oriundos de um único pai, num dado indivíduo, ou seja, significa dizer que um gameta nulissômico para um dado par cromossômico fertilizou um outro gameta dissômico para o mesmo par cromossômico. Se os dois cromossomos forem idênticos, por falta de disjunção na meiose II, chama-se de isodissomia (Engel, 1980).

O primeiro exemplo de dissomia uniparental em humanos foi relatado por Spence et al. (1988) numa menina, 46,XX, que apresentava fibrose cística e baixa estatura. Os autores demonstraram a origem uniparental, no caso materna, do cromossomo 7 por meio da utilização de técnicas de biologia molecular. Mais recentemente Voss et al. (1989) relataram um outro caso, clínica e citogeneticamente semelhante, para o qual os autores concluíram tratar-se de uma isodissomia materna do cromossomo 7.

Além dos exemplos citados acima, a homozigose devido a isodissomia cromossômica também foi descrita em doenças malignas (Cavenee et al., 1983; Abe et al., 1989).

Mais recentemente, Judith Hall (1990), numa elegante comunicação (*letters to the editor*), sugere a dissomia uniparental unilateral como possível explicação para a síndrome de Russell-Silver. Baseada no fato que a dissomia uniparental pode estar associada a retardamento de crescimento em camundongos e,

sabendo da homologia existente entre segmentos cromossômicos humanos e de camundongos, Hall (1990) sugere que os segmentos cromossômicos 2p, 5q, 6p e q, 7p e q, 9q, 11p e q, 16p e q, 19q, 20q, 21q e 22q, quando oriundos de um único pai (dissomia uniparental) poderiam mostrar diferenças fenotípicas.

Com base nesses exemplos e, somando-se a isso, a alta taxa de anormalidades em estágios precoces do desenvolvimento, a maioria das quais decorrentes de erros de disjunção durante a gametogênese, acredita-se que uma certa fração dos abortos com cariótipos normais seriam decorrentes de genes recessivos de origem parental única. Sugere-se, assim, que os abortos com esse tipo de etiologia devem estar concentrados, por razões óbvias, entre aqueles que apresentam fenótipo morfológico anormal, na presença de cariótipo normal. Sugere-se ainda que, uma maneira de testar essa hipótese seria analisar, comparativamente, o aborto 46,XX com AP alterado e seus pais, por meio de técnicas de polimorfismos de DNA. Dado que os cromossomos X e 16 são os mais frequentemente envolvidos em fenômenos de falta de disjunção, acredita-se que polimorfismos desses cromossomos deveriam ser os mais pesquisados.

Finalizando esse item, acredita-se que, do ponto de vista do aconselhamento genético, pode-se considerar, de uma maneira geral, os abortos cariotipicamente normais como os de pior prognóstico para o casal e aqueles com cariótipos anormais, que não rearranjos estruturais herdados, com melhor prognóstico.

V.8.) Dados ultra-sonográficos coletados

No apêndice 7 encontra-se uma listagem de dados ultra-sonográficos referentes a alguns dos abortos estudados, porém, como os mesmos não foram avaliados por um examinador único obedecendo critérios pré-estabelecidos, tais dados não foram

considerados na análise dos resultados do presente trabalho.

V. 9.) Dados da amostra controle

Em relação a amostra controle, acredita-se que o seguimento até o nascimento do grupo de pacientes não submetidas a diagnóstico pré-natal, foi fundamental para se certificar da "normalidade" das gestações. Acredita-se que o desvio da razão de sexo entre os conceptos, dessa amostra, não reflete a verdade, traduzindo apenas um achado casual numa amostra pequena.

Uma análise anterior numa amostra de 129 casos de diagnóstico pré-natal a partir de VC (do mesmo laboratório), não mostrou desvio significativo da razão de sexo entre 120 cariótipos (51 46,XY : 69 46,XX) (Pinto Jr. et al., 1989).

V.10.) Dosagens bioquímicas

Os resultados das dosagens de AFP e de HCG nos soros maternos indicaram, claramente, que esses parâmetros não podem ser utilizados como exames preditivos do diagnóstico cariotípico do aborto, uma vez que: 1) como apresentado nas figuras 3 e 4, houve um rebaixamento generalizado dos valores de ambas as dosagens quando comparados com a amostra controle (86% dos valores de AFP e 82% dos valores de HCG se encontram abaixo de 0,5 MoM) e 2) não houve diferenças significativas entre os subgrupos da amostra de abortos (figuras 3 e 4, e tabelas 17 e 18).

As correlações que se pensou pudessem existir entre cariótipo dos abortos (levando em consideração os estudos

citogenético e histológico) e os níveis séricos maternos de AFP e HCG, revelaram-se, na verdade, inexistentes, segundo os dados do presente trabalho.

É provável que esses resultados possam ser explicados pela metodologia utilizada, ou seja, coleta de sangue materno pouco antes do completo abortamento. Uma vez que os abortos podem permanecer retidos in utero por um período de tempo variável, é possível que uma falência placentária associada a uma degeneração de tecidos embrionários ou mesmo a sua perda mais precoce, tenha provocado a queda generalizada da AFP e do HCG nos soros maternos da presente amostra.

As associações entre aberrações cromossômicas e níveis séricos maternos baixos de AFP em gestações do 2º trimestre têm sido demonstradas em vários trabalhos (Merkatz et al., 1984; Davis et al., 1985; Tabor et al., 1987; Lindesbam et al., 1987; Drugan et al., 1989). No entanto, a eficiência da dosagem de AFP nessas gestações, como teste de rastreamento de aberração cromossômica (em particular de Síndrome de Down), tem se mostrado baixa de acordo com Doran et al. (1986) e Bogart et al. (1987). Os primeiros, revisando vários trabalhos sobre dosagem de AFP em gestações de alto risco do 2º trimestre, demonstraram que apenas 20% das aberrações foram detectadas. Taxa semelhante - 24% - foi encontrada por Bogart et al. (1987) ao estudar uma amostra de 25 gestações entre 18-25 semanas.

As dosagens de HCG no soro materno têm se mostrado muito mais eficientes para detectar aberrações cromossômicas em gestações de segundo trimestre (Bogart et al., 1987; Bogart et al., 1989; Muller & Boué, 1990). Arab et al. (1988), por outro lado, sugeriram que a proporção de HCG/AFP no soro materno poderia melhorar a detecção de trissomia 21, uma vez que os níveis de HCG se encontram elevados, ao passo que os de AFP estavam diminuídos em mães portadoras de fetos trissômicos.

Considera-se que, pelo menos, a maior parte da AFP detectada no soro materno é proveniente do fígado fetal, passando à circulação materna através de transferência transplacentária, enquanto que uma menor quantidade, cerca de 15%, ganha a

circulação materna através do âmnio (Wald & Cuckle, 1984).

Uma vez que a AFP, associada a aberração cromossômica, encontra-se reduzida em ambos, soro materno e líquido amniótico (Merkatz et al., 1984; Cuckle et al., 1984; Jones et al., 1986; Jones et al., 1988) e ainda, em soro de cordão umbilical de fetos trissômicos, presume-se que a síntese/secreção de AFP pelo fígado fetal está prejudicada na vigência de aberração cromossômica (Cuckle et al., 1986).

Quanto ao HCG, acredita-se que, como produto do metabolismo de células trofoblásticas, a sua elevação no soro materno de gestações cromossomicamente anormais, seria decorrente de uma imaturidade do concepto e portanto, os níveis elevados refletiriam a concentração sérica de um período mais anterior da gestação (Wald et al., 1988b). Em relação a trissomia 21, especificamente, Muller & Boué (1990), consideram que o atraso de maturação das VC, com persistência de formas embrionárias em placentas de conceptos viáveis (Oberweis et al., 1983), poderia explicar a produção e, conseqüentemente, os altos níveis de HCG detectados nos soros maternos de gestações portadoras de fetos trissômicos.

A associação entre aberração cromossômica e níveis séricos maternos baixos de AFP também foi detectada em gestações do 1º trimestre (Brambati et al., 1986; Barkai et al., 1987). No entanto, segundo Sellar (1990), antes da 20ª semana os níveis de AFP de gestações com fetos com síndrome de Down são iguais aos níveis de gestações normais e apenas após a 20ª semana é que o declínio da AFP passa a ser maior na vigência de síndrome de Down devido a uma excreção retardada de AFP pelo rim fetal.

Os níveis séricos maternos de HCG, por outro lado, embora mostrem uma associação com aberração cromossômica, quando dosados durante o 2º trimestre gestacional (Bogart et al., 1987) não são úteis para detectar trissomia 21 quando a dosagem de HCG é feita no 1º trimestre, uma vez que os níveis não são diferentes daqueles encontrados nos soros maternos de gestações normais (Cuckle et al., 1988; Bogart et al., 1989).

Bogart et al. (1989) acreditam que, uma vez que os níveis séricos maternos de HCG de gestações com fetos aneuplóides são

aparentemente normais entre a 9-11^a semanas, mas estão frequentemente elevados em gestações mais avançadas (2^o trimestre), parece provável que os níveis elevados sejam decorrentes de uma falta de declínio adequado do HCG, que normalmente acontece entre 13-17 semanas.

Entre as gestações do 1^o trimestre Bogart et al. (1989) encontraram apenas um caso com nível sérico materno de HCG elevado (> 2,5 MoM); e com cariótipo fetal triplóide. Ao contrário, dentre os casos do 2^o trimestre, os casos com cariótipo triplóide apresentavam níveis muito baixos de HCG (< 0,25 MoM).

Em seis casos de triploidia descritos por Pircon et al. (1989) cinco apresentavam HCG e AFP elevados. O único caso que não apresentava essas dosagens em níveis elevados, também não apresentava transformações hidrópicas da placenta (Pircon et al., 1989).

Além de Pircon et al. (1989), triploidia associada a níveis séricos maternos de AFP elevados foi relatada por outros autores (Berkeley et al., 1983; O'Brien et al., 1988).

No presente trabalho não se observou elevação de AFP nem tampouco de HCG associada a triploidia, mesmo quando se levou em consideração os três casos com histopatológico sugestivo de mola parcial (apêndice 3).

A causa da elevação dos níveis séricos maternos de AFP associada a triploidia não é conhecida, porém algumas possibilidades explicam ou sugerem essa relação. Malformações do feto como defeito de fechamento de tubo neural, que aliás é comumente associado a fetos triplóides, levam a um aumento da AFP. Sugere-se também que alterações placentárias, como por exemplo, as degenerações hidatiformes da mola parcial alterariam a permeabilidade da placenta e conseqüentemente acarretariam uma elevação da AFP (Pircon et al., 1989). Esses autores encontraram alterações molares nos cinco casos que apresentavam aumento de AFP nos soros maternos. Perkes et al. (1982) observaram alterações placentárias, caracterizadas por "espaços císticos" ao exame ultra-sonográfico, em gestações que apresentavam elevação de AFP sem causa aparente. É possível que àquelas alterações císticas

correspondessem à degeneração molar, comum nas molas parciais.

Trabalhos mais antigos já mostravam uma associação entre níveis séricos maternos de HCG reduzidos e abortamento espontâneo (Brody & Carlstron, 1965; Boué et al., 1968; Edmonds et al., 1982). Esses últimos, no entanto, demonstraram que entre um grupo de pacientes apresentando abortamento espontâneo, havia dois padrões de HCG nos soros maternos, um com níveis normais, enquanto que o outro indicava uma produção baixa. Uma alteração na época adequada da implantação do ovo, como causa do abortamento, foi inferida pelos autores (Edmonds et al., 1982).

Em relação a AFP, embora a mesma tenha a sua maior produção no fígado fetal (Muller, 1989), há evidências de produção extra-fetal (Leek et al., 1974). No entanto, em gestações anembrionadas, como no caso do ovo cego, Bennett et al. (1978) encontraram níveis séricos maternos baixos de AFP.

No presente trabalho, três casos, ao contrário dos demais, apresentaram níveis de AFP muito elevados. Um deles, caso 3063, associado a cariótipo anormal 46,X,+21, sugere uma possível malformação fetal, como por exemplo, um higroma cístico, uma vez que essa malformação costuma estar presente em fetos com cariótipos 45,X e também com níveis elevados de AFP (Singh & Carr, 1966; Tabor et al., 1981; Chervenak et al., 1983; Elejalde et al., 1985).

Golden et al. (1989) referiram níveis normais de AFP associado a higroma cístico, porém os mesmos autores consideram que, se roto o higroma, os níveis de AFP costumam se apresentar muito elevados.

Em relação ao segundo caso (2914), este com cariótipo normal e níveis elevados de AFP, acredita-se que esse aumento, também, possa ter sido decorrente de alguma malformação fetal uma vez que o exame ultra-sonográfico mostrou uma possível anomalia de cordão. Acredita-se que essa alteração poderia ser, por exemplo, uma onfalocele ou mesmo um hematoma de cordão, ambos são, reconhecidamente, associados a níveis muito elevados de AFP (Nørgaard-Pedersen et al., 1985; Resta et al., 1988).

Finalmente, para o último caso com AFP elevada (caso 2903),

também com cariótipo normal, não se encontrou nenhuma causa aparente que explicasse aquela elevação da AFP. O exame anátomo-patológico não foi realizado nesse caso.

Acredita-se que os níveis diminuídos de HCG em ambos os subgrupos de abortos (com cariótipos normais e com cariótipos anormais) do presente trabalho, possam ser secundários a uma falência placentária provocada, possivelmente, por um período de retenção, variável, do concepto como referido anteriormente. De uma certa forma, os dados apresentados por Bogart et al. (1989) recentemente, também direcionam para esse tipo de discussão, uma vez que eles não encontraram diferenças entre gestações com fetos normais e aquelas com fetos portadores de trissomia do 21. Se todos os abortos estudados no presente trabalho fossem do 1º trimestre, esperar-se-ia encontrar, pelo menos teoricamente, algo semelhante ao que foi detectado, ou seja, ausência de diferenças entre os níveis de HCG entre gestações com conceptos anormais e normais. Por outro lado, cerca de 30% dos abortos eram do 2º trimestre. Além disso, a explicação para as diferenças existentes entre os níveis de HCG no 2º trimestre, seria a de que os níveis elevados detectados no 1º trimestre demoram a cair entre as gestações de conceptos trissômicos (Bogart et al. 1989). Se realmente é assim, esperar-se-ia encontrar diferenças semelhantes entre os abortos segundo o tipo de cariótipo dos mesmos.

Os conceptos molares, no entanto, dado que apresentavam uma hiperplasia trofoblástica em maior ou menor grau, deveriam ter mantido seus níveis de HCG (elevados) por mais tempo, como, de fato, costuma ocorrer (Pircon et al., 1989). Na presente amostra, nem os casos de mola parcial nem os de mola verdadeira apresentaram elevação de HCG no soro materno, indicando, como assinalado por Campbell et al. (1970), que níveis normais ou mesmo baixos de HCG, na verdade, não afastam o diagnóstico de mola.

Em relação a AFP pode-se desenvolver raciocínio semelhante ao referido para o HCG. Assim, se realmente existe uma redução dos níveis de AFP associado a gestações de fetos aneuplóides, em particular as trissomias autossômicas, quando comparadas às gestações normais (Brambati et al. (1986), esperar-se-ia encontrar

a mesma relação na presente amostra. Em outras palavras, o declínio dos níveis de AFP causado pelo abortamento deveria preservar a mesma relação: gestações com conceptos com cariótipos normais apresentariam níveis de AFP mais elevados (normais) do que as gestações com conceptos aneuplóides. Se verdadeira essa suposição poder-se-ia sugerir que o abortamento provoca uma queda mais acentuada nos níveis de AFP em gestações normais.

A despeito de todas essas considerações sobre AFP no soro materno e aberração cromossômica no feto, ainda existem algumas poucas, porém interessantes, divergências na literatura, não havendo um consenso em relação a determinados fatos (Garver, 1989). Além da discordância sobre a associação ou falta de associação entre níveis baixos de AFP e outras aberrações cromossômicas que não a síndrome de Down (Davis et al., 1985; Zeitune et al., 1989; Seller, 1990), outros fatores como idade materna (Hook, 1988) e sexo fetal (Petrikovsky, 1989), foram referidos alterando a correlação existente entre os níveis de AFP no soro materno e aberração cromossômica no feto.

VI.) CONCLUSÕES

A análise dos resultados do presente trabalho permitiram as seguintes conclusões:

1.) Deixando de lado os casos de mola verdadeira (MH) observou-se que existe, de fato, uma associação entre o cariótipo e os achados histopatológicos, porém ela não é suficiente para inferir o diagnóstico cariotípico de um aborto;

2.) Com a metodologia utilizada não se detectou associações entre os níveis de AFP e HCG no soro materno e o tipo de cariótipo dos abortos. Ao contrário, os níveis séricos maternos dessas substâncias sofreram um queda drástica, indicando que o abortamento e, conseqüentemente, a retenção in utero do aborto provoca um rebaixamento de ambos, AFP e HCG nos níveis séricos maternos;

3.) Excetuando-se os casos de MH, o estudo cromossômico parece ser imprescindível para o diagnóstico etiológico de um aborto espontâneo.

VII.) RESUMO

O objetivo do presente trabalho foi o de realizar uma avaliação crítica e comparativa em relação às seguintes variáveis: cariótipo de abortos espontâneos (AE), histopatologia dos AE e níveis de α -fetoproteína (AFP) e gonadotropina coriônica humana (HCG) no soro materno, a fim de responder à pergunta: "O estudo histopatológico de um AE associado a dosagens de AFP e HCG no soro materno podem predizer o diagnóstico cariotípico do mesmo?".

Para atingir esse objetivo foram estudados, do ponto de vista cromossômico, 62 AE do primeiro e do segundo trimestre, dos quais em 56 foram realizados estudo histopatológico e, em 50 casos as dosagens de AFP e HCG no soro materno foram levadas a cabo. A fim de poder interpretar os valores detectados dessas últimas variáveis, utilizou-se como controle os níveis de AFP e HCG no soro de 48 mulheres apresentando gestações clinicamente normais.

A análise dos resultados mostrou que há uma associação entre as variáveis cariótipo e exame histopatológico ($p < 0,01$), sendo os valores preditivos positivo e negativo 71% e 86% respectivamente. A sensibilidade do exame histopatológico foi igual a 97% enquanto a especificidade foi muito baixa, 33%. Quanto às dosagens bioquímicas, não se observou qualquer associação entre o tipo de cariótipo do aborto e os níveis séricos maternos. Entre os valores de HCG da amostra de abortos, 82% se encontravam abaixo 0,5 MoM (múltiplos da mediana). Quanto aos valores de AFP detectados na amostra de abortos, 86% dos valores estavam abaixo de 0,5 MoM e, apenas 2 valores se encontravam elevados, acima de 2,0 MoM.

Esses resultados permitiram as seguintes conclusões:

1. Deixando de lado as molas verdadeiras (MH) observou-se que

existe, de fato, uma associação entre o cariótipo e os achados histopatológicos, porém ela não é suficiente para inferir o diagnóstico cariotípico de um aborto;

2. Com a metodologia utilizada não se detectaram associações entre os níveis de AFP e HCG no soro materno e o tipo de cariótipo dos abortos. Ao contrário, os níveis maternos dessas substâncias sofreram uma queda drástica, sugerindo que o abortamento e, conseqüentemente, a retenção in utero do aborto provoca um rebaixamento de AFP e HCG nos níveis séricos maternos;

3. Excetuando-se os casos de MH, o estudo cromossômico parece ser imprescindível para o diagnóstico etiológico de um aborto espontâneo.

VIII.) SUMMARY

A critical and comparative study is presented of the relationships between karyotype, histopathologic analysis and the levels of maternal serum α -fetoprotein (MSAFP) and human chorionic gonadotropin (MSHCG) in spontaneous abortuses (SA). The aim of this work was to establish whether the information histopathologic analysis, together with MSAFP and MSHCG levels can predict the karyotypic diagnosis of the SA.

To this end, 62 cases of first and second trimester SA were karyotyped. Histopathologic studies were made for 56 of these cases while the MSAFP and MSHCG levels were determined for 50 cases. In order to compare the MSAFP and MSHCG levels in SA to those of normal pregnancies the maternal serum of 48 normal pregnant women were also analyzed.

The results showed a very significant association between karyotype and histopathologic study ($p < 0.01$), the predictive positive and negative values being 71% and 86% respectively. Also the sensitivity of the histopathologic study was 97%. However a very low specificity, 33%, was found.

The MSAFP and MSHCG levels showed no association with karyotype of the abortuses. 82% of the MSHCG values and 86% of the MSAFP were less than 0,5 multiples of the median (MoM).

These results lead to the following conclusions:

1.) With the exception of the hydatidiform moles (HM) there is a good association between karyotype and the histopathologic findings, but it is not strong to predict a karyotypic diagnosis of an abortus.

2.) There is no association between MSAFP, MSHCG and the karyotype of the abortuses, at least with the used methodology. On the contrary, the maternal levels of these substances were very low,

suggesting that the abortion and, probably, the in utero retention reduce both MSAFP and MSHCG levels.

3.) The chromosome study seems to be essential to etiologic diagnosis of a SA, except, of course, in the HM cases.

IX.) DEFINIÇÕES

ABORTO ESPONTÂNEO -> produto da concepção (embrião ou feto e anexos) que é expulso, espontaneamente, do organismo materno antes da viabilidade, ou seja, antes da 20^a semana gestacional.

ABORTAMENTO ESPONTÂNEO -> morte e separação do embrião ou feto e seus anexos, ocorrendo espontaneamente e antes da viabilidade do conceito, ou seja, antes da 20^a semana.

ABORTAMENTO COMPLETO -> perda completa do produto da gestação antes de sua viabilidade.

ABORTAMENTO INCOMPLETO -> perda incompleta do produto da gestação, após a morte do mesmo, necessitando de esvaziamento uterino.

ABORTAMENTO HABITUAL -> história obstétrica mostrando três ou mais abortamentos espontâneos, consecutivos ou não.

IDADE GESTACIONAL (IG) -> corresponde a data de amenorréia, período compreendido entre o 1^o dia do último período menstrual e o dia atual, no presente trabalho, considerou-se esse último o dia do esvaziamento completo da cavidade uterina.

X.) REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Abe K, Kajii T & Niikawa N (1989). Disomic homozygosity in 21-trisomic cells: a mechanism responsible for transient myeloproliferative syndrome. *Hum Genet* 82:313-316.
- Abelev G (1968). Production of embryonal serum alpha-globulin by hepatoma. Review of experimental and clinical data. *Cancer Res* 28:133.
- Alberman EPE, Polani JAF, Roberts CC, Spicer M, Elliot M, Armstrong E & Dhadial RK (1972). Parental X-irradiation and chromosome constitution in their spontaneously aborted fetuses. *Ann Hum Genet* 36:185-194.
- Alberman E, Elliott M, Creasy M & Dhadial R (1975). Previous reproductive history in mothers presenting with spontaneous abortions. *Br J Obstet Gynaecol* 82:366-373.
- Almeida JCC (1983). Epidemiologia de las anomalias cromossomicas humanas. Documento final da XV Reunião anual do Estudo Colaborativo Latinoamericano de Malformações Congênitas (ECLAMC). Chapadmalal, Mar del Plata, Argentina. pp. 11-23.
- Altemani AM & Cavalcanti DP (1990). Partial mole with hemorrhagic endovasculitis associated with viable diploid conceptus. (enviado para publicação no *Int J Gynecol Pathol*).
- Arab H, Siegel-Bartelt J, Wong PY & Doran T (1988). Maternal serum beta human chorionic gonadotropin (MSHCG) combined with maternal serum alpha-fetoprotein (MSAFP) appears superior for prenatal screening for Down syndrome (DS) than either test alone. *Am J Hum Genet* 43:A225.
- Arakaki DT & Waxman SH (1970). Chromosome abnormalities in early spontaneous abortions. *J Med Genet* 7:118-124.
- Babinet C, Barra J & Renard JP (1989). Le marquage et l'expression différentiels des génomes paternel et maternel. *Medecine/Sciences* 5:8-15.

- Barkai G, Shaki R, Pariente C & Goldman B (1987). First trimester alpha-fetoprotein levels in normal and chromosomally abnormal pregnancies. *Lancet* 2:389.
- Barra J & Renard JP (1988). Diploid mouse embryos constructed at the late 2-cell stage from haploid parthenotes and androgenotes can develop to term. *Development* 102:773-779.
- Beiguelman B (1988). *Curso Pratico de Bioestatística*. Sociedade Brasileira de Genética, Ribeirão Preto, SP, Brasil.
- Bennett MJ, Grudzinskas JG, Gordon YB & Turnbull AC (1978). Circulating levels of alpha-fetoprotein and pregnancy specific β_1 glycoprotein in pregnancies without an embryo. *Br J Obstet Gynaecol* 85:348-350.
- Berkeley AS, Killackey MA, Cederqvist LL (1983). Elevated maternal serum alpha-fetoprotein levels associated with breakdown in fetal-maternal placental barrier. *Am J Obstet Gynecol* 146:859-861.
- Berry CL (1980). The examination of embryonic and fetal material in diagnostic histopathology laboratories. *J Clin Pathol* 33:317-326.
- Blakemore KJ, Samuelson J, Ereg WR & Mahoney MJ (1985). Maternal metaphases on direct chromosome preparation of first trimester decidua. *Hum Genet* 69:380.
- Bogart MH, Pandian MR & Jones OW (1987). Abnormal maternal serum chorionic gonadotropin levels in pregnancies with fetal chromosome abnormalities. *Prenat Diagn* 7:623-630.
- Bogart MH, Golbus M, Sorg ND & Jones OW (1989). Human chorionic gonadotropin levels in pregnancies with aneuploid fetuses. *Prenat Diagn* 9:379-384.
- Boué JG, Boué A & Lazar P (1967). Les aberrations chromosomiques dans les avortements. *Ann Genet* 10:179-187.
- Boué JG, Cohen J, Henry-Suchet J, Merger R & Vincent C (1968). Étude clinique et biologique de 16 cas d'avortements spontanés par aberration chromosomique. *La Presse Medicale* 28:1717-1720.
- Boué JG, Philippe E & Boué A (1969). Durée de la gestation et durée du développement du zygote dans les avortements humains

- Braunstein GD, Razor J, Adler D, Danzer H & Wade M (1976). Serum human chorionic gonadotropin levels throughout normal pregnancy. *Am J Obstet Gynecol* 126:678-681.
- Brock DJH & Sutcliffe RG (1972). Alpha-fetoprotein in the antenatal diagnosis of anencephaly and spina bifida. *Lancet* 2:197-199.
- Brody S, Carlstrom G (1965). Human chorionic gonadotrophin in abnormal pregnancy. Serum and urinary findings using various immunoassay techniques. *Acta Obstet Gynecol Scand* 44:32-44.
- Bryan EM & Kohler HG (1974). The missing umbilical artery. I Prospective study based on a maternity unit. *Arch Dis Child* 49:844-852.
- Byrne J & Blanc WA (1985). Malformations and chromosome anomalies in spontaneously aborted fetuses with single umbilical artery. *Am J Obstet Gynecol* 151:340-342.
- Byrne J, Warburton D, Kline J, Blanc W & Stein Z (1985). Morphology of early fetal deaths and their chromosomal characteristics. *Teratology* 32:297-315.
- Campbell DG, Brown JB, Fortune DW et al. (1970). Excretion of oestrogens, pregnanediol and chorionic gonadotrophin in patients with hydatidiform mole. *J Obstet Gynaecol Br Comm* 77:410-419.
- Canick JA, Knight GJ, Palomaki GE, Haddow JE, Cuckle HS & Wald NJ (1988). Low second trimester maternal serum unconjugated oestriol in pregnancies with Down's syndrome. *Br J Obstet Gynaecol* 95:330-333.
- Canki N, Warburton D & Byrne J (1988). Morphological characteristics of monosomy X in spontaneous abortions. *Ann Genet* 31:4-13.
- Carr DH (1963). Chromosome studies in abortuses and stillborn infants. *Lancet* 2:603-606.
- Carr DH (1970). Chromosome studies in selected spontaneous abortions: 1. Conception after oral contraceptives. *Can Med Assoc J* 103:343-348.
- Carr DH (1971). Chromosome studies in selected spontaneous abortions polyploidy in man. *J Med Genet* 8:164-174.

- Caspersson T, Zech L, Johansson C, Modest RJ (1970). Identification of human chromosomes by DNA-binding fluorescent agents. *Chromosoma* 30:215-228.
- Cattanach BM (1986). Parental origin effects in mice. *J Embriol Exp Morphol* 97 (Suppl):137-150.
- Cavalcanti DP (1986). Estudo cromossômico em abortos espontâneos. Tese de mestrado. Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, USP.
- Cavalcanti DP, Ferrari I, Pinto Jr W (1988). Chromosome analysis of 52 spontaneous abortuses in Brazil. *Rev Brasil Genet* 11:149-154.
- Cavenee WK, Dryja TP, Phillips RA, Benedict WF, Godbout R, Gallie BL, Murphree AL et al. (1983). Expression of recessive alleles by chromosomal mechanisms in retinoblastoma. *Nature* 305:779-784.
- Chervenak FA, Isaacson G, Blakemore KJ, Breg WR, Hobbins JC, Berkowitz RL, Tortora M, Mayden K & Mahoney MJ (1983). Fetal cystic hygroma. Cause and natural history. *N England J Med* 309:822-825.
- Cheung SW, Crane JP, Beaver HA & Burgess AC (1987). Chromosome mosaicism and maternal cell contamination in chorionic villi. *Prenat Diagn* 7:535-542.
- Clendenin TM & Benirschke K (1963). Chromosome studies on spontaneous abortions. *Lab Invest* 12:1281-1292.
- Cooke HMG, Penketh RJA & Delhanty JDA (1986). An evaluation of maternal cell contamination in cultures of chorionic villi for the prenatal diagnosis of chromosome abnormalities. *Clin Genet* 30:485-493.
- Correa P, Diadhiou F, Diop PM, Chignara PA & Cherbonnel GM (1974). Aspects cliniques des tumeurs trophoblastiques à Dakar. *Bull Soc Med Afr Noire* 19:315-332.
- Crandall BF (1978). Neural tube defects. Maternal serum screening and prenatal diagnosis. *Pediatr Clin North America* 25:619-629.
- Creasy MR, Crolla JA & Alberman ED (1976). A cytogenetic study of human spontaneous abortions using banding techniques. *Hum*

Genet 31: 177-196.

- Cruikshank SH & Granados JL (1988). Increased amniotic acetylcholinesterase activity with a fetus papyraceus and aplasia cutis congenita. *Obstet Gynecol* 71:997-999.
- Cuckle HS, Wald NJ & Lindenbaum RH (1984). Maternal serum alpha-fetoprotein measurement: A screening test for Down syndrome. *Lancet* 1:926-929.
- Cuckle HS, Wald NJ & Lindenbaum RH (1986). Cord serum alpha-fetoprotein and Down's syndrome. *Br J Obstet Gynaecol* 93:408-410.
- Cuckle HS, Wald NJ, Barkai G, Fuhrmann W, Altland K, Brambati B, Knight G, Palomaki G, Haddow JE & Canick J (1988). First-trimester screening for Down syndrome. *Lancet* 2:851-852.
- Couillin P, Boué A, Boué J, Ravisé N, Feingold N & Hors J (1977). HLA markers in parents of triploid conceptuses. *Pathol Biol (Paris)* 25:647-650.
- Couillin P, Hors J, Boué J & Boué A (1978). Identification of the origin of triploidy by HLA markers. *Hum Genet* 41:35-44.
- Couillin P, Afoutou JM, Faye O, Ravisé N, Correa P & Boué A (1985). Androgenetic origin of African complete hydatidiform moles demonstrated by HLA markers. *Hum Genet* 71:113-116.
- Couillin P, Ravisé N, Afoutou JM, Chaïbi R, Azoulay M, Hors J, Oury JF, Boué J & Boué A (1987). HLA et grossesses molaires (triploïdies, mûles hydatiformes, choriocarcinome). *Etude étiologique et épidémiologique*. *Ann Genet* 30:197-208.
- Davis JR (1986). Cytogenetic and clinical features of placental moles: synopsis and update. *Cancer Genet Cytogenet* 19:123-127.
- Davis RO, Cosper P, Huddleston JF, Bradley EL, Finley SC, Finley W & Milunsky A (1985). Decreased levels of amniotic fluid α -fetoprotein associated with Down syndrome. *Am J Obstet Gynecol* 153:541-544.
- Dhadiyal RK, Machin AM & Tait SM (1970). Chromosomal anomalies in spontaneously aborted human fetuses. *Lancet* 1:20-21.
- Delhanty JDA, Ellis JR & Rowley PT (1961). Triploid cells in a

- human embryo. *Lancet* 1:1286.
- Doran TA, Cadesky K, Wong PY, Mastrogiacomo DC & Capello T (1986) Maternal serum α -fetoprotein and fetal autosomal trisomies. *Am J Obstet Gynecol* 154:277-281.
- Drugan A, Dvorin E, Koppitch FC, Greb A, Krivchenia EL & Evans MI (1989). Counseling for low maternal serum alpha-fetoprotein should emphasize all chromosome anomalies, not just Down syndrome. *Obstet Gynecol* 73:271-274.
- Dudley RA, Edwards P, Ekins RP et al. (1985). Guidelines for immunoassay data processing. *Clin Chem* 31:1264-1271.
- Edmonds DK, Lindsay KS, Miller JF, Williamson E & Wood PJ (1982). Early embryonic mortality in women. *Fertil Steril* 38:447-453.
- Edwards YH, Jeremiah SJ, McMillan SL & Povey S (1984). Complete hydatidiform moles combine maternal mitochondria with a paternal nuclear genome. *Ann Hum Genet* 48:119-127.
- Elejalde BR, Elejalde MM & Leno J (1985). Nuchal cysts syndromes: etiology, pathogenesis, and prenatal diagnosis. *Am J Med Genet* 21:417-432.
- Engel E (1980). A new genetic concept: uniparental disomy and its potential effect, isodisomy. *Am J Med Genet* 6:137-143.
- Feinberg RF, Lockwood CJ, Salafia C & Hobbins JC (1988). Sonographic diagnosis of a pregnancy with a diffuse hydatidiform mole and coexistent 46,XX fetus: a case report. *Obstet Gynecol* 72:485-488.
- Fellous M & Dausset J (1970). Probable haploid expression of HLA antigen on human spermatozoa. *Nature* 225:191.
- Ferrazzi E, Brambati B, Lanzani A, Oldrini A (1985). New sonographic criteria in monitoring the first trimester of pregnancy. In Fraccaro M, Simoni G, Brambati B (eds) *First trimester fetal diagnosis*. Springer-Verlag, Berlin. pp.92-98.
- Ferrazzi E, Brambati B, Lanzani A, Oldrini A, Stripparo L, Gueneri S & Makowski EL (1988). The yolk sac in early pregnancy failure. *Am J Obstet Gynecol* 158:137-142.
- Fisher RA, Sheppard DM & Lawler SD (1982). Twin pregnancy with complete hydatidiform mole (46,XX) and fetus (46,XY): genetic origin proved by analysis of chromosome polymorphisms. *Br Med*

- J 284:1218-1220.
- Fox H (1989). Hydatidiform moles. *Virchows Arch A Pathol Anat* 415:387-389.
- Fraccaro M, Lindsten J, Ford CE, Iselius L et al. (1980). The 11q;22q translocation: A European collaborative analysis of 43 cases. *Hum Genet* 56:21-51.
- Fryns JP, Vandenberghe F, Moerman F, Kleczkowska A & Van den Berghe H (1987). Tetraploidy with hydrops fetalis, cystic nuchal hygroma and 90,XX karyotype. *Clin Genet* 31:158-160.
- Fujikura T, Froehlich & Driscoll SG (1966). A simplified anatomic classification of abortions. *Am J Obstet Gynecol* 95:902-905.
- Gaber LW, Redline RW, Mostoufi-Zadeh M & Driscoll SG (1986). Invasive partial mole. *Am J Clin Pathol* 85:722-724.
- Garver KL (1989). Update on MSAFP policy statement from the American Society of Human Genetics. *Am J Hum Genet* 45:332-334.
- Geisler M & Kleinebrecht J (1978). Cytogenetic and histologic analyses of spontaneous abortions. *Hum Genet* 45:239-251.
- Gelabert A, Balasch J, Ercillih G, Vanrell A, Vives J, Gonzalez-Merlo J & Castillo R (1981). Abortion may sensitize the mother to HLA antigens. *Tissue Ant* 17:353-356.
- Gilgenkrantz S, Morali A, Vidailhet M, Saura R, Serville F, Fontan D & Moraine C (1984). Le syndrome r(14). Trois nouvelles observations. *Ann Genet* 27:73-78.
- Golbus MS (1981). The influence of strain, maternal age, and method of maturation on mouse oocyte aneuploidy. *Cytogenet Cell Genet* 31:84-90.
- Golden WL, Schneider BF, Gustashaw KM & Jassani MN (1989). Prenatal diagnosis of Turner syndrome using cells cultured from cystic hygromas in two pregnancies with normal maternal serum alpha-fetoprotein. *Prenat Diagn* 9:683-689.
- Gropp A (1982). Value of an animal model for trisomy. *Virchows Arch Pathol Anat* 395:117-131.
- Guttenbach M & Schmid M (1990). Determination of Y chromosome aneuploidy in human sperm nuclei by nonradioactive in situ hybridization. *Am J Hum Genet* 46:553-558.

- Habedank M & Faust J (1978). Trisomy 9p and unusual translocation mongolism in siblings due to different 3:1 segregations of maternal translocation rcp(9;21)(p11;q11). *Hum Genet* 42:251-256.
- Haddow JE, Hill LE, Palomaki GE & Knight GJ (1987). Very low versus undetectable maternal serum alpha-fetoprotein values and fetal death. *Prenat Diagn* 7:401-406.
- Hall JG (1990). Unilateral disomy as a possible explanation for Russell-Silver syndrome (letter). *J Med Genet* 27:141-142.
- Hassold TJ, Matsuyama A, Newlands IM, Matsuura JS, Jacobs PA, Manuel B & Tsuei J (1978). A cytogenetic study of spontaneous abortions in Hawaii. *Ann Hum Genet* 41:443-454.
- Hassold T & Matsuyama A (1979). Origin of trisomies in human spontaneous abortions. *Hum Genet* 46:285-294.
- Hassold T, Chen N, Funkhouser J, Jooss T, Manuel B, Matsuura J, Matsuyama A, Wilson C, Yamane JA & Jacobs PA (1980). A cytogenetic study of 1000 spontaneous abortions. *Ann Hum Genet* 44:151-178.
- Hassold TJ (1980). A cytogenetic study of repeated spontaneous abortions. *Am J Hum Genet* 32:723-730.
- Hassold T (1982). Mosaic trisomies in human spontaneous abortions. *Hum Genet* 61:31-35.
- Hassold T, Quillen SD & Yamane JA (1983). Sex ratio in spontaneous abortions. *Ann Hum Genet* 47:39-47.
- Hassold T, Chiu D & Yamane JA (1984). Parental origin of autosomal trisomies. *Ann Hum Genet* 48:129-144.
- Hassold TJ & Jacobs P (1984). Trisomy in man. *Ann Rev Genet* 18:69-97.
- Hassold T, Kumlin E, Takaesu N & Leppert M (1985). Determination of the parental origin of sex-chromosome monosomy using restriction fragment length polymorphisms. *Am J Hum Genet* 37:965-972.
- Hassold TJ (1986). Chromosome abnormalities in human reproductive wastage. *Trends Genet* 2:105-110.
- Hassold T, Benham F & Leppert M (1988). Cytogenetic and molecular analysis of sex-chromosome monosomy. *Am J Hum Genet*

- 42:534-541.
- Hay DL (1988). Placental histology and the production of human choriongonadotrophin and its subunits in pregnancy. *Br J Obstet Gynaecol* 95:1268-1275.
- Hemming JD, Quirke P, Womack C, Wells M, Elston CW & Bird CC (1987). Diagnosis of molar pregnancy and persistent trophoblastic disease by flow cytometry. *J Clin Pathol* 40:615-620.
- Hershey DW, Crandall BF & Perdue S (1986). Combining maternal age and serum α -fetoprotein to predict the risk of Down syndrome. *Obstet Gynecol* 68:177-180.
- Hertig AT & Sheldon WH (1943). Minimal criteria required to prove prima facie case of traumatic abortion or miscarriage. *Ann Surg* 117:596-606.
- Hertig AT & Rock J (1944). On the development of the early human ovum, with special reference to the trophoblast of the previllous stage: a description of 7 normal and 5 pathologic human ova. *Am J Obstet Gynecol* 47:149-184.
- Hertig AT & Rock J (1949). A series of potentially abortive ova recovered from fertile women prior to the first missed menstrual period. *Am J Obstet Gynecol* 58:968-993.
- Hertig AT, Rock J & Adams EC (1956). A description of 34 human ova within the first 17 days of development. *Am J Anat* 98:435-459.
- Hertig AT, Rock J, Adams EC & Menkin MC (1959). Thirty-four fertilized human ova, good, bad and indifferent, recovered from 210 women of known fertility. *Pediatr* 23:202-211.
- Hertz JM, Jensen PKA & Therkelsen AJ (1987). Convoluted cells as amarker for maternal cell contamination in CVS cultures. *Clin Genet* 31:410-412.
- Honoré LH, Dill FJ & Poland BJ (1976). Placental morphology in spontaneous human abortuses with normal and abnormal karyotypes. *Teratology* 14:151-166.
- Hook EB (1988). Variability in predicted rates of Down syndrome associated with elevated maternal serum alpha-fetoprotein levels in older women. *Am J Hum Genet* 43:160-164.

- Hook EB (1988). Current difficulties in use of maternal serum alpha-fetoprotein levels in counseling mid-trimester older pregnant women regarding risk of a Down syndrome fetus. *Am J Med Genet* 31:247-250.
- Hook EB (1989). Screening for Down syndrome: reply to Wald et al. *Am J Hum Genet* 44:587-590.
- Iffy L, Shepard TH, Jakobovits A, Lemire RJ & Kerner P (1967). The rate of growth in young human embryos of Streeter's horizons XIII to XXIII. *Acta Anat* 66:178-186.
- Iselius L, Lindsten J, Aurias A, Fraccaro M et al. (1983). The 11q;22q translocation: A collaborative study of 20 new cases and analysis of 110 families. *Hum Genet* 64:343-355.
- Jacobs PA (1977). Epidemiology of chromosome abnormalities in man. *Am J Epidemiol* 105:180-191.
- Jacobs PA & Morton NE (1977). Origin of human trisomics and polyploids. *Hum Hered* 27:59-72.
- Jacobs PA, Angell RR, Buchanan IM, Hassold TJ, Matsuyama AM & Manuel B (1978). The origin of human triploids. *Ann Hum Genet* 42:49-57.
- Jacobs PA, Wilson C, Sprenklet JA, Rosenshein NB & Migeon B (1980). Mechanism of origin of complete hydatidiform moles. *Nature* 286:714-716.
- Jacobs PA (1981). Mutation rates of structural chromosome rearrangements in man. *Am J Hum Genet* 33:44-54.
- Jacobs PA, Szulman AE, Funkhouser J, Matsuura JS & Wilson CC (1982). Human triploidy: relationship between parental origin of the additional haploid complement and development of partial hydatidiform mole. *Ann Hum Genet* 46:223-231.
- Jacobs PA (1986). Chromosome abnormalities: comparative epidemiology in abortions and livebirths. Abstracts of the 7th International Congress of Human Genetics (Berlin).
- Jones SR, Evans SE, Bowser-Riley SM, Holten MA, Leedham P & McMahon G (1986). Amniotic fluid alpha-fetoprotein levels and trisomy 21. *Lancet* 1:1507-1508.
- Jones SR, Evans SE & Gillan L (1988) Amniotic fluid alpha-fetoprotein subfractions in fetal trisomy 21 affected

- pregnancies. *Br J Obstet Gynaecol* 95:327-329.
- Kajii T, Ohama K, Niikawa N, Ferrier A & Avirachan S (1973). Banding analysis of abnormal karyotypes in spontaneous abortion. *Am J Hum Genet* 25:539-547.
- Kajii T, Meylan J & Mikamo K (1974). Chromosome anomalies in three successive abortuses due to paternal translocation, t(13q-18q+). *Cytogenet Cell Genet* 13:426-436.
- Kajii T & Niikawa N (1977). Origin of triploidy and tetraploidy in man: 11 cases with chromosome markers. *Cytogenet Cell Genet* 18:109-125.
- Kajii T & Ohama K (1977). Androgenetic origin of hydatidiform mole. *Nature* 268:633-634.
- Kajii T & Ferrier A (1978). Cytogenetics of aborters and abortuses. *Am J Obstet Gynecol* 131:33-38.
- Kajii T & Ohama K (1979). Inverse maternal age effect in monosomy X. *Hum Genet* 51:147-151.
- Kajii T, Ferrier A, Niikawa N, Takahara H, Ohama K & Avirachan S (1980). Anatomic and chromosomal anomalies in 639 spontaneous abortuses. *Hum Genet* 55:87-98.
- Kajii T, Kurashige H, Ohama K & Uchino F (1984). XY and XX complete moles: Clinical and morphologic correlations. *Am J Obstet Gynecol* 150:57-64.
- Kalousek DK & Dill FJ (1983). Chromosomal mosaicism confined to the placenta in human conceptions. *Science* 221:665-667.
- Kalousek DK, Barrett IJ & McGillivray BC (1989). Placental mosaicism and intrauterine survival of trisomies 13 and 18. *Am J Hum Genet* 44:338-343.
- Kuleshov NP (1976). Chromosome anomalies of infants dying during the perinatal period and premature newborn. *Hum Genet* 31:151-160.
- Kuliev AM (1971). Cytogenetic investigation of spontaneous abortions. *Humangenetik* 12:275-283.
- Lauritsen JG (1976). Aetiology of spontaneous abortion. A cytogenetic and epidemiological study of 288 abortuses and their parents. *Acta Obstet Gynecol Scand (Suppl)* 52:1-29.
- Lauritsen JG & Friedrich U (1976). Origin of the extra chromosome

- in trisomy 16. *Clin Genet* 10:156-160.
- Lauritsen JG, Bolund L, Friedrich U & Therkelsen AJ (1979) Origin of triploidy in spontaneous abortuses. *Ann Hum Genet* 43:1-5.
- Lawler SD, Pickthall VJ, Fisher RA, Povey S, Evans MW & Szulman AE (1979). Genetic studies of complete and partial hydatidiform moles. *Lancet* 2:580.
- Lawler SD, Povey S, Fisher RA & Pickthall VJ (1982). Genetic studies on hydatidiform moles. II. The origin of complete moles. *Ann Hum Genet* 46:309-222.
- Leek AE, Kitau MJ & Chard T (1974). Origin of alpha-fetoprotein. *Lancet* 2:1088.
- Lindenbaum RH, Rynnänen M, Holmes-Siedle M, Puhakainen E, Jonasson J & Keenan J (1987). Trisomy 18 and maternal serum and amniotic fluid alpha-fetoprotein. *Prenat Diagn* 7:511-519.
- Lockwood DH, Farrier A, Hecht F & Allanson J (1989). Not all chromosome imbalance resulting from the 11q;22q translocation is due to 3:1 segregation in first meiosis. *Hum Genet* 83:287-288.
- Looi LM & Sivanesaratnam V (1981). Malignant evolution with fatal outcome in a patient with partial hydatidiform mole. *Aust NZJ Obstet Gynaecol* 21:51-52.
- Machin GA & Crolla JA (1974). Chromosome constitution of 500 infants dying during the perinatal period. *Humangenetik* 23:183-198.
- Martin RH, Balkan W, Burns K, Rademaker AW & Rudd NL (1983). The chromosome constitution of 1000 human spermatozoa. *Hum Genet* 63:305-309.
- Marx JL (1988). A parent's sex may affect gene expression. *Science* 239:352-353.
- McConnell HD & Carr DH (1975). Recent advances in the cytogenetic study of human spontaneous abortions. *Obstet Gynecol* 45:547-552.
- Merkatz IR, Nitowsky HM, Macri JN & Johnson WE (1984). An association between low maternal serum α -fetoprotein and fetal chromosomal abnormalities. *Am J Obstet Gynecol* 148:886-894.

- Meulenbroek GHM & Geraedts JPM (1982). Parental origin of chromosome abnormalities in spontaneous abortions. *Hum Genet* 62:129-133.
- Meyer WW & Lind J (1974). Iliac arteries in children with a single umbilical artery. *Arch Dis Child* 49:671-679.
- Mikamo K (1970). Anatomic and chromosomal anomalies in spontaneous abortion. *Am J Obstet Gynecol* 106:243-254.
- Miller JR & Poland BJ (1970). The value of human abortuses in the surveillance of development anomalies. *Can Med Assoc J* 103:501-502.
- Minguillon C, Eiben B, Bähr-Porsch S, Vogel M & Hansmann I (1989). The predictive value of chorionic villus histology for identifying chromosomally normal and abnormal spontaneous abortions. *Hum Genet* 82:373-376.
- Moore KL (1983). Before we are born. Basic embryology and birth defects. (2nd edition). WB Saunders Company. Philadelphia. pp. 282.
- Moorehead PS, Nowell PC, Mellman WJ, Battips DM & Hungerford DA (1960). Chromosome preparations of leukocytes cultured from human peripheral blood. *Exp Cell Res* 20:613-616.
- Morton NE, Chiu D, Holland C, Jacobs PA & Pettay D (1987). Chromosome anomalies as predictors of recurrence risk for spontaneous abortion. *Am J Med Genet* 28:353-360.
- Mostoufi-Zadeh M, Berkowitz RS & Driscoll SG (1987). Persistence of partial mole. *Am J Clin Pathol* 87:377-380.
- Muller F (1989). Analyses biochimiques sur des prélèvements fœtaux. In Boué A (ed) *Médecine prénatale - Biologie clinique du fœtus*. Médecine-Sciences Flammarion, Paris. pp. 57-67.
- Muller F & Boué A (1990). A single chorionic gonadotropin assay for maternal serum screening for Down's syndrome (no prelo).
- Niazi M & Loeffler FE (1981). Trophoblast sampling in early pregnancy culture of rapidly dividing cells from immature placental villi. *Br J Obstet Gynaecol* 88:1081-1085.
- Niikawa N, Merotto E & Kajii T (1977). Origin of acrocentric trisomies in spontaneous abortuses. *Hum Genet* 40:73-78.
- Nørgaard-Pedersen B, Bagger P, Bang J, Fischer-Rasmussen W, Gad C,

- Hasch E, Helkajær PE, Jacobsen JC, Kjeldsen J, Kjærsgaard E, Petersen PL, Philip J, Thisted J & Toftager-Larsen K (1985). Maternal-serum-alpha-fetoprotein screening for fetal malformations in 28062 pregnancies. *Acta Obstet Gynecol Scand* 64:511-514.
- Novak R, Agamanolis D, Dasu S, Igel H, Platt M, Robinson H & Shehata B (1988). Histologic analysis of placental tissue in first trimester abortions. *Pediatr Pathol* 8:477-482.
- Oberweis D, Gillerot Y, Koulischer K, Hustin J, Philippe EM (1983). Le placenta des trisomies dans le dernier trimestre de la gestation. *J Gynecol Obstet Biol Repr* 12:345-349.
- O'Brien WF, Knuppel RA, Kousseff B, Sternlicht D & Nichols P (1988). Elevated maternal serum alpha-fetoprotein in triploidy. *Obstet Gynecol* 71:994-995.
- Ohama K, Ueda K, Okamoto E, Takenaka M & Fujiwara A (1986). Cytogenetic and clinicopathologic studies of partial moles. *Obstet Gynecol* 68:259-262.
- Olson S, Buckmaster J, Bissonnette J & Magenis E (1986). Comparison of maternal and fetal chromosome heteromorphisms to monitor maternal cell contamination in chorionic villus samples. *Prenat Diagn* 7:413-417.
- Ornoy A, Salamon-Arnon J, Ben-Zur Z & Kohn G (1981). Placental findings in spontaneous abortions and stillbirths. *Teratology* 24:243-252.
- Pandian MR, Mitra R & Bahl OP (1980). Immunological properties of the the β -subunit of human chorionic gonadotropin (hCG). II. Properties of a hCG-specific antibody prepared against a chemical analog of the β -subunit. *Endocrinology* 107:1564-1571.
- Penrose LS (1961). Parental age and non-disjunction. In Davidson WM & Smith DR (eds) *Human chromosomal abnormalities*. Staples Press, London. pp 116-122.
- Penrose LS & Delhanty JDA (1961). Triploid cell cultures from a macerated foetus. *Lancet* 1:1261.
- Perkes EA, Baim RS, Goodman KJ & Macri JN (1982). Second-trimester placental changes associated with elevated maternal serum

- α -fetoprotein. *Am J Obstet Gynecol* 144:935-938.
- Petrikovsky B (1989). Maternal serum alpha fetoprotein concentration and fetal sex. *Prenat Diagn* 9:450-451.
- Philippe A & Boué JG (1969). Le placenta des aberrations chromosomiques létales. *Ann Anat Pathol (Paris)* 14:249-266.
- Philippe E & Boué JG (1970). Placenta et aberrations chromosomiques au cours des avortements spontanés. *La Presse Medicale* 78:641-646.
- Philippe E, Boué J & Boué A (1980). Les maladies trophoblastiques gestationnelles. *Ann Anat Pathol (Paris)* 25:13-38.
- Philippe E (ed)(1986). *Pathologie fœto-placentaire*. Masson, Paris.
- Pinto Jr. W, Cavalcanti DP, Magna LA, Pinto CF, Miguel CD, Veenstra CD, Enriques GA, Rocha RR, Pavani MAM, Pellegrinetti B, Simões SL & Frantz N (1989). Diagnóstico pré-natal por punção da vilosidade coriônica. *Rev Bras Pat Clin* 25:2-6.
- Pircon RA, Towers CV, Porto M, Gocke SE & Garite TJ (1989). Maternal serum alpha-fetoprotein and fetal triploidy. *Prenat Diagn* 9:701-701.
- Plachot M, de Grouchy J, Junca AM, Mandelbaum J, Turleau C, Couillin P, Cohen J & Salat-Baroux J (1987). From oocyte to embryo: a model, deduced from in vitro fertilization, for natural selection against chromosome abnormalities. *Ann Genet* 30:22-32.
- Procter SE, Watt JL & Gray ES (1984). Cytogenetic analysis in 100 spontaneous abortions in North-East Scotland. *Clin Genet* 29:101-103.
- Procter SE, Gray ES & Watt JL (1984). Triploidy, partial mole and dispermy. An investigation of 12 cases. *Clin Genet* 26:46-51.
- Race RR & Sanger R (eds)(1975). *Xg and sex-chromosome aneuploidy In Blood groups in man*. (6th edition) Blackwell Scientific Publications, Oxford. pp. 619-635.
- Raoul O, Razave F, Lescs MC & Bouhanna A (1984). Chromosome 14 en anneau. I. Une observation de r(14) homogène. *Ann Genet* 27:88-90.
- Rehder H, Coerdt W, Eggert R, Klink F & Schwinger E (1989). Is there a correlation between morphological and cytogenetic

- findings in placental tissue from early missed abortions? *Hum Genet* 82:377-385.
- Resta RG, Luthy DA & Mahony BS (1988). Umbilical cord hemangioma associated with extremely high alpha-fetoprotein levels. *Obstet Gynecol* 72:488-491.
- Rethoré MO, Caille B, Barochez YH, Blois MC, Ravel A & Lejeune J (1984). Chromosome 14 en anneau. II. Une observation de r(14) en mosaïque. Le phénotype r(14). *Ann Genet* 27:91-95.
- Ribeiro MC & Melaragno MI (1987). A modified R-banding technique. *Rev Brasil Genet* 10:777-780.
- Richart R & Benirschke K (1958). Gonadal dysgenesis in a newborn infant. *N England J Med* 258:974-978.
- Roberts CJ & Lowe CR (1975). Where have all the conceptions gone? *Lancet* 1:498-499.
- Roscoe JT (ed) (1975). *Fundamental research statistics for the behavioral sciences* (2nd edition). HoH, Rinehart and Winston, Inc., New York.
- Sackett DL, Haynes RB & Tugwell P (1985). *Clinical epidemiology. A basic science for clinical medicine*. Little, brown and company, Boston.
- Sanchez O, Escobar JI, Yunis JJ (1973). A simple G-banding technique. *Lancet* 2:269.
- Schinzel A (ed) (1984). *Catalogue of unbalanced chromosome aberrations in man*. Walter de Gruyter, Berlin.
- Schwanitz G, Zerres K, Gembruch U, Bald R & Hansmann M (1989). Rate of chromosomal aberrations in prenatally detected hydrops fetalis and hygroma colli. *Hum Genet* 84:81-82.
- Sèle B (1989). Anomalies chromosomiques dans les gametes humains. Resumes de la 28ème Réunion de la Société Française pour l'Etude de la Fertilité. Paris, França.
- Seller MJ (1990). Alpha-fetoprotein in midtrimester Down's syndrome fetal serum. *J Med Genet* 27:240-243.
- Seppala M & Ruoslahti E (1972). Radioimmunoassay of maternal serum alpha fetoprotein during pregnancy and delivery. *Obstetrics* 112:208-212.
- Sheppard DM, Fisher RA, Lawler SD & Povey S (1982). Tetraploid

- conceptus with three paternal contributions. *Hum Genet* 62:371-374.
- Singh RP & Carr DH (1966). The anatomy and histology of XO human embryos and fetuses. *Anat Rec* 155:369-384.
- Singh RP & Carr DH (1967). Anatomic findings in human abortions of known chromosomal constitution. *Obstet Gynecol* 29:806-818.
- Spence JE, Perciaccante RG, Greig GM, Willard HF, Ledbetter DH, Hejtmancik JF, Pollack MS, O'Brien WE & Beaudet AL (1988). Uniparental disomy as a mechanism for human genetic disease. *Am J Hum Genet* 42:217-226.
- Stenchever MA, Hempel JM & Macintyre MN (1967). Cytogenetics of spontaneously aborted human fetuses. *Obstet Gynecol* 30:683-691.
- Strauss F, Benirschke K & Driscoll S (eds)(1967). *Placenta*. Springer-Verlag, Berlin.
- Sutherland GR, Carter RF, Bauld R, Smith II & Bain AD (1978). Chromosome studies at the paediatric necropsy. *Ann Hum Genet* 42:173-181.
- Stuart MC, Underwood PA, Harman DF, Payne KL, Rathjen DA, Razziudin S, Von Sturmer SR & Vines K (1983). The production of monoclonal antibodies to human chorionic gonadotrophin and its subunits. *J Endocr* 98:323-330.
- Sumner AT (1972). A simple technique for demonstrating centromeric heterochromatin. *Exp Cell Res* 75:304-306.
- Surani MAH, Barton SC & Norris ML (1984). Development of reconstituted mouse eggs suggests imprinting of the genome during gametogenesis. *Nature* 308:548-550.
- Surani MAH, Barton SC & Norris ML (1986). Nuclear transplantation in the mouse: heritable differences between parental genomes after activation of the embryonic genome. *Cell* 45:127-136.
- Surti U, Szulman AE & O'Brien S (1979). Complete (classic) hydatidiform mole with 46,XY karyotype of paternal origin. *Hum Genet* 51:153-155.
- Surti U, Szulman AE, Wagner K, Leppert M & O'Brien SJ (1986). Tetraploid partial hydatidiform moles: two cases with a triple paternal contribution and a 92,XXXXY karyotype. *Hum Genet*

72:15-21.

- Szulman AE (1965). Chromosomal aberrations in spontaneous human abortions. *N England J Med* 272:811-818.
- Szulman AE & Surti U (1978a). The syndromes of hydatidiform mole. I. Cytogenetic and morphologic correlations. *Am J Obstet Gynecol* 131:665-671.
- Szulman AE & Surti U (1978b). The syndromes of hydatidiform mole. II. Morphologic evolution of the complete and partial mole. *Am J Obstet Gynecol* 132:20-27.
- Szulman AE, Philippe E, Boué JG & Boué A (1981). Human triploidy: association with partial hydatidiform moles and nonmolar conceptuses. *Hum Pathol* 12:1016-1021.
- Szulman AE & Surti U (1982). The clinicopathologic profile of the partial hydatidiform mole. *Obstet Gynecol* 59:597-602.
- Tabor A, Bang J & Philip J (1981). 45,X karyotype: may the diagnosis be suspected on ultrasonic examination in the second trimester of pregnancy? *Prenat Diagn* 4:377-382.
- Tabor A, Larsen SO, Nielsen J, Nielsen J, Philip J, Pilgaard B, Videbech P & Nørgaard-Pedersen B (1987). Screening for Down's syndrome using an iso-risk curve based on maternal age and serum alpha-fetoprotein level. *Br J Obstet Gynaecol* 94:636-642.
- Takagi N & Sasaki M (1976). Dygynic triploidy after superovulation in mice. *Nature* 264:278-281.
- Tharapel AT, Tharapel SA & Bannerman RM (1985). Recurrent pregnancy losses and parental chromosome abnormalities: a review. *Br J Obstet Gynaecol* 92:899-914.
- Teng NNH & Ballon SC (1984). Partial hydatidiform mole with diploid karyotype: report of three cases. *Am J Obstet Gynecol* 150:961-964.
- Therman E (ed)(1986). Reciprocal translocations. In *Human chromosomes. Structure, behavior, effects.* (2nd edition) Springer-Verlag, New York, pp. 228-242.
- Thiede HA (1960). Studies of the human trophoblast in tissue culture. I. Cultural methods and histochemical staining. *Am J Obstet Gynecol* 79:636-647.

- Thiede HA & Salm SB (1964). Chromosome studies of human spontaneous abortions. *Am J Obstet Gynecol* 90:205-215.
- Townes PL, White MR, Stiffler SJ & Goh K (1975). Double aneuploidy. Turner-Down syndrome. *Am J Dis Child* 129:1062-1065.
- Uchida IA & Freeman VCP (1985). Triploidy and chromosomes. *Am J Obstet Gynecol* 151:65-69.
- Uchida I, Freeman VCP & Chen PL (1985). Detection and interpretation of two different cell lines in triploid abortions. *Clin Genet* 28:489-494.
- Vassilakos P, Riotton G & Kajii T (1977). Hydatidiform mole: two entities. A morphologic and cytogenetic study with some clinical considerations. *Am J Obstet Gynecol* 127:167-170.
- Verjaal M, Leschot NJ, Wolf H & Treffers PE (1987). Karyotypic differences between cells from placenta and other fetal tissues. *Prenat Diagn* 7:343-348.
- Voightländer T & Vogel F (1985). Low alpha-fetoprotein and serum albumin levels in Morbus Down may point to a common regulatory mechanism. *Hum Genet* 71:276-277.
- Voss R, Ben-Simon E, Avital A, Godfrey S, Zlotogora J, Dagan J, Tikochinski Y & Hillel J (1989). Isodisomy of chromosome 7 in a patient with cystic fibrosis: could uniparental disomy be common in humans? *Am J Hum Genet* 45:373-380.
- Wald NJ & Cuckle HS (1984). Open neural tube defects. In Wald NJ (ed) *Antenatal and neonatal screening*. Oxford University Press. Oxford, pp. 25-73. Apud Jones et al. 1988 (op cit).
- Wald NJ, Cuckle HS, Densem JW, Nanchahal K, Canick JA, Haddow JE, Knight GJ & Palomaki GE (1988a). Maternal serum unconjugated oestriol as an antenatal screening test for Down's syndrome. *Br J Obstet Gynaecol* 95:334-341.
- Wald NJ, Cuckle HS, Densem JW, Nanchahal K, Royston P, Chard T, Haddow JE, Knight GJ, Palomaki GE & Canick JA (1988b). Maternal serum screening for Down's syndrome in early pregnancy. *Br Med J* 297:883-887.
- Wald N, Cuckle H & Densem J (1989). Maternal serum specific beta₁-glycoprotein in pregnancies associated with Down's

- syndrome. *Lancet* 2:450.
- Wallace DC, Surti U, Adams CW & Szulman AE (1982). Complete moles have paternal chromosomes but maternal mitochondrial DNA. *Hum Genet* 61:145-147.
- Warburton D & Fraser C (1964). Spontaneous abortion risks in man: data from reproductive histories collected in a medical genetics unit. *Am J Hum Genet* 16:1-25.
- Warburton D, Stein Z, Kline J & Susser M (1980a). Chromosome abnormalities in spontaneous abortion: data from the New York City study. In Porter IH & Hook E (eds) *Human embryonic and fetal death*. Academic Press, New York. pp.261-288. Apud Boué et al. 1985 (op cit).
- Warburton D, Kline J, Stein Z & Susser M (1980b). Monosomy X: a chromosomal anomaly associated with young maternal age. *Lancet* 1:167-169.
- Warburton D, Kline J, Stein Z, Hutzler M, Chin A & Hassold T (1987). Does the karyotype of a spontaneous abortion predict the karyotype of a subsequent abortion? - Evidence from 273 women with two karyotyped spontaneous abortions. *Am J Hum Genet* 41:465-483.
- Watt JL, Templeton AA, Messini I, Bell L, Cunningham P & Duncan RO (1987). Trisomy 1 in an eight cell human pre-embryo. *J Med Genet* 24:60-64.
- Williams III J, Medearis AL, Chu WH, Kovacs GD Kaback MM (1987). Maternal cell contamination in cultured chorionic villi: comparison of chromosome Q-polymorphisms derived from villi, fetal skin, and maternal lymphocytes. *Prenat Diagn* 7:315-322.
- Williamson EM & Miller JF (1980). A prospective study into early conceptual loss. *Clin Genet* 17:93.
- Winter RW, Knowles SAS, Bieber FR & Baraitser M (1988). *The malformed fetus and stillbirth*. J Wiley & Sons, New York.
- Womack C & Elston CW (1985). Hydatidiform mole in Nottingham: a 12-year retrospective epidemiological and morphological study. *Placenta* 6:93-106.
- Ynagimachi R (1973). Behaviour and functions of the structural element of the mammalian sperm head in fertilization. In

Regulation of mammalian reproduction. S. Segal Ed.
Springfield, Thomas. pp. 215-230. Apud Couillin et al. 1987
(op cit).

Zeitune M, Aitken DA, Graham GW, Crossley JA & Ferguson-Smith MA
(1989). Amniotic fluid alpha-fetoprotein,
gamma-glutamyltranspeptidase, and autosomal trisomies. Prenat
Diagn 9:559-568.

APÊNDICE 1

(Ficha clínica utilizada para a obtenção dos dados de anamnese)

PROCOLO PARA ESTUDO INTERDISCIPLINAR EM
ABORTAMENTOS ESPONTÂNEOS

Data _____ Registro _____

Nome _____ Idade _____

Natural de _____ Est _____ Data de nasc. _____

Profissão _____ Escolaridade _____

Nº de gestações _____ Nº de partos _____ Nº de abort/ _____

DUM _____ Teste para gravidez: Sim _____ Não _____

Tipo _____ Data _____

Médico que encaminhou _____

Nome do cônjuge _____ Idade _____

Natural de _____ Est _____ Data de nasc. _____

Profissão _____ Escolaridade _____

Endereço _____

Telefone _____

PRÉ-NATAL

Médico _____ Início _____

PA _____ mmHg Variações: Sim _____ Não _____

Medicamentos: Sim _____ Não _____ Especificar _____

Enfermidades agudas: Sim _____ Não _____ Especificar _____

Enfermidades crônicas: Sim _____ Não _____ Especificar _____

Contato com radiação ionizante: Sim _____ Não _____ Especificar _____

EXAMES LABORATORIAIS DA PACIENTE

Grupo sanguíneo _____ Rh _____

Outros exames _____

DO CÔNJUGE

Enfermidades agudas: Sim _____ Não _____ Especificar _____

Enfermidades crônicas: Sim _____ Não _____ Especificar _____

Contato com radiação ionizante: Sim _____ Não _____ Especificar _____

Grupo sanguíneo _____ Rh _____

Outros exames _____

ANTECEDENTES FAMILIAIS

Consangüinidade: Sim _____ Não _____ Especificar _____

Malformações: Sim _____ Não _____ Especificar _____

RM na família: Sim _____ Não _____ Especificar _____

Doenças familiares: Sim _____ Não _____ Especificar _____

Abortamentos: Sim _____ Não _____ Especificar _____

HEREDOGRAMA

CURETAGEM UTERINA

Data _____ Médico _____
Responsável pela coleta do material _____

EXAMES LABORATORIAIS DO ABORTO

Dosagens Hormonais:

β -hCG _____
 α -fetoproteína _____

Citogenética:

Cariótipo _____ N° de metaf. anal. _____
Bandas: GTG _____ QFQ _____ CBG _____ Outra(s) _____

Anátomo-patológico:

Macro _____
Micro _____

APÊNDICE 2

Relação dos casos da amostra índice segundo os dados referentes à análise citogenética. O tecido cultivado com sucesso; as técnicas empregadas para a obtenção de metáfases, seja a cultura celular, seja a preparação direta; o número de células analisadas; a técnica de banda que foi utilizada para a identificação dos cromossomos e a anotação sobre a realização do cariótipo dos pais.

->Para se poder trabalhar com uma listagem mais simplificada, utilizou-se códigos para algumas variáveis.

->Reconhecimento dos códigos utilizados:

Tecido cultivado	Número
Vilosidade coriônica	1
Âmnio	2
Córion	3
Partes embrionárias/fetais	4
Cordão umbilical	5
Saco vitelino	6
Líquido amniótico	7
Decídua	8

Técnicas de cultura	Número
Tripsinização simples	1
Tripsinização a baixa temperatura	2
Dupla tripsinização	3

Nº do caso	IG	tec. cult.	técnica cultura	prep. direta	nº cél. analis.	Banda	Cariót. pais
2916	9	1	1,3	-	16	Q	+
2917	8	1	1,3	+ ^a	31(6)	Q	-
2918	14	1	1,2	+	18(6)	Q	-
2894	10	4,5	1	-	26	Q	-
2895	14	1,2,7	1	-	11	Q	-
2903	12	1	1	+ ^a	13	Q	-
2914	14	4,5	1	-	11	Q	-
2929	11	1	1	-	14	Q	-
2935	17	1,2	1	-	11	Q	+
2951	10	1	1	+	12	Q	-
2967	8	-	1	+ ^a	16	Q	-
2985	10	1,2	1	-	7	Q	+ ^c
3009	-	2	1	-	11	Q	-
3059	12	1,2	3	-	11	Q	-
3063	13	1,5	1	-	11	Q	-
3065	10	1,2	1	-	12	Q	-
3074	-	1,2	1	-	25	Q	+ ^{o, d}
3075	13	1,5	1	-	11	Q	-
3081	13	1,2	1	-	11	Q	-
3089	12	1,4	1	-	12	Q	-
3141-I	12	1,2,8	2	-	7	Q	+
3186	13	2	2	-	22	Q	-
3202	10	1,2,8	2	-	11	Q	-
3203	11	2	2	-	7	Q	-
3152	11	2,5	2	-	13	Q	+ ^c
3222	13	2,4,5	2	-	18	G, Q	+ ^{o, d}
3151	10	1,2	2	+	20	Q	-
3256	-	2,4,8	1	-	18	Q	-
3358	12	2	2	-	11	Q	-
3355	11	2,4	2	-	11	G, Q	-
3360	12	2	2	-	11	Q	-
3375	10	1,2	2	-	11(3)	Q	-
1202	11	3,8	2	-	13(6)	Q	-
3463	10	1,8	2	-	4(2)	Q	+
3486	9	1,2	2	-	19	G, Q	-
3499	-	1	1	+	11(6)	Q	-
994	14	2,4	2	+	9	Q	-
3538	13	1	2	+	17	Q	+
3595	12	1,2	2	-	33(4)	G, Q	-
3639	-	2,8	1	-	10	Q	-
3660	-	1,2,3,8	1	-	15	Q	-
3141-II	9	1,2,8	1	-	50(7)	G, Q, R	+
3749	-	1,2,8	1	-	6	Q	-
3952	10	1,2,8	2	-	5	Q	-
4032	14	1,2	1	-	14	Q	-
3576	9	1,2,8	2	-	3	Q	-
4082	16	2,4,8	1	-	19	Q	-
4125	10	1,2,4,8	2	-	12	G, Q	-
4151	14	1	2	-	4	Q	-
4171	16	2,8	2	-	8	Q	-

N° do caso	IG	tec. cult.	técnica cultura	prep. direta	n° cél. analis.	Banda	Cariót. pais
4214	11	2,8	2	-	3	Q	-
4221	10	1,2,8	2	-	8	Q	-
4301	12	1	2	-	3	Q	-
4630	-	1,2	1	-	15(6)	Q	-
3090	17	1,2	2	+	14(3)	Q	-
1855	-	1	1	-	8(3)	Q	+
2168	10	1	1	-	22(5)	Q	-
2739	9	1	1	-	14	Q,C	+
2685	-	1	1	-	17(9)	Q	-
2385	9	1	1	-	30(8)	Q	-
3087	-	1	1	-	8	Q	-
2555	-	1	1	-	4	Q	+ ^o

a -> com resultado da análise da preparação direta.

() -> número de células de origem fetal. Culturas mistas.

c -> só foi realizado o cariótipo materno.

d -> cariótipo realizado em outro serviço.

APÊNDICE 3

Relação dos casos da amostra índice, listados de acordo com as seguintes características: idade materna (IM); idade paterna (IP); idade gestacional (IG); n° de gestações (G); n° de paridade (P); n° de abortamentos (A); cariótipo (Cr); sexo do aborto segundo o cariótipo (Sx); valor de α -fetoproteína (AFP); valor de HCG (HCG); resultado do estudo anátomo-patológico (AP) e tipo do material que foi enviado para estudo (Mt).

->Reconhecimento dos códigos utilizados:

Sexo	Número
feminino	1
maculino	2

Cariótipo	Número
46,XX ou 46,XY	1
deleção	2
trissomia	3
monossomia X	4
triploidia	5
tetraploidia	6
dupla aneuploidia	7
translocação equilibrada	8
translocação desequilibrada	9

Resultado do estudo anátomo-patológico	Número
compatível	1
incompatível	2
mola	3
inconclusivo	4

Tipo de material que foi enviado para estudo [segundo a classificação modificada de Fujikura et al. (1966)]	Número
grupo I	1
grupo IIa	2
grupo III	3
grupo IVb	4
grupo IVd	5
grupo V	6

N° do caso	IM	IP	IG	G	P	A	Cr	Sx	AFP (ng/ml)	BHCG (mUI/ml)	AP	Mt
2916	30	34	9	1	0	1	1	1	2,89	87800	2	2
2917	25	32	8	1	0	1	1	1	2,21	53000	3	6
2918	30	31	14	2	1	1	5	1	4,23	8400	1	2
2894	27	30	10	2	0	2	4	1	-	-	1	5
2895	35	36	14	1	0	1	1	1	6,30	960	2	3
2903	24	27	12	-	-	-	1	1	71,87	3700		1
2914	37	27	14	3	1	2	1	2	119,10	4050	1	5
2929	22	29	11	3	1	2	3	1	3,25	9700	1	1
2935	21	27	17	2	1	1	5	2	2,36	5300	-	6
2951	30	34	10	-	-	-	6	1	2,70	24200	-	1
2967	27	25	8	1	0	1	1	1	3,05	37200	2	1
2985	26	27	10	2	0	2	3	2	3,92	35	1	3
3009	39	-	-	-	-	-	3	2	6,38	3950	1	2
3059	35	35	12	3	0	3	1	2	0,87	2880	2	2
3063	37	41	13	3	2	1	7	1	717,00	2900	1	5
3065	23	27	10	1	0	1	5	1	4,14	246	4	2
3074	26	24	-	2	1	1	1	1	-	-	2	2
3075	30	38	13	2	1	1	1	2	9,32	7	2	5
3081	29	28	13	2	1	1	5	1	3,59	21400	1	6
3089	22	29	12	1	0	1	4	1	6,38	311	1	5
3141-I	28	30	12	2	0	2	3	1	3,62	8950	1	2
3186	36	37	13	4	1	3	1	1	-	-	2	2
3202	32	33	10	3	1	2	6	2	9,56	8800	1	2
3203	27	32	11	1	0	1	1	1	3,83	570	1	2
3152	25	33	11	1	0	1	4	1	11,65	1290	1	2
3222	23	32	13	4	1	3	2	1	6,56	2500	1	5
3151	37	33	10	3	2	1	5	1	6,84	9000	1	3
3256	31	40	-	4	3	1	1	1	3,01	501	2	3
3358	25	28	12	2	0	2	5	1	6,15	310	1	2
3355	25	26	11	2	1	1	1	1	4,25	31550	2	5
3360	40	46	12	3	2	1	3	1	6,56	7360	1	2
3375	33	30	10	2	0	2	1	1	4,90	9280	3	3
1202	24	32	11	3	1	2	1	2	5,58	50	2	1
3463	30	32	10	2	0	2	3	2	-	-	4	1
3486	39	28	9	2	1	1	3	1	4,48	12560	1	2
3499	-	-	-	-	-	-	3	1	6,38	7200	4	1
994	32	31	14	2	1	1	1	2	10,36	250	1	5
3538	29	31	13	4	1	3	5	2	3,20	7100	1	6
3595	40	36	12	2	1	1	3	1	4,54	525	1	2
3639	36	28	-	3	1	2	3	2	2,15	710	1	2
3660	37	31	-	3	1	2	1	2	10,47	731	1	2
3141-II	29	31	9	3	0	3	8	1	4,87	9850	1	2
3749	-	-	-	-	-	-	3	2	7,14	14450	4	2
3952	21	-	10	1	0	1	3	2	17,01	17300	1	2
4032	19	24	14	2	0	2	4	1	-	-	1	5
3576	23	25	9	2	1	1	6	2	7,36	2960	1	2
4082	21	31	16	3	2	1	5	2	12,40	23600	1	6
4125	41	40	10	3	2	1	1	2	17,47	53600	1	5
4151	25	18	14	3	2	1	5	1	15,69	26000	1	4
4171	34	37	16	1	0	1	1	1	11,28	11300	-	2

N° do caso	IM	IP	IG	G	P	A	Cr	Sx	AFP (ng/ml)	BHCG (mUI/ml)	AP	Mt
4214	28	29	11	1	0	1	1	2	1,71	2150	1	2
4221	32	31	10	5	2	3	1	2	2,24	1480	2	3
4301	24	29	12	3	1	2	4	1	6,32	1560	-	2
4630	32	34	-	3	1	2	3	2	9,21	181	-	2
3090	22	37	17	4	2	2	1	1	2,22	1860	3	2
1855	27	33	-	4	0	4	9	1	-	-	1	2
2168	42	64	10	3	2	1	7	1	-	-	1	2
2739	44	48	9	3	0	3	7	1	-	-	1	2
2685	24	35	-	2	0	2	1	2	-	-	2	2
2385	-	-	9	2	0	2	3	1	-	-	2	2
3087	36	-	-	-	-	-	3	1	-	-	1	2
2555	25	28	-	-	-	-	3	1	-	-	4	2

APÊNDICE 4

(História clínica e heredograma do caso 3141 da amostra índice)

Casal jovem, ele 30, ela 28 anos, apresentando ovários policísticos, foi referido para Aconselhamento Genético em outubro/87 na vigência de seu segundo abortamento espontâneo.

A história familiar mostrava vários casos de abortamento espontâneo, principalmente do lado paterno; história de malformação congênita e retardamento mental (vide heredograma abaixo).

Um exame ultra-sonográfico realizado antes da curetagem uterina, mostrava útero em ante-versoflexão com saco gestacional de aspecto irregular, medindo nos diâmetros longitudinal, transverso e ântero-posterior 51, 40 e 20mm respectivamente. O embrião não foi visualizado, assim como também não se visualizou o saco vitelino. A região placentária, córion frondoso, mostrava aspecto homogêneo com uma área de 8,1cm². A idade gestacional estimada foi de 10-11 semanas.

O resultado do estudo citogenético do aborto mostrou cariótipo anormal: 46,XX,+16,t(13;16)(q21;p11). O estudo anátomo-patológico também evidenciou alterações compatíveis com anomalia cromossômica.

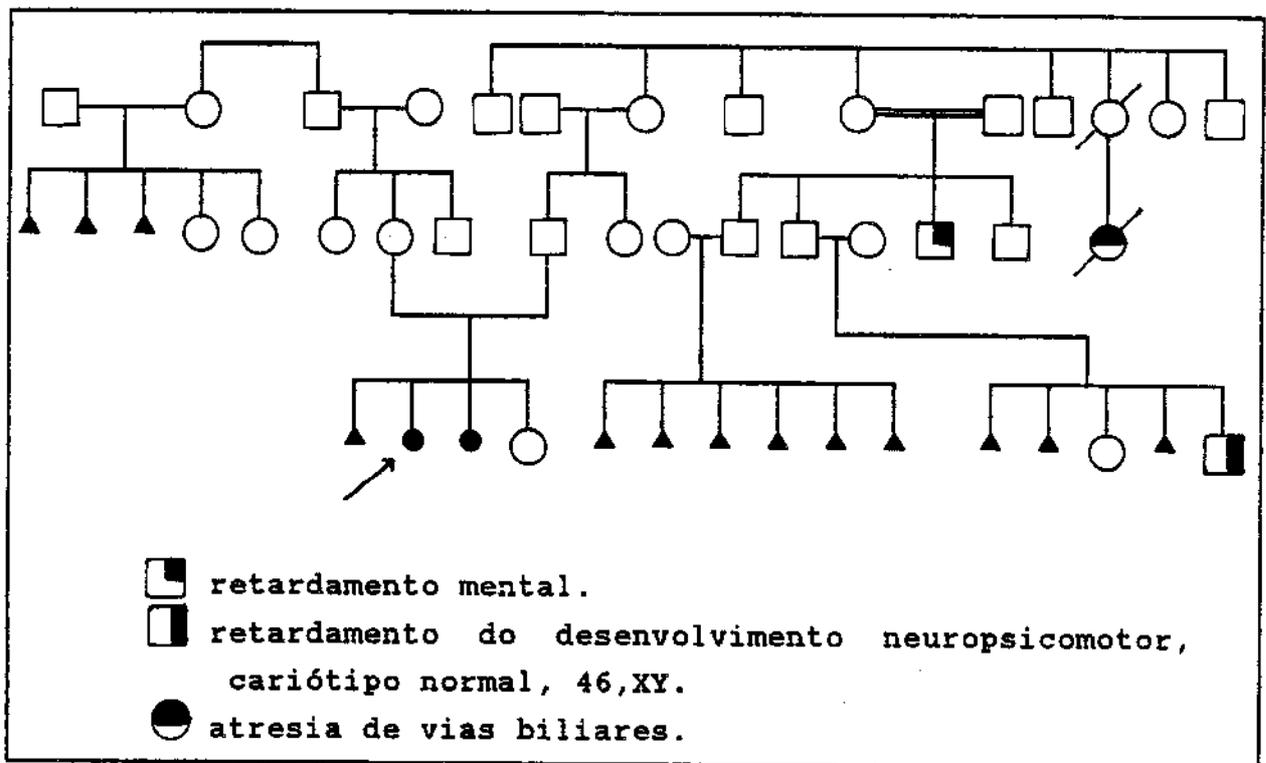
O estudo cromossômico do casal mostrou ser o marido normal (46,XY) e a esposa portadora de uma translocação equilibrada 46,XX,t(13;16)(q21;p11). Os demais membros da família da esposa, inclusive os pais, se negaram a comparecer ao Serviço para estudo cromossômico.

A terceira gestação do casal também evoluiu para o abortamento espontâneo no curso da 9a. semana. A cultura desse aborto, a partir de vilosidades coriônicas, foi parcialmente contaminada por células maternas. Apesar disso, foi possível concluir que o cariótipo fetal mostrava uma dupla translocação equilibrada, sendo uma herdada e a outra ocorrendo "de novo" - 46,XX,t(13;16)(q21;p11)mat,t(7;20)(p14;q13). O estudo anátomo-

patológico nesse caso também mostrou alterações compatíveis com anomalia cromossômica.

Posteriormente esse casal retornou ao Serviço para diagnóstico pré-natal de sua 4a. gestação no decurso da 16ª semana. 10ml de seu sangue foi coletado para fazer parte da amostra controle desse trabalho. O cariótipo fetal foi igual ao da mãe 46,XX,t(13;16)(q21;p11). Mais adiante, tomou-se conhecimento de que a menina nasceu a termo, em boas condições pesando 3280g e medindo 49cm.

HEREDOGRAMA



APÊNDICE 5

Relação dos casos da amostra controle, listados de acordo com as seguintes variáveis analisadas: idade materna (IM); idade paterna (IP); idade gestacional (IG); n° de gestações (G); n° de paridade (P); n° de abortamentos (A); cariótipo, se normal ou anormal (Cr); sexo do feto (Sx); valor de α -fetoproteína (AFP) e valor de hCG (HCG).

Reconhecimento dos códigos utilizados:

Cariótipo	Número	Sexo	Número
normal (46,XX ou 46,XY)	1	feminino	1
anormal (translocação equilibrada)	2	masculino	2

N° do caso	IM	IP	IG	G	P	A	Cr	Sx	AFP (ng/ml)	HCG (mUI/ML)
01	19	-	11	1	0	0	-	2	34,97	42100
02	44	-	9	8	7	0	-	2	17,40	42000
03	30	-	9	4	3	0	-	1	34,79	112800
04	19	-	12	1	0	0	-	2	6,50	70700
05	32	-	10	-	-	-	-	1	4,13	56000
06	33	-	13	3	2	0	-	1	14,87	53600
07	30	-	14	4	3	0	-	1	25,34	9200
08	29	-	12	7	2	4	-	1	13,28	22100
09	18	-	14	1	0	0	-	1	42,20	35900
10	26	-	10	2	0	1	-	1	18,89	38000
11*	20	-	10	3	2	0	-	-	-	-
12	20	-	13	6	1	4	-	2	23,35	20900
13	23	-	11	3	2	0	-	2	22,22	27500
14	26	-	13	2	1	0	-	1	14,90	42300
15	27	-	17	10	7	2	-	1	24,51	6200
16	23	-	16	1	0	0	-	1	39,67	8400
17	18	-	13	5	2	2	-	1	11,86	37400
18*	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
19	14	-	9	1	0	0	-	2	37,37	40100
20	28	-	9	3	2	0	-	2	6,93	108000
21	18	-	17	1	0	0	-	1	68,79	19500
22	28	-	12	1	0	0	-	2	28,88	20400
23	36	-	5	6	5	0	-	1	1,00	-
24	31	-	15	5	4	0	-	2	35,73	54100
25	26	-	19	3	1	1	-	1	98,15	2900
26	32	-	19	6	5	0	-	2	15,52	19100
27	30	-	18	6	4	1	-	1	82,56	8600
28	22	-	19	2	1	0	-	2	41,16	16900
29	22	-	12	1	0	0	-	1	32,12	31200
30	25	-	11	4	3	0	-	1	32,59	27000
31	21	-	13	-	-	-	-	1	24,29	24400
32	30	-	15	1	0	0	1	1	43,61	59000
33	40	-	18	-	-	-	1	1	6,15	71800
34	28	28	11	2	0	1	1	1	20,34	46500
35	40	47	12	1	0	0	1	1	7,24	63200
36	40	41	11	3	1	1	1	1	24,70	67300
37	41	38	12	4	2	1	1	1	19,80	49500
38	35	-	9	-	-	-	2	1	47,23	56400
39	34	37	11	-	-	-	1	1	97,36	61200
40	36	32	9	4	2	1	1	1	10,98	61000
41	35	48	8	5	3	1	1	2	8,96	84100
42	38	35	12	2	1	0	1	2	51,40	36700
43	21	22	14	1	0	0	1	2	70,52	35500
44	25	27	12	1	0	0	1	1	35,45	65300
45	36	38	14	5	4	0	1	1	10,73	54300
46	41	42	9	3	1	1	1	2	9,55	89300
47	29	28	8	2	1	0	1	1	17,58	192600
48	30	31	11	3	1	1	1	1	22,83	62700
49	41	42	14	1	0	0	1	1	44,23	66000
50	30	32	16	4	0	3	2	1	44,11	27900

N° do caso	IM	IP	IG	G	P	A	Cr	Sx	AFP (ng/ml)	HCG (mUI/ML)
51*	39	37	12	-	-	-	-	-	-	-

* Refere-se aos abortamentos espontâneos pós coleta de sangue.

APÊNDICE 6

Relação dos casos da amostra índice, listados de acordo com as seguintes características: idade gestacional (IG); cariótipo, se normal ou não (Cr); tipo do cariótipo (Tp); valor de α -fetoproteína (AFP); valor de AFP segundo os múltiplos da mediana (MoM); valor de HCG (HCG) segundo os múltiplos da mediana (MoM).

->Reconhecimento dos códigos utilizados:

Cariótipo	Número
normal	1
anormal	2

Tipo de cariótipo	Número
46,XX ou 46,XY	1
deleção	2
trissomia	3
monossomia X	4
triploidia	5
tetraploidia	6
dupla aneuploidia	7
translocação equilibrada	8
translocação desequilibrada	9

N° do caso	IG	Cr	Tp	AFP (ng/ml)	MoM	HCG (mUI/ml)	MoM
2916	9	1	1	2,89	0,12	87800	2,08
2917	8	1	1	2,21	0,09	53000	1,26
2918	14	2	5	4,23	0,17	8400	0,20
2894	10	2	4	-	-	-	-
2895	14	1	1	6,30	0,26	960	0,02
2903	12	1	1	71,87	2,94	3700	0,09
2914	14	1	1	119,10	4,88	4050	0,10
2929	11	2	3	3,25	0,13	9700	0,23
2935	17	2	5	2,36	0,10	5300	0,13
2951	10	2	6	2,70	0,11	24200	0,57
2967	8	1	1	3,05	0,12	37200	0,88
2985	10	2	3	3,92	0,16	35	-
3009	-	2	3	6,38	0,26	3950	0,09
3059	12	1	1	0,87	0,04	2880	0,07
3063	13	2	7	717,00	29,38	2900	0,07
3065	10	2	5	4,14	0,17	246	0,01
3074	-	1	1	-	-	-	-
3075	13	1	1	9,32	0,38	7	-
3081	13	2	5	3,59	0,15	21400	0,51
3089	12	2	4	6,38	0,26	311	0,01
3141-I	12	2	3	3,62	0,15	8950	0,21
3186	13	1	1	-	-	-	-
3202	10	2	6	9,56	0,39	8800	0,21
3203	11	1	1	3,83	0,16	570	0,01
3152	11	2	4	11,65	0,48	1290	0,03
3222	13	2	2	6,56	0,27	2500	0,06
3151	10	2	5	6,84	0,28	9000	0,21
3256	-	1	1	3,01	0,12	501	0,01
3358	12	2	5	6,15	0,25	310	0,01
3355	11	1	1	4,25	0,17	31550	0,75
3360	12	2	3	6,56	0,27	7360	0,17
3375	10	1	1	4,90	0,20	9280	0,22
1202	11	1	1	5,58	0,23	50	-
3463	10	2	3	-	-	-	-
3486	9	2	3	4,48	0,18	12560	0,30
3499	-	2	3	6,38	0,26	7200	0,17
994	14	1	1	10,36	0,42	250	0,01
3538	13	2	5	3,20	0,13	7100	0,17
3595	12	2	3	4,54	0,19	525	0,01
3639	-	2	3	2,15	0,09	710	0,02
3660	-	1	1	10,47	0,43	731	0,02
3141-II	9	2	8	4,87	0,20	9850	0,23
3749	-	2	3	7,14	0,30	14450	0,34
3952	10	2	3	17,01	0,70	17300	0,41
4032	14	2	4	-	-	-	-
3576	9	2	6	7,36	0,30	2960	0,07
4082	16	2	5	12,40	0,51	23600	0,56
4125	10	1	1	17,47	0,72	53600	1,27
4151	14	2	5	15,69	0,64	26000	0,62
4214	11	1	1	1,71	0,07	2150	0,05

N° do caso	IG	Cr	Tp	AFP (ng/ml)	MoM	HCG (mUI/ml)	MoM
4221	10	1	1	2,24	0,09	1480	0,03
4301	12	2	4	6,32	0,26	1560	0,04
4630	-	2	3	9,21	0,38	181	-
3090	17	1	1	2,22	0,09	1860	0,04
4171	16	1	1	11,28	0,46	11300	0,27
1855	-	2	9	-	-	-	-
2168	10	2	7	-	-	-	-
2739	9	2	7	-	-	-	-
2685	-	1	1	-	-	-	-
2385	9	2	3	-	-	-	-
3087	-	2	3	-	-	-	-
2555	-	2	3	-	-	-	-

APÊNDICE 7:

Relação dos casos que apresentavam exame ultra-sonográfico conhecido, segundo os dados de idade gestacional (IG) pela data da última menstruação (DUM), cariótipo (Cr: 1 - cariótipo normal e 2 - cariótipo anormal), e dados da avaliação ultra-sonográfica: idade gestacional, saco gestacional (SG), embrião, saco vitelino, outras alterações, e conclusão. Em relação a essa última: 1 - abortamento retido, 2 - abortamento incompleto, 3 - ovo anembrionado e 4 - abortamento em curso.

Nº do caso	IG (DUM)	Cr	Dados ultra-sonográficos:								
			IG	SG	Embrião	SV	Out.	Conclusão:			
							1	2	3	4	
2916	9	1	8	42 cm ³	12 mm	3 mm	-	-	-	-	-
2917	-	1	-	aus	aus	aus	a	+	-	-	-
2918	14	2	14	57 cm ³	aus	aus	-	-	-	-	-
2895	14	1	-	3 cm	aus	-	-	-	+	-	-
2914	14	1	12	6 cm ³	57 mm	-	b	+	-	-	-
2929	11	2	10	59 cm ³	aus	aus	-	-	-	-	-
2935	17	2	?	150 cm ³	?	aus	-	-	-	-	-
2951	10	2	7	-	-	+	-	-	-	+	-
2967	8	1	7	-	-	aus	-	-	-	+	-
2985	10	2	9	4 cm ³	aus	aus	-	+	-	-	-
3059	12	1	-	-	aus	-	-	-	+	-	-
3063	13	2	-	75 cm ³	29 mm	aus	-	-	-	-	-
3074	-	1	-	2 cm	aus	-	-	+	-	-	-
3075	13	1	9	161 cm ³	27 mm	aus	-	-	-	-	-
3081	13	2	8	-	5 mm	aus	-	-	-	-	-
3089	12	2	9	56 cm ³	22 mm	aus	-	-	-	-	-
3090	17	1	-	59 cm ³	aus	aus	-	-	-	-	-
3141-I	12	2	10	40 cm ³	aus	aus	-	-	-	-	-
3152	11	2	8	49 cm ³	19 mm	-	-	+	-	-	-
3151	10	2	-	16 cm ³	80 mm	5 mm	-	-	-	-	-
3186	13	1	-	44 cm ³	20 mm	aus	-	+	-	-	-
3358	12	2	5	+	+	-	-	+	-	-	-
3360	12	2	-	4 cm	aus	aus	-	-	-	-	-
3375	10	1	-	7 mm	aus	aus	-	+	-	-	-
3463	10	2	-	8 cm ³	4 mm	5 mm	-	+	-	-	-
994	14	1	8	7 cm ³	18 mm	aus	-	-	-	-	-
3595	12	2	-	77 cm ³	16 mm	-	-	-	-	-	-
3639	-	2	-	4 cm	aus	aus	-	-	-	-	-
3141-II	9	2	-	4 cm	-	-	-	-	-	-	+
3952	10	2	-	5 cm	aus	aus	-	-	-	-	-
3576	9	2	-	1 cm	-	-	-	-	+	-	-
4032	14	2	-	-	-	-	-	-	+	-	-
4082	16	2	-	5 cm	24 mm	-	-	-	-	-	-
4221	10	1	-	1 cm	aus	aus	-	+	-	-	-
4301	12	2	-	5 cm	27 mm	-	-	-	-	-	-
4630	-	2	-	+	aus	+	-	+	-	+	-

a - degeneração trofoblástica sugestiva de degeneração molar.
b - imagem ecogênica, próxima ao embrião. Cordão anômalo?, hematoma de cordão?