



10

GENÉTICA E MEDICINA FETAL

*WALTER PINTO JÚNIOR
BERNARDO BEIGUELMAN*

Capítulo 10

GENÉTICA E MEDICINA FETAL

WALTER PINTO JÚNIOR

BERNARDO BEIGUELMAN

IDENTIFICAÇÃO DE FAMÍLIAS E GESTANTES SOB RISCO DE GERAR CRIANÇAS COM ALTERAÇÕES GENÉTICAS

Apesar de existirem algumas doenças genéticas que já podem ser tratadas com grande eficiência, como é o caso de várias aminoacidopatias (fenilcetonúria, acidúria metilmalônica etc.), de alterações do metabolismo dos carboidratos (galactosemia, diabetes etc.) ou de enzimopenias (síndrome adrenogenital, doença de Gaucher etc.), a maioria das doenças genéticas carece, ainda, de terapêutica específica. Por esse motivo a Genética, mais do que outras especialidades médicas, tem uma ação predominantemente preventiva.

A identificação de problemas genéticos pode ser estabelecida pelos antecedentes familiares, nos quais, geralmente, já existe um relato anterior de pacientes com doenças de origem genética. Assim, as seguintes situações anamnéticas podem ter peso importante para suspeitar que estamos frente a um casal merecedor de um estudo genético.

- 1) Parente próximo ou filho anterior do casal com anomalias congênitas e(ou) comprometimento intelectual.
- 2) Casal que possui parentes com doença seguramente de origem genética.
- 3) Casal em que pelo menos um dos cônjuges é portador de uma doença genética ou de um gene que possa causar uma doença genética.
- 4) Casal que refere parentes portadores de doença semelhante, mas que tem dúvidas se ela é herdada ou não.
- 5) Casal com algum grau de parentesco consanguíneo próximo.
- 6) Casal pertencente a um mesmo grupo racial de risco.
- 7) Casal com esterilidade sem causa aparente.
- 8) Casal ou genitores do casal com história de abortamento habitual.
- 9) Casal em que o marido possui mais de 55 anos e (ou) esposa com mais de 35 anos.
- 10) Casal em que pelo menos um dos cônjuges foi ou está exposto a radiações.
- 11) Casal em que pelo menos um dos cônjuges foi ou está exposto a produtos químicos diversos, inclusive o uso de drogas ou medicamentos para doenças crônicas.
- 12) Casal com grande ansiedade por temer gerar criança malformada, com comprometimento intelectual ou com cromossomopatia.

Antes de abordarmos esses tópicos, parece pertinente tecer algumas considerações, com finalidade didática, a respeito dos diferentes tipos de doenças genéticas.

Por doença genética entende-se qualquer alteração do patrimônio genético, o que abrange todas as alterações gênicas presentes no indivíduo que podem ser transmitidas a gerações futuras, bem como o aumento ou diminuição da quantidade de DNA, seja através de cromossomos inteiros ou por uma fração dos mesmos, através de translocações não equilibradas.

Embora o total do DNA humano possa albergar cerca de 3.000.000 de genes, estima-se que o homem seja portador de apenas 100.000. Esses genes estão distribuídos em duas cópias, não obrigatoriamente idênticas nos 23 pares de cromossomos, dois dos quais sexuais, representados pela notação 46,XX (mulher) e 46,XY (homem) e ainda pelo DNA mitocondrial transmitido apenas pela mulher. Os cromossomos foram convencionalmente numerados de 1 a 22 de acordo com o seu tamanho, do maior para o menor, e de acordo com a posição de sua constricção primária chamada de centrômero sendo os cromossomos sexuais distinguidos pelas letras X e Y (Figuras 10.1 e 10.2). A distinção entre cada par é feita ainda, de acordo com a distribuição de bandas ao longo dos cromossomos. O sexo feminino é chamado homogamético porque só pode produzir gametas com cromossomo X e o sexo masculino heterogamético porque produz igualmente gametas com o cromossomo X e com o cromossomo Y.

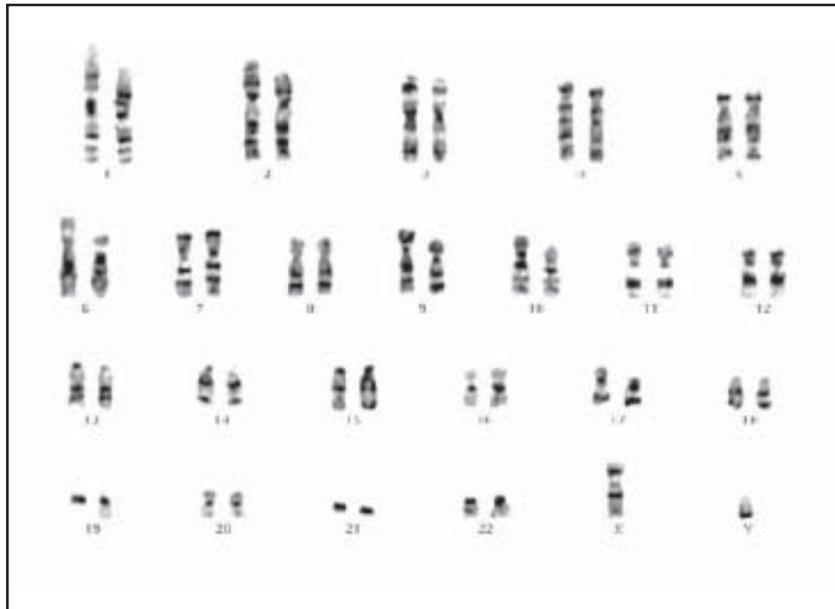


Figura 10.1: Cariograma masculino normal com técnica de bandamento G.

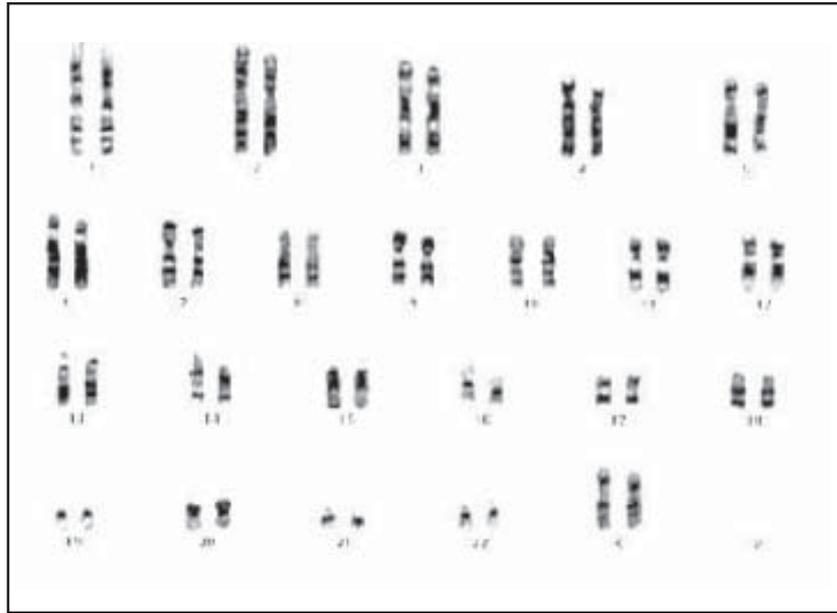


Figura 10.2: Cariograma feminino normal com técnica de bandamento G.

A trissomia do cromossomo 21 (Figura 10.3) e a maior parte das trissomias são causadas, geralmente, por uma falta de separação dos cromossomos na primeira divisão da meiose (meiose reducional), fenômeno esse conhecido como não-disjunção. Essa falta de disjunção também pode ocorrer, embora menos frequentemente, na segunda divisão da meiose ou nas primeiras divisões de um zigoto normal. Essa última situação determina o aparecimento de mosaïcismo, isto é, o aparecimento de duas ou mais linhagens celulares com número diferente de cromossomos ou com morfologia cromossômica diferente.

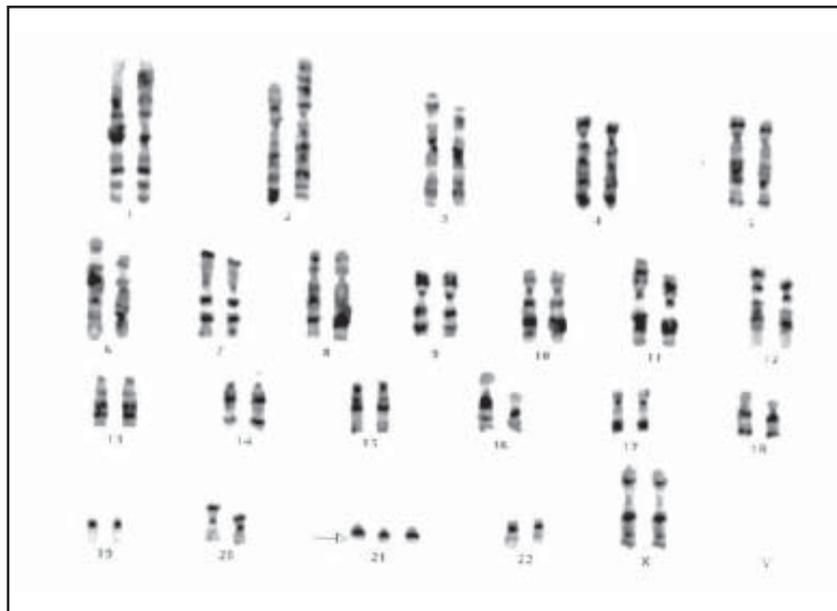


Figura 10.3: Cariograma de uma criança do sexo feminino com síndrome de Down e cariótipo 47,XX,+21.

As não-disjunções que ocorrem na primeira divisão meiótica são, talvez, as alterações genéticas mais frequentes da espécie humana, sendo as perdas no primeiro trimestre de gestação (cerca de 50% a 70%) causadas por aberrações cromossômicas. Quando se leva em conta todas as concepções, a frequência de alterações citogenéticas é alta e com estimativas que variam de 20,6% nos primeiros 15 dias a 10,5% entre as detectáveis após o atraso menstrual. Isso não é de se estranhar, uma vez que alterações citogenéticas ovulares ocorrem em 32% desses gametas e em 8% dos espermatozoides.

Se admitirmos que a falta de disjunção afeta, com igual frequência, todos os pares cromossômicos e tomarmos a monossomia do X como exemplo, pode-se estimar que a frequência de aberrações cromossômicas são responsáveis pela eliminação de cerca de 60% de todas as concepções, clinicamente reconhecidas ou não. Aqui é interessante relembrar os dados de Hertig, o qual estima que “cerca de 15% dos oócitos não são fertilizados, 10 a 15% são segmentados, mas não implantam, 70 a 75% implantam (pelo menos 58%), mas apenas 42% tem viabilidade suficiente para serem percebidas pela paciente através do atraso menstrual”. A dados muito similares chegaram Edmonds et al. (1982) com dosagens precisas de β HCG capaz de estabelecer o diagnóstico de gravidez em período tão precoce quanto 8 a 9 dias.

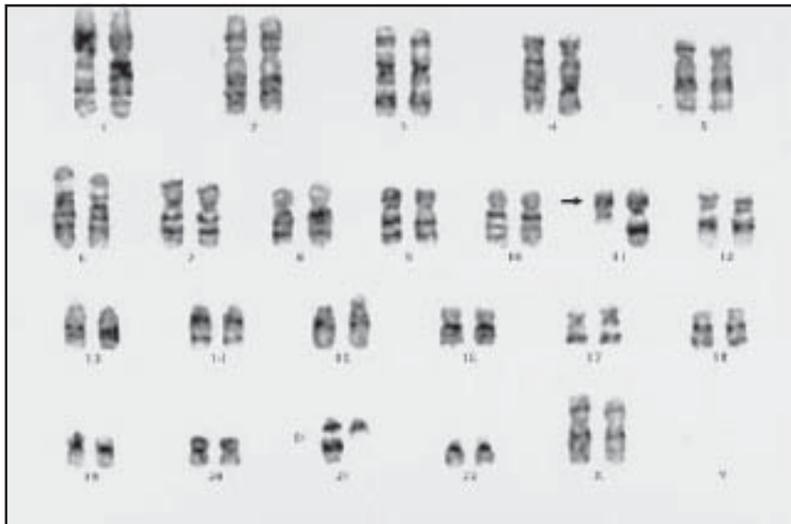


Figura 10.4: Cariograma representativo de uma mulher com translocação recíproca equilibrada 46,XX, t(11q-;21q+) (q14;q22).

Outro tipo importante de aberração cromossômica é a translocação, isto é, a troca de um pedaço de um cromossomo com o de outro (Figuras 10.4 e 10.5), ou a transposição de, praticamente, todo um cromossomo para outro (Figuras 10.6 e 10.7). A Figura 10.4 apresenta o cariótipo de uma mulher com uma translocação equilibrada entre o braço inferior de um dos cromossomos do par 11 e o braço inferior de um dos cromossomos do par 21. Essa senhora foi descoberta a partir de sua filha, com trissomia do braço inferior do cromossomo 11, a qual herdou dela um gameta com o cromossomo 21 apresentando material adicional do cromossomo 11 e um cromossomo 11 normal. Essa senhora teve, ainda, três abortos, sendo um deles estudado. Ele apresentava um dos cromossomos do par 11 com deficiência da parte distal inferior porque essa

senhora lhe transmitira um cromossomo 21 normal e um cromossomo 11 com material cromossômico deficitário (monossomia do braço inferior do cromossomo 11). Essa mesma senhora gerou uma criança cromossomicamente normal porque lhe transmitiu os cromossomos 11 e 21 normais. Se ela tivesse transmitido os cromossomos 11 e 21 com a translocação recíproca ela também teria gerado uma criança normal (Figura 10.5). Como se pode notar, nesse exemplo, as translocações recíprocas dão origem a quatro tipos de gametas, cada qual com probabilidade de 25%.

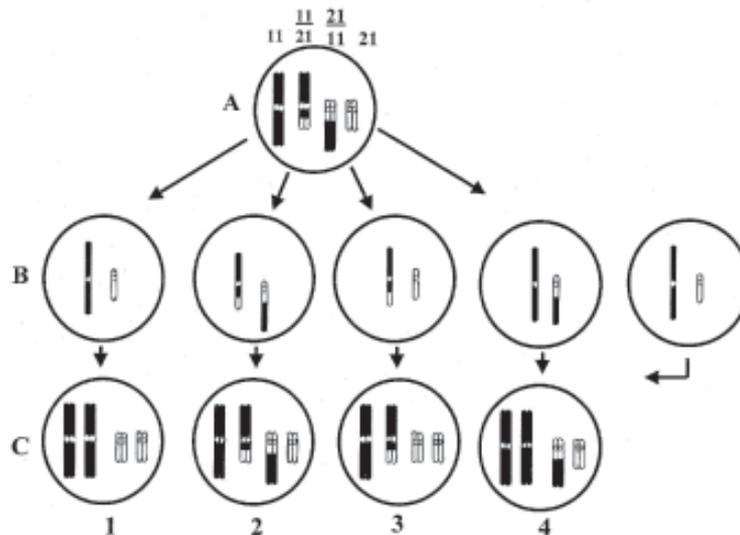


Figura 10.5: Esquema representativo da gamatogênese em um indivíduo com cariótipo 45,XX ou XY, t(11q-;21q+) e do resultado da união dos gametas desse indivíduo com os de um indivíduo normal. A. os cromossomos das gônias; B. os cromossomos dos gametas; C. os cromossomos dos zigotos: 1. com cariótipo normal; 2. com a translocação recíproca presente em um dos genitores; 3. com o cromossomo 11 apresentando deficiência do braço inferior; 4. com a trissomia 11q.

A Figura 10.6 mostra uma translocação de todo um cromossomo 21 sobre o 14. Esta é a origem mais frequente da síndrome de Down herdada e representa uma em cada trinta crianças com essa síndrome.

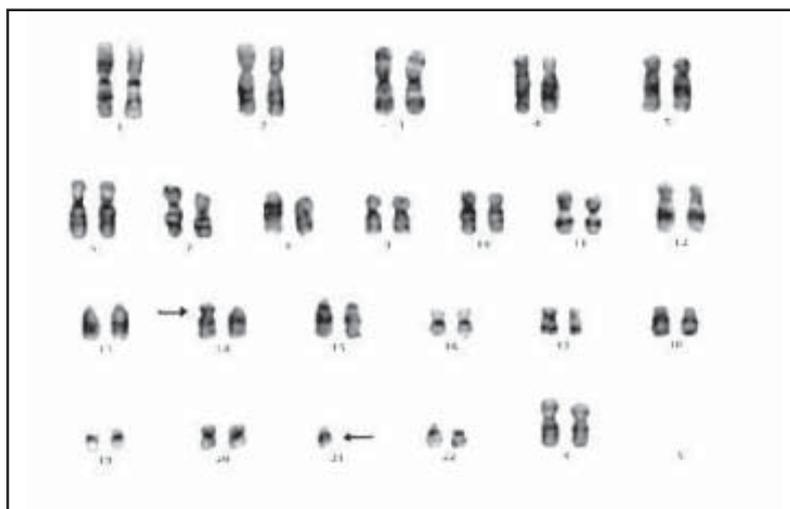


Figura 10.6: Cariograma representativo do cariótipo de uma mulher com fusão cêntrica equilibrada entre o cromossomo 14 e 21 (45,XX,-14,-21,+t(14q21q)).

Um casal em que um dos cônjuges possui essa translocação poderá gerar crianças cromossomicamente normais, crianças com a mesma translocação 14/21 herdada de um dos cônjuges e crianças que, além da translocação, têm dois cromossomos 21 livres. Essa última situação determinará um quadro completo de síndrome de Down, indistingüível daquele em que existe trissomia livre do 21 (Figura 10.7). Nesses casos é importante averiguar os parentes consangüíneos colaterais dos portadores da translocação equilibrada, uma vez que poderá haver recorrência dessa síndrome em outros membros da família. Por esse motivo, sempre que um casal referir a presença de síndrome de Down na família é importante saber se esse afetado realizou o exame de cariótipo e qual foi o resultado. Se tal resultado mostrar trissomia livre (Figura 10.3) os familiares poderão ficar tranquilos, pois terão um risco de recorrência considerado baixo, acrescido do risco similar ao da população da sua faixa etária de gerar crianças com essa cromossomopatia. Se desconhecermos o seu cariótipo, dever-se-á indicar o exame cromossômico do afetado, ou dos seus genitores ou, em último caso, do cônjuge que procura o obstetra e que é parente consangüíneo do afetado, a fim de afastar a hipótese de existência de uma eventual translocação.

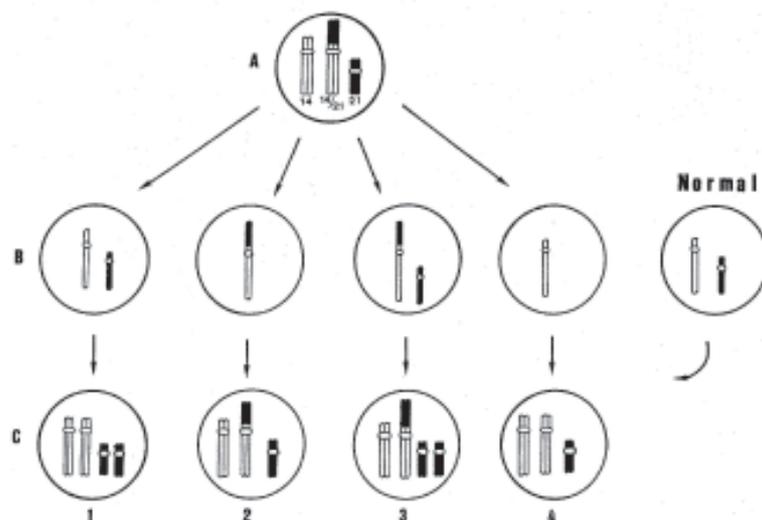


Figura 10.7: Esquema representativo da gametogênese em um indivíduo com cariótipo 45,XX ou XY, t(Dq21q) e do resultado da união dos gametas desse indivíduo com os de um indivíduo normal. A. os cromossomos das gônias; B. os cromossomos dos gametas; C. os cromossomos dos zigotos: 1. com cariótipo normal; 2. com a translocação robertsoniana; 3. com a trissomia funcional do cromossomo 21, que determina a síndrome de Down; 4. com monossomia do cromossomo 21 que, regra geral, determina inviabilidade.

Apesar de menos frequentes existem situações em que a criança com síndrome de Down apresenta trissomia livre do 21 e um dos genitores possui uma linhagem celular com a mesma trissomia, isto é, ao lado de uma maioria de células com cariótipo normal esse genitor ou genitora possui células com a trissomia igual a de seu filho. O encontro de duas linhagens cromossômicas é chamado mosaicismo e pode ser responsável pela recorrência de síndromes em outros filhos desse casal, mas não em seus familiares. Como o tecido estudado geralmente é o sangue periférico, nunca se pode afirmar a um casal jovem com uma criança com síndrome de Down que ele está isento de risco de gerar outra, uma vez que, ao nível de gônadas, poderá existir uma linhagem trissômica. Por esse motivo é que, nesses casos, se recomenda o diagnóstico pré-natal em futuras gestações.

DOENÇAS GÊNICAS

O levantamento de um heredograma facilita enormemente ao clínico reconhecer se ele está frente a uma doença gênica.

Os heredogramas, também denominados cartas genealógicas, são representações diagramáticas das genealogias, que permitem constatar, rapidamente, o parentesco entre os diferentes membros que as constituem (Figura 10.8). Nos heredogramas, os indivíduos do sexo masculino geralmente são representados por um pequeno quadrado e os do sexo feminino por um pequeno círculo. O símbolo com a forma de losango serve para indicar que o geneticista que levantou a genealogia não tem informações sobre o sexo do elemento, ou que não há interesse na especificação do sexo. Os mesmos símbolos, com tamanho menor são usados, geralmente, para representar os casos de abortos, prematuros e natimortos.

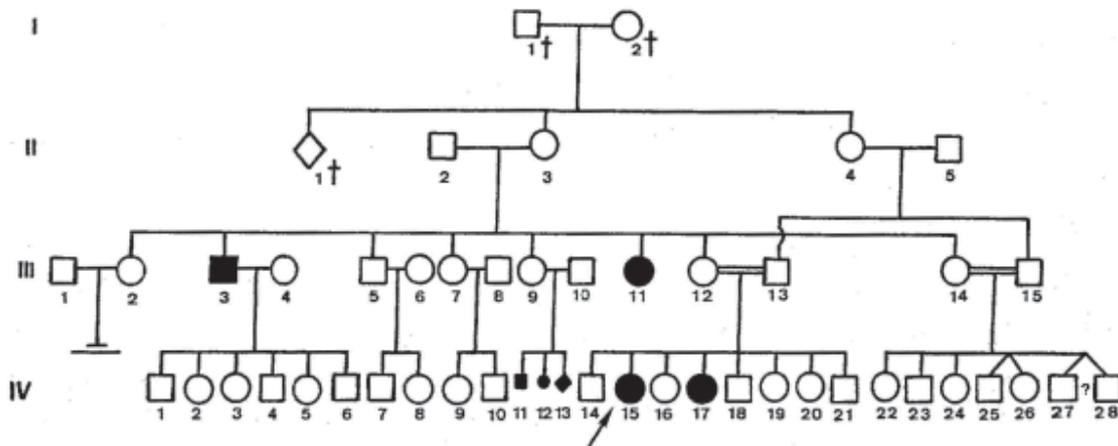


Figura 10.8: Heredograma de uma genealogia hipotética levantada por intermédio do propositus IV.15. Os quadrados simbolizam os indivíduos do sexo masculino e os círculos os do sexo feminino (escuros = anômalos; claros = normais). Os símbolos maiores com um número inscrito representam a reunião de diversos indivíduos. O losango significa a não assinalação do sexo. Os casais III-12 X III-13 e III-14 X III-15 são consangüíneos. O casal III-1 X III-2 não deixou descendentes. Os indivíduos IV-25 e IV-26 são gêmeos dizigóticos e os indivíduos IV-27 e IV-28 são gêmeos mas desconhecemos a zigosidade. Os abortos IV-11, IV-12 e IV-13 são representados por símbolos menores (Adaptado de Beiguelman, 1981).

O indivíduo anômalo que procurou a clínica e por intermédio do qual foi levantada a genealogia é denominado propósito, caso-probante ou caso-índice. Esse indivíduo é assinalado por uma seta no heredograma. Todos os elementos da genealogia que exibirem a anomalia em estudo são representados por símbolos escuros e os indivíduos normais por símbolos claros.

Os cônjuges são representados ligados por um traço horizontal (linha matrimonial) e os descendentes do casal são dispostos horizontalmente abaixo da linha matrimonial, por ordem de idade, cada qual ligado a uma linha (linha da irmandade) por um pequeno traço vertical. A linha da irmandade é ligada à linha matrimonial, também por um traço vertical, constituindo o casal e os filhos a família. Quando a genealogia contém casais consangüíneos, costuma-se usar uma linha matrimonial dupla para indicar a consangüinidade.

Os gêmeos monozigóticos são geralmente representados por símbolos iguais ligados a uma pequena linha vertical, presa à linha da irmandade. Se os gêmeos forem dizigóticos, serão representados por símbolos diretamente ligados ao mesmo ponto da linha da irmandade.

No heredograma as gerações da genealogia são numeradas por algarismos romanos enquanto que os indivíduos de cada geração são numerados por algarismos arábicos. A numeração dos indivíduos da genealogia pode ser consecutiva, isto é, desde o primeiro indivíduo da genealogia até o último, mas, geralmente, é feita por geração. Vários indivíduos do mesmo sexo e da mesma irmandade podem, se forem consecutivos, ser representados por um só símbolo grande contendo um número no interior, o qual representará o número de indivíduos que foram reunidos. Nas genealogias extensas costuma-se representar apenas um dos cônjuges, subentendendo-se que o cônjuge não simbolizado no heredograma é normal (ver capítulo “Modelos Didáticos Clássicos de Herança”).

HERANÇA AUTOSSÔMICA MONOGÊNICA DOMINANTE SIMPLES

Os critérios para a identificação de transmissão hereditária dominante autossômica podem ser exemplificados através da genealogia abaixo que representa um heredograma típico desse padrão.

1) Na prole de casais em que apenas um dos cônjuges tem a anomalia, encontra-se, aproximadamente, o mesmo número de filhos com e sem a anomalia. Em outras palavras, a proporção de normais: anômalos é semelhante a 1:1.

Aqui deve-se lembrar que, sendo raro o gene condicionador da anomalia, será bastante improvável o encontro de indivíduos homocigotos em relação a ele. Se chamarmos o gene dominante de A e o alelo recessivo de a, os casais anômalos x normal deverão ser do tipo Aa x aa, o que explica a proporção de anômalos para normais semelhante a 1:1 em seus filhos.

2) Nas irmandades que incluem indivíduos anômalos existe, em média, a mesma proporção de mulheres e de homens anômalos. Essa situação decorre do fato de ser autossômico o gene condicionador da anomalia.

3) A proporção de filhos anômalos e normais, bem como a razão de sexo entre os filhos anômalos, independe de ser o pai ou a mãe o transmissor da anomalia. Aliás, bastará o pai transmitir a anomalia para filhos de ambos os sexos para afirmarmos que não se trata de herança ligada ao sexo.

4) Os filhos normais de casais em que um dos cônjuges tem a anomalia, casando com pessoas normais, terão prole sem a anomalia em questão, ao passo que os descendentes com a anomalia terão probabilidade 1/2, ou seja, 50% de transmitir o fenótipo à sua prole. Por isso, nas genealogias nas quais a anomalia decorre de um gene completamente dominante autossômico, observa-se que o fenótipo anômalo não salta gerações.

A Figura 10.9 apresenta um heredograma típico de uma genealogia em que ocorre uma anomalia com transmissão hereditária autossômica dominante.

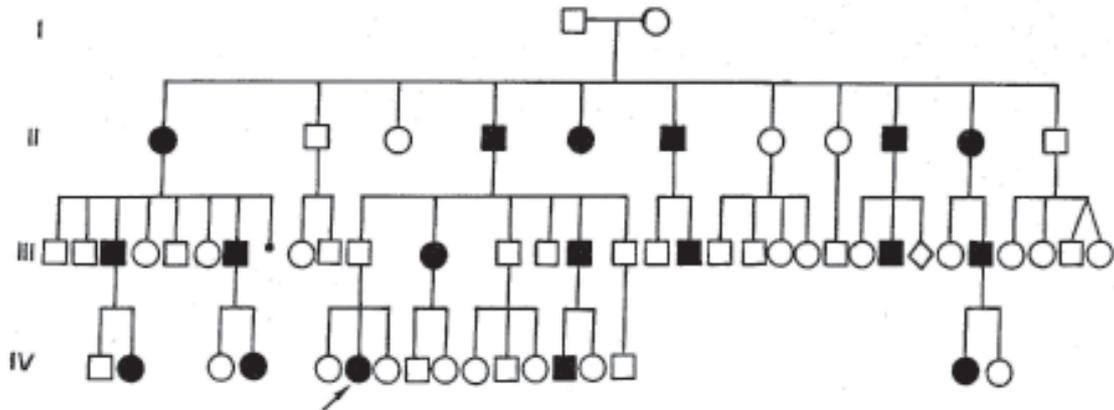


Figura 10.9: Heredograma de uma genealogia com ocorrência de eritroceratodermia simétrica (FREITAS E PINTO JR., 1993).

HERANÇA AUTOSSÔMICA MONOGÊNICA RECESSIVA SIMPLES

Os critérios para reconhecimento de herança autossômica monogênica recessiva simples são os seguintes:

1) Tanto os genitores quanto os ancestrais mais remotos de um indivíduo anômalo são, geralmente, normais. O gene raro passa, pois, despercebido através de muitas gerações e os indivíduos anômalos são, geralmente, filhos de heterozigotos.

2) Os indivíduos de ambos os sexos são igualmente afetados pela anomalia, pois que o gene é autossômico.

3) A maioria dos casais que geram os indivíduos anormais são heterozigotos ($Aa \times Aa$) e a probabilidade de nascer um anômalo (aa) nessas famílias é $1/4$. Por esse motivo, entre os irmãos de anômalos a distribuição de normais em relação a anômalos ocorre na proporção de 3 para 1.

4) Do casamento de dois indivíduos com a anomalia nascem apenas indivíduos anômalos, pois os pais são homozigotos. Isso era relativamente comum entre casais com surdo-mudez recessiva, visto que os surdo-mudos tinham maior probabilidade de casar entre si por injunções sociais.

5) Do casamento entre um indivíduo anômalo com um normal não consanguíneo nascem, geralmente, indivíduos normais, pois a probabilidade de o cônjuge normal ser heterozigoto, quando o gene é raro, é muito pequena.

6) A incidência de casamentos consanguíneos entre os genitores de indivíduos com a anomalia é mais alta do que a existente na população geral, pois os parentes consanguíneos próximos têm maior probabilidade de serem portadores dos mesmos alelos do que os indivíduos não consanguíneos.

A Figura 10.10 mostra um heredograma típico de genealogia que envolve uma anomalia recessiva autossômica.

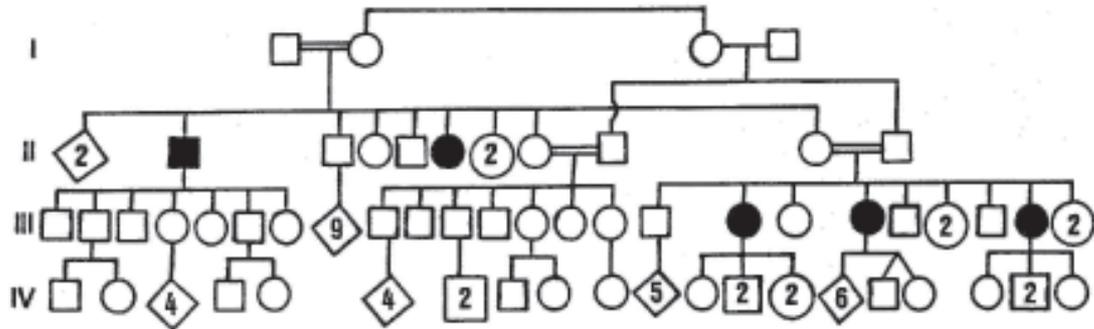


Figura 10.10: Heredograma de parte de uma genealogia com ocorrência de glaucoma juvenil recessivo (BEIGUELMAN E PRADO, 1963).

HERANÇA LIGADA AO SEXO

Embora exista um emparelhamento de partes homólogas entre as regiões distais superiores dos cromossomos X e Y, tal emparelhamento parece não permitir que haja trocas importantes de material genético entre esses dois cromossomos durante a meiose. Por esse motivo os caracteres condicionados por genes dos cromossomos X e Y são considerados completamente ligados ao sexo.

HERANÇA LIGADA AO SEXO MONOGÊNICA DOMINANTE SIMPLES

Podem-se enumerar da seguinte maneira os critérios para reconhecimento de herança completamente dominante das anomalias ligadas ao sexo:

1) Da mesma maneira que nos casos de herança dominante autossômica, o fenótipo dominante é transmitido de anômalo para anômalo sem saltar gerações.

2) A proporção de filhos anômalos e normais, bem como a razão de sexo entre os filhos anômalos, depende de ser o pai ou a mãe o transmissor da anomalia:

2.a) Mulheres com o fenótipo anômalo, casadas com homens normais, poderão ter filhos e filhas com a anomalia. A proporção, em cada sexo, de anômalos e normais, será de 1:1, como nos casos de herança autossômica dominante.

2.b) Diferentemente do que ocorre nos casos de herança autossômica dominante, mulheres com fenótipo normal, casadas com homens anômalos, terão todas as filhas anômalas, sendo os filhos sempre normais, visto que só a elas o homem transmite o cromossomo X.

3) Na população encontrar-se-ão, aproximadamente, duas vezes mais mulheres do que homens com o fenótipo anormal. A frequência p do gene A estimada a partir dos homens com a anomalia permitirá estimar a frequência das mulheres com a mesma anomalia, a partir de $p^2 + 2pq$. Sendo o gene A raro, p^2 tem valor praticamente nulo e, assim, a frequência de mulheres anômalas poderá ser estimada em $2pq$, isto é, o dobro da dos homens.

Na Figura 10.11. tem-se representado um heredograma de uma genealogia envolvendo a transmissão de um caráter ligado ao sexo com padrão de herança dominante.

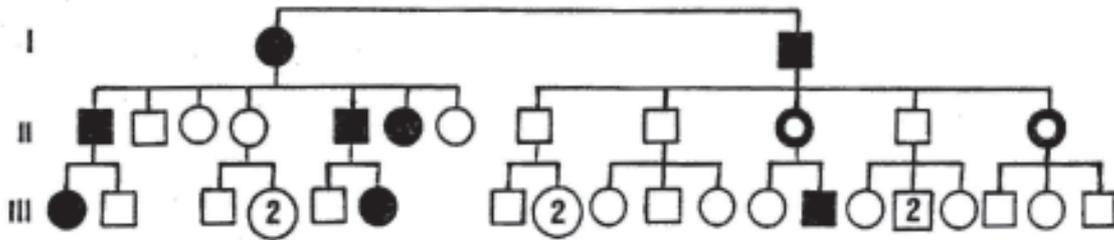


Figura 10.11: Heredograma de uma genealogia com ocorrência de raquitismo hipofosfatêmico: as mulheres afetadas podem apresentar raquitismo ou apenas níveis séricos baixos de fosfato (adaptado de Winters et al., 1958)

HERANÇA LIGADA AO SEXO MONOGÊNICA RECESSIVA SIMPLES

Os critérios para o reconhecimento de herança ligada ao sexo monogênica recessiva simples são os seguintes:

- 1) O fenótipo anômalo salta gerações.
- 2) Os homens com a anomalia geralmente não têm filhos anômalos. A presença de filhos anômalos de pai anômalo somente ocorre quando a mulher é heterozigota (portadora do gene da anomalia).
- 3) Os homens com a anomalia geralmente são filhos de mulheres sem a anomalia, as quais se supõe serem heterozigotas. Os homens afetados transmitem o gene responsável pela anomalia a seus netos por intermédio de suas filhas e são sempre consangüíneos entre si por intermédio das mulheres portadoras, mas nunca através de homens normais.
- 4) Nas irmandades de um homem anômalo, a proporção de irmãos do sexo masculino com e sem a anomalia é de 1:1.
- 5) As mulheres anômalas, quando ocorrem, são filhas de um casal onde o homem tem a anomalia e a mulher pode ou não tê-la, mas neste último caso será heterozigota.
- 6) Na população haverá mais homens do que mulheres anômalas, pois, se a frequência do gene a for q , tendo q valor muito pequeno, a probabilidade de encontrarmos mulheres com a anomalia (q^2) será extremamente baixa.

A Figura 10.12 mostra um heredograma de genealogia típica em que há ocorrência de hemofilia A (recessiva ligada ao sexo).

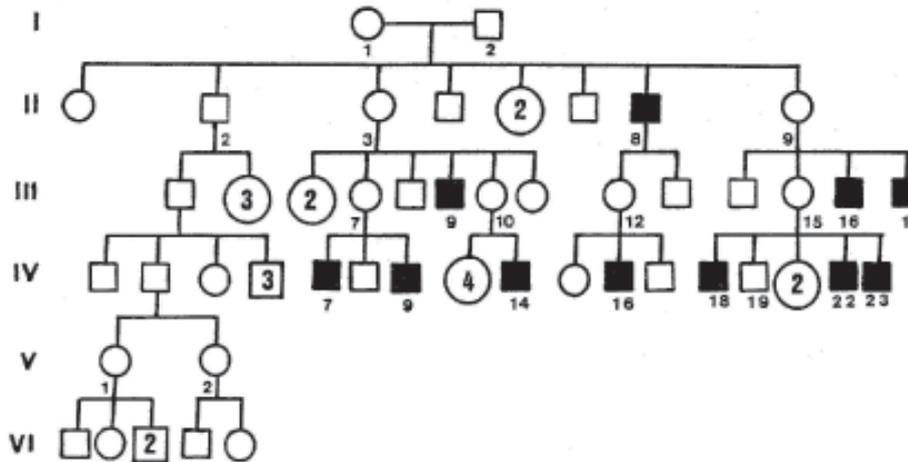


Figura 10.12: Hereditograma da genealogia dos descendentes da rainha Vitória da Inglaterra (I-1), com ocorrência de hemofilia A. (Adaptado de Beiguelman, 1981).

DOENÇAS MULTIFATORIAIS

Doença multifatorial é aquela em que são necessários vários fatores para sua determinação, seja mais que um par de alelos (determinação poligênica), vários fatores do ambiente ou a interação de vários genes com vários fatores do meio ambiente. Sabe-se que são geneticamente determinadas porque o risco de recorrência na irmandade é apreciável, mas nunca atinge a frequência de 25%. Um dos melhores exemplos desse grupo são os assim chamados defeitos de fusão do tubo neural. A probabilidade de um casal originar uma criança com esse defeito é da ordem de 1% entre os irlandeses e da ordem de 1/700 entre os brasileiros. Tanto um casal irlandês, quanto um brasileiro que já tiveram uma criança com defeito de fusão do tubo neural, terão um risco de recorrência em seus filhos da ordem de 4%. Se já tiveram dois filhos afetados, o risco de recorrência passará a ser 15%. A ministração de ácido fólico a essas famílias diminui em 72% a probabilidade de sua recorrência, indicando a interferência de fatores do meio ambiente, além dos genéticos (*ver capítulo 11 “Ácido Fólico na Prevenção dos Defeitos de Fechamento de Tubo Neural”*).

ANAMNESE FAMILIAL

Um casal que tem um filho anterior ou sobrinho com malformações ou comprometimento intelectual é tomado de profunda ansiedade frente a uma nova gravidez. Essa ansiedade é, geralmente, decorrente da falta de informações a respeito da etiologia e do risco de repetição da anomalia em questão. O fornecimento de informações superficiais do tipo “nunca atendi casais com repetição desse problema”, “um raio nunca cai duas vezes no mesmo lugar” etc., deve ser evitado, porque gera maior insegurança e leva, frequentemente, o casal a procurar outro obstetra. Uma anamnese pormenorizada sobre esse filho ou parente com a anomalia fará com que se estreite a relação médico-paciente, porque demonstrará a preocupação do obstetra com o problema e permitirá que seja feita a investigação e(ou) prevenção do problema.

Pode parecer ao obstetra que a frequência de afluxo desses casais seja baixa, ou que o risco de recorrência daquela anomalia seja praticamente nulo, mas, estatísticas recentes chegam a citar 16% de recém-nascidos com algum defeito ao nascimento sendo que 7% apresentam alterações de órgãos ou funções que necessitam de cuidados especiais. Tais valores permitem concluir que um em cada sete nascimentos pode apresentar alguma alteração digna de nota. Outra conclusão não menos importante é a de que a anamnese familiar da maioria das pacientes mostrará um ou mais casos de doenças geneticamente determinadas, que terão maior importância quanto mais próximo for o grau de parentesco consanguíneo com a paciente da qual estamos tomando a história.

Se um casal já tem uma criança com alguma alteração física e(ou) mental, dever-se-á exaurir todas as hipóteses de herança e risco de recorrência antes de atribuir-se “risco praticamente zero de repetição”. Deve-se lembrar que as crianças que já são portadoras de grave deficiência ao nascimento apresentam mais frequentemente “sofrimento peri-natal”. Não se pode permitir, nos dias atuais, que um comprometimento intelectual grave seja atribuído simplesmente a um sofrimento perinatal, sem um estudo mais profundo da criança, tanto do ponto de vista neurológico quanto genético (bioquímico e/ou cromossômico).

Não raras são as situações em que o casal teve uma criança “síndromica” a respeito da qual um bom geneticista ou pediatra fez uma determinada hipótese diagnóstica já no seu primeiro mês de vida. Essa “hipótese” para a família passa a ser, frequentemente, uma afirmação taxativa de certa “síndrome”, esquecendo-se tanto os familiares quanto o obstetra de que existe no final do relatório a observação de que deve haver um retorno para reavaliação. De fato, inúmeros são os exemplos de que, durante a evolução, o diagnóstico anterior pode ser mudado. Exemplos dessa situação são aquelas síndromes que deveriam estar associadas a retardamento mental e que, após o primeiro ou segundo ano de vida, constata-se normalidade mental e do desenvolvimento neuropsicomotor. Outro argumento extremamente importante para que se faça nova avaliação da criança com alguma alteração é a de que novos subgrupos de cada síndrome e novas metodologias diagnósticas são incrementadas a cada dia na genética moderna, à custa de novos aparelhos e da rápida expansão da biologia molecular.

Se um filho anterior do casal apresentar sinais característicos de uma anomalia genética ou se surgirem novas técnicas bioquímicas, imunológicas ou citogenéticas para estabelecimento do diagnóstico de uma doença específica, o médico deverá estar atento à pesquisa desses sinais em fases iniciais da gestação, utilizando uma propedêutica armada que envolve não somente a ultrassonografia, o eletrocardiograma fetal e até mesmo a ressonância magnética, além, naturalmente, das reações sorológicas e bioquímicas maternas ou em material procedente do feto.

Um casal que já tenha uma criança com fenilcetonúria (doença recessiva autossômica) está sob risco de 25% de ter outra criança afetada, enquanto que na população geral esse risco é em torno de 1/15600. Um irmão de uma criança com essa aminoacidopatia casado com uma mulher não aparentada tem probabilidade 1/360 de gerar um filho com fenilcetonúria. Deve-se lembrar que os parentes consanguíneos em primeiro grau do casal como é o caso de seus irmãos ou de seus pais têm cerca de 25% de genes em comum com os filhos desse casal. Isso serve para reforçar o conceito de que a informação sobre a

existência de uma criança com malformação ou com comprometimento intelectual terá uma importância tanto maior quanto mais próximo for o seu grau de parentesco consanguíneo com o casal que está sendo consultado.

Pacientes afetadas com certas doenças genéticas podem causar sérios problemas aos seus fetos ou alterar o decurso de uma gravidez, razão pela qual o obstetra deverá estar ciente de suas implicações. A fenilcetonúria é, novamente, um bom exemplo dessa situação. Com o diagnóstico obrigatório ao nascimento por lei nacional, estão sendo detectados vários pacientes com essa doença, os quais usufruem dos benefícios de seu tratamento com dieta pobre em fenilalanina até a idade de seis a oito anos. Após essa idade o tratamento pode ser descontinuado, uma vez que não haverá mais risco de lesão cerebral por hiperfenilalaninemia. Por outro lado, as mulheres fenilcetonúricas, quando engravidarem, deverão ser submetidas novamente à dieta restritiva daquele aminoácido porque o seu acúmulo afetará o feto, que, nesse caso, apresentará um comprometimento intelectual.

Outro exemplo, agora de doença com herança dominante autossômica, é a distrofia miotônica. Esta doença pode, além de causar problemas de fertilidade, causar complicações obstétricas como poli-hidramnia, parto prematuro, atonia uterina e hemorragia pós-parto. Se o feto for portador do gene poderá ter morte neonatal por miotonia congênita. Hoje, felizmente, já existem exames de DNA para diagnóstico precoce do feto portador dessa doença. Os estados heterozigóticos da beta-talassemia constituem mais um exemplo de mulheres heterozigotas que, durante a gestação, necessitam de cuidados especiais, pois apresentam uma descompensação dessa branda anemia. Até há bem pouco tempo, vários obstetras indicavam a transfusão sanguínea como terapêutica dessa anemia durante a gravidez. Atualmente, tem sido preconizada a terapêutica com ácido fólico, se não houver deficiência de ferro concomitante.

Algumas doenças dominantes transmitidas pelo genitor podem ter implicações sérias para a decisão do tipo de parto. Exemplos disso são as disostoses cranianas que podem causar desproporção céfalo-pélvica e a osteogênese imperfeita, cujo parto normal pode acarretar sérias fraturas.

Esses exemplos servem para demonstrar que a anamnese familiar feita pelo obstetra deverá abranger perguntas sobre o casal e seus familiares portadores de anomalias congênitas, retardamento mental, doenças gênicas ou aqueles em que se suspeita haver um componente genético. Se houver a presença de qualquer suspeita nesse sentido, esse casal deve ser encaminhado a um serviço de Genética para Aconselhamento Genético Clínico.

ACONSELHAMENTO GENÉTICO

O aconselhamento genético pode ser definido como um processo de comunicação sobre o risco de ocorrência ou recorrência familiar de anomalias genéticas, com as finalidades de fornecer a indivíduos ou famílias:

1. Ampla compreensão de todas as implicações relacionadas às doenças genéticas em discussão;
2. As opções que a medicina atual oferece para a terapêutica ou para a diminuição dos riscos de ocorrência ou recorrência da doença genética em questão, isto é, para a sua profilaxia;

3. Eventual apoio psicoterapêutico.

Nessa definição é fácil vislumbrar que uma das metas prioritárias do aconselhamento genético é ajudar famílias que estão ou que supõe estar sob risco de ocorrência ou recorrência de defeitos genéticos, a tomar decisões racionais quanto à procriação. O aconselhamento genético é feito de modo não diretivo com a finalidade de defender o bem-estar de indivíduos ou de famílias, ajudando-os a resolver problemas de natureza genética, tentando esclarecer-lhe dúvidas e diminuindo ou evitando sofrimentos e preocupações. Ao contrário dos princípios eugênicos, os do aconselhamento genético visam, pois, primordialmente, a defesa dos interesses dos indivíduos e famílias, e não os da sociedade.

Para tornar bem clara essa diferença de princípios, consideremos o exemplo de dois casais igualmente jovens, com educação universitária, constituídos por mulheres normais e maridos cegos, em decorrência de uma heredopatia impossível de ser tratada e com transmissão autossômica dominante. Consideremos, ainda, que durante o processo de aconselhamento genético que esses casais procuraram, cada um deles ficou perfeitamente consciente de que ocorre um risco de 50% de gerar uma criança com a mesma deficiência visual do marido e que, no momento, não existem possibilidades terapêuticas para a mesma.

Um dos casais pode tomar a decisão de não ter filhos porque julga que essa conduta lhe evitará, e à sua prole, sofrimento e preocupações. O outro pode decidir-se a ter filhos porque o marido se considera uma pessoa feliz e útil, o mesmo ocorrendo com sua esposa, e desdenham o alto risco de gerar uma criança cega, achando que ela poderá ser tão feliz e útil quanto o marido.

É evidente que o aconselhamento genético dos dois casais atingiu seu objetivo, apesar de o primeiro optar por uma medida eugênica e o segundo por uma medida disgênica, pois ambos tiveram ampla compreensão de todas as implicações relacionadas ao defeito genético em questão, e a sua decisão a respeito da procriação foi tomada de modo racional (*ver capítulo 3 "Anamnese, Exame Clínico Dirigido, Parâmetros Antropométrico dos Desvios Fenóticos"*).

A biologia molecular vem trazendo um enorme benefício para o aconselhamento genético pela precisão diagnóstica que ela propicia. Com o mapeamento do genoma humano, previsto para estar completo no final do século, será possível diagnosticar qualquer uma das 6000 doenças citadas por McKusick (1992). Por esse motivo, nenhum casal sob risco de gerar uma criança com alguma anomalia genética deverá ser aconselhado, no momento, a métodos contraceptivos irreversíveis. Se esse casal já tiver alguém afetado na família, será importante que se tenha algum material desse caso índice, para que se possa determinar a mutação e tornar viável e mais fácil o diagnóstico pré-natal ou pré-implantação.

Quando estamos frente a uma gestação cujo produto conceptual faleceu no período perinatal, seja por prematuridade ou não, com ou sem malformações, é extremamente importante o estabelecimento do diagnóstico da doença causadora do óbito, para que se estabeleça um correto aconselhamento genético. Raras são as situações em que o feto chega a viver algumas horas e que pode ser atendido por um berçarista com boa experiência em sindromologia. Mesmo os casos com diagnóstico de certeza, deverão ter uma amostra de seu material colhido e conservado para diagnóstico molecular. Por esse motivo, enumeramos, a seguir, algumas condutas que são de grande ajuda para um diagnóstico posterior.

- 1) Obtenção de sangue fetal com seringa heparinizada. Esse sangue pode ser obtido por punção do seio venoso ou cardíaco, logo após ou decorridas algumas horas do óbito fetal, e deve ser enviado na própria seringa que serviu para a coleta para evitar contaminação. Tal sangue deve chegar ao laboratório de citogenética em até 48 horas. Manter refrigerado, mas não congelar;
- 2) No caso de diagnóstico molecular (DNA) o material deve ser coletado com EDTA (tubo de vacutainer de tampa roxa).Esse material se conserva vários dias à temperatura ambiente , ou vários anos se congelado. O mesmo é verdadeiro para biópsia de tecido ou órgão. O material não deve ser colocado em formol para evitar a degradação do DNA ou heparina, que interfere com a reação em cadeia da polimerase(PCR);
- 3) Biópsia de rim ou pulmão ($\pm 1 \text{ cm}^3$ em frasco estéril sem nenhum conservante) ou de fascia lata da musculatura abdominal ou da coxa. Manter refrigerado, mas não congelar se for para cultura de células ou citogenética;
- 4) Amostra de plasma ou soro. Centrifugar em tubo descartável, e transferir o soro para um frasco limpo, de preferência estéril. O soro pode e deve ser congelado para conservação;
- 5) Fotos de corpo inteiro de frente, costas e perfil, além de foto detalhada do rosto;
- 6) Rx do esqueleto;
- 7) Necrópsia macroscópica e microscópica de órgãos internos, com descrição pormenorizada.

Se no hospital onde ocorreu o óbito perinatal houver o concurso de um geneticista ou de um berçarista especializado em sindromologia, ele deve ser consultado. Se não for possível a pesquisa de todos os itens acima discriminados, deve-se tentar obter a maior parte deles para que num futuro próximo os genitores possam receber o aconselhamento genético mais apropriado.

CONSANGUINIDADE

Pela própria estrutura social da espécie humana, a consangüinidade foi e ainda é um dos fatores que favorecem indiretamente a evolução de nossa espécie. Em tempos antigos as crianças deficientes, resultantes de genes recessivos presentes em um ancestral comum a dois cônjuges, estavam sujeitas a rápida eliminação por seleção natural. Hoje, com os novos recursos médicos, bioquímicos e biofísicos, essas crianças passaram a ter sobrevivência mais longa e, por vezes, normal. Mas, resta ainda um grande número que acarreta enorme desgaste

financeiro e psicológico para sua família, mormente quando não se tem à mão uma terapêutica corretiva ou curativa.

Quando estamos frente a um casal consanguíneo, qual será nossa conduta? O que se pode fazer? O que deve ser explicado e quais os recursos à disposição? Qual o aconselhamento a ser dado?

Para responder a essas perguntas, existe a necessidade de se explicar ao casal alguns conceitos simples, mas importantes sobre a origem comum de seus genes. Cada um de nós é portador de 3 a 5 equivalentes letais, isto é, genes com efeito letal quando em homozigose ou um conjunto de genes que podem, cada qual, determinar a morte de uma certa proporção de homozigotos e que, se distribuídos em homozigose em diferentes indivíduos, teriam o efeito global de um letal. Além dos equivalentes letais, cada ser humano ainda possui, em média, três equivalentes detrimenais, isto é, genes que produzem anomalias, mas que não são avaliados pela mortalidade. Empiricamente já se observa que entre casais consanguíneos existe uma alta probabilidade de gerar doenças recessivas autossômicas, probabilidade essa tanto maior quanto mais próximo for o grau de parentesco. A Tabela 10.1 fornece os riscos calculados pela fórmula de Morton a respeito dos riscos adicionais de aparecimento de doenças recessivas autossômicas, de acordo com o grau de consanguinidade, em comparação com o risco corrido por filhos de casais não-consanguíneos. Estes riscos correspondem muito aproximadamente ao que é observado na prática.

Tabela 10.1: RISCO ADICIONAL DE DOENÇAS RECESSIVAS AUTOSSÔMICAS EM FILHOS DE CASAIS COM DIFERENTES GRAUS DE CONSANGUINIDADE COMPARADO AO DE FILHOS DE CASAIS NÃO-CONSANGUÍNEOS	
Irmãos, pai x filha	32%
Tio x sobrinha	18%
Primos duplos em primeiro grau	18%
Meio irmãos	18%
Primos em primeiro grau	9%
Tio x meia sobrinha	9%
Primos em segundo grau	5%
Primos em terceiro grau	2,5%

Tomemos, novamente, por exemplo a fenilcetonúria, cuja frequência na cidade de São Paulo é da ordem de 1/15600. Sua frequência em filhos de primos em primeiro grau pode ser estimada em 1/2000, ou seja 7,5 vezes superior (Figura 10.13) à observada na população geral.

$aa = q^2 = 1/15600$ $q = \sqrt{q^2} = 1/125$ frequência do gene a
 $Aa = 2pq = 2 \times 1/125 \times 124/125 = 1/62,5 =$ probabilidade de qualquer pessoa ser heterozigota

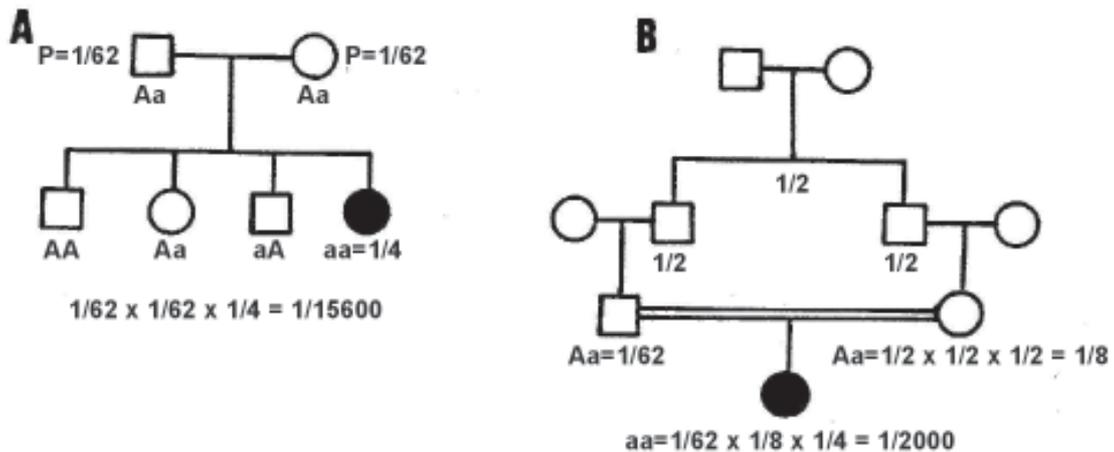


Figura 10.13: A. Probabilidade de um casal não-consangüíneo gerar uma criança com fenilcetonúria; B. Probabilidade de primos em primeiro grau gerarem filhos com fenilcetonúria.

Pela figura acima fica fácil perceber que sendo o marido (primo) heterozigoto (probabilidade = $1/62,5$) ele pode ter herdado o gene de seu pai ou de sua mãe com igual probabilidade ($1/2$). Se ele o herdou de seu pai seguramente um dos avôs o possui. Para transmiti-lo à sua neta (esposa do primo) esse avô(ô) terá que transmitir ao filho (probabilidade $1/2$) e à neta (probabilidade $1/2$). Assim, a probabilidade de ambos herdarem o gene da fenilcetonúria por origem comum será $1/62,5 \times 1/2 \times 1/2 \times 1/2 = 1/500$ e de ambos transmitirem o gene recessivo ao filho será $1/4 \times 1/500$ ou seja $1/2000$.

Mas, diante de cerca de 1700 genes causadores de doenças recessivas autossômicas, como poderemos conhecer aqueles com potencial de causar alguma deficiência importante? Não existe, até o momento, um método de triagem para todas as doenças recessivas. Existem apenas para algumas doenças de maior prevalência em certos grupos raciais, como veremos adiante. O que poderemos fazer para ajudar um casal consangüíneo que busca aconselhamento? Essas 1700 doenças podem ser juntadas em dois grandes grupos: aquelas que causam malformações (graves ou não) detectáveis no primeiro ou segundo trimestre de gestação através do perfil anatômico-funcional fetal, com a utilização dos novos aparelhos de ultrassonografia (vide adiante) e aquelas que causam alterações fisiológicas, metabólicas ou hormonais fetais e cujo diagnóstico só pode ser estabelecido após o nascimento. Com isso, poderíamos, através desse perfil, feito na décima quinta, décima nona e vigésima terceira semanas de gestação, detectar numerosas malformações oriundas de genes recessivos herdados de um ancestral comum. Quanto às alterações metabólicas, elas devem ser pesquisadas no recém-nascido aos 40 dias através de bateria de triagem de erros inatos do metabolismo na urina e(ou) cromatografia de aminoácidos e

açúcares na urina e(ou) sangue além, naturalmente, de bateria para doenças de depósito, quando a criança apresentar hepatomegalia ou grande involução neuropsicomotora.

Contudo, se um casal consanguíneo já tiver uma criança com doença gênica recessiva autossômica, seja ela uma malformação ou alguma deficiência enzimática, o risco de recorrência passará a ser 25% para essa doença. Deve-se assinalar a importância do diagnóstico correto para que, com o uso dos diagnósticos precisos oferecidos pela biologia molecular, se possa oferecer a prevenção através do diagnóstico pré-natal específico.

Muitos casais consanguíneos são encaminhados ao geneticista para diagnóstico pré-natal com o objetivo de se obter o cariótipo fetal. Essa indicação carece de fundamento clínico, embora o casal consanguíneo, diante do risco já grande de alterações devido a consanguinidade, possa, pelo menos, afastar aquelas para as quais existe um método geral de triagem, que é a cariotipagem do feto. Com isso, eles poderiam afastar o risco de 0,56% de aberrações cromossômicas a que todo casal está sujeito. Nessa situação, dever-se-á indicar a coleta de células fetais por volta da décima quinta semana. Se não conhecermos especificamente os genes recessivos aos quais o casal está sujeito, está contraindicada a punção de vilosidades coriônicas porque, sendo maior o risco para genes recessivos do que para aberrações cromossômicas, será muito constrangedor o diagnóstico de normalidade citogenética e, mais tarde, diagnosticar pelo ultrassom uma séria malformação congênita.

Finalmente, em relação à consanguinidade, deve-se assinalar a importância de, na anamnese obstétrica de qualquer casal, obtermos informação sobre a cidade de nascimento tanto dos cônjuges, quanto de seus pais. Isso porque é muito frequente encontrarmos casais em que seus ascendentes viveram em uma mesma pequena cidade isolada geograficamente ou com pequeno número de habitantes, o que aumenta o coeficiente médio de endocruzamento da população. Muitas vezes o próprio casal desconhece a existência de consanguinidade por viverem afastados do pequeno local de origem, mas o médico deve considerar essa possibilidade e abordar sua gestação com todos os cuidados como se o casal fosse consanguíneo.

GRUPOS RACIAIS

A Tabela 10.2 mostra que certos grupos humanos pertencentes a isolados raciais, geográficos ou religiosos têm uma frequência maior de determinados genes. Assim o gene da anemia falciforme é muito comum entre os negróides entre os quais, no Brasil, a frequência de heterozigotos é da ordem de 8%. A probabilidade de dois indivíduos negróides, não aparentados, possuírem esse gene será, pois, igual a $0,08 \times 0,08 = 0,0064$ ou 6,4 por mil, ou seja, um entre cada 150 casais de negróides terá um risco de 25% de gerar uma criança com homozigose desse gene. Embora tal situação no Brasil tenda a diminuir pela crescente miscigenação, alguns grupos raciais ainda mantêm uma tradição de casamento somente entre seus pares. A tabela abaixo chama a atenção sobre

Tabela 10.2: ALGUNS GRUPOS ÉTNICOS E ALTERAÇÕES GÊNICAS MAIS FREQUENTES NELES ENCONTRADAS	
GRUPO ÉTNICO	ALTERAÇÃO GÊNICA
Caucasóides em geral	Fibrose cística
Chineses	Talassemia alfa, deficiência de G-6PD
Esquimós	Síndrome adrenogenital
Ingleses, Irlandeses, Egípcios	Defeitos de fusão do tubo neural
Italianos, Gregos	Talassemia beta, deficiência de G-6PD, febre familiar do Mediterrâneo
Japoneses	Acatasia
Judeus asquenazitas	Doença de Tay-Sachs, doença de Niemann-Pieck
Negróides em geral	Hemoglobinas S e C, persistência de hemoglobina fetal, talassemia alfa, deficiência de G-6PD
Sul-africanos brancos	Porfiria variegada

alguns desses grupos relacionando-os com as alterações gênicas mais frequentemente observadas e cujo diagnóstico de heterozigose pode ser, na maior parte das vezes, realizado.

CASAI S COM PROBLEMAS DE FERTILIDADE

Como já assinalamos anteriormente, as aberrações cromossômicas são, sem dúvida, as alterações patológicas mais frequentes nos abortos humanos e muito comuns nos recém-nascidos. A ocorrência de um aborto espontâneo gera, frequentemente, grande ansiedade no casal e uma explicação para esse fato, pelo seu médico, é capaz de amenizar mas não exaurir a angústia decorrente do mesmo. Por ser acontecimento corriqueiro dentro da obstetrícia, uma grande parte dos médicos não se atém a uma explicação detalhada ao casal, razão pela qual, no segundo aborto, as pacientes frequentemente mudam de facultativo.

Creemos ser de suma importância, já no primeiro aborto, que seja explicado ao casal a alta porcentagem dessa perda na espécie humana (da ordem de 15%) e que o risco de recorrência de um segundo aborto estaria em torno de 23% e que para um terceiro aborto tal risco cresceria para 26%, aumentando muito pouco dali por diante. Essa observação empírica deve vir acompanhada da explicação de que os abortos, em sua maior parte (60%), são portadores de uma aberração cromossômica e que a seleção natural opera de modo a propiciar o nascimento predominante de crianças sadias. Deve-se lembrar que de cada cinco crianças concebidas com a síndrome de Down, apenas uma nasce e que apenas uma em 1000 meninas concebidas com a síndrome de Turner atinge o nascimento. A maior parte dos abortos com aberrações cromossômicas ocorre no primeiro trimestre da gestação, enquanto os cromossomicamente normais predominam no segundo trimestre. Isto não exclui o estudo cromossômico após o primeiro trimestre, uma vez que as perdas gestacionais superiores a 20 semanas mostram

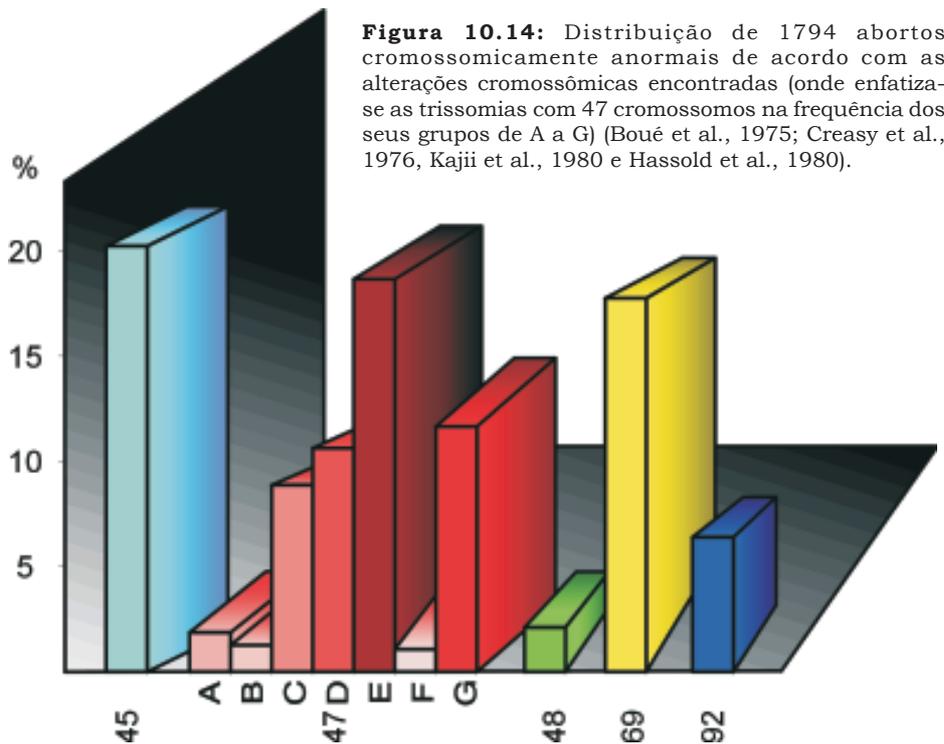


Figura 10.14: Distribuição de 1794 abortos cromossomicamente anormais de acordo com as alterações cromossômicas encontradas (onde enfatiza-se as trissomias com 47 cromossomos na frequência dos seus grupos de A a G) (Boué et al., 1975; Creasy et al., 1976, Kajii et al., 1980 e Hassold et al., 1980).

12% de aberrações cromossômicas.

A Figura 10.14 mostra a distribuição de aberrações cromossômicas em 1794 abortos.

Por ela pode-se notar que à medida que os cromossomos se tornam menores, maior é a frequência das trissomias. Nota-se, ainda, que o grupo cromossômico F tem baixa frequência talvez devido à importância de genes que atuam no período pré-embriônico, devendo o mesmo ser verdadeiro para os cromossomos grandes, que têm maior probabilidade de contê-los. De fato, a trissomia 1 não estava presente na amostra desses autores e sua descrição só foi possível após os estudos de fertilização assistida.

A trissomia do cromossomo 16 é a que tem maior frequência dentre as detectadas na espécie humana e responsável pela prevalência do grupo E. É em grande parte responsável pelos assim chamados “ovos anembrionados, cujo embrião quando detectado, nunca atinge tamanho superior a 1 mm. As triploidias devem ser lembradas não só por terem uma frequência superior a 1% de todas as gestações como, também, porque podem ocorrer como pseudo-mola por mostrarem dilatação em grande parte das vilosidades. Distinguem-se da mola verdadeira por possuírem feto e terem cariótipo triplóide ao passo que a mola verdadeira, além de não possuir feto tem, na maioria das vezes, constituição 46,XX, sendo ambos complementos cromossômicos de origem paterna.

A altíssima frequência de monossomia X, cerca de 2% de todas as gravidezes, deve ser explicada pela baixa influência que esse cromossomo deve exercer na embriogênese. Apesar de ter uma seleção extremamente alta (99,7%, segundo Schinzel, 1984), ela é encontrada com grande frequência nos acompanhamentos ultrassonográficos gestacionais por permitir uma sobrevivência fetal relativamente longa.

É interessante assinalar que o aumento da taxa de abortos está

positivamente correlacionado à idade materna, sendo tanto maior quanto mais precoce for a idade gestacional. Os dados de Gustavii (1984) permitem estabelecer, a partir de abortos clinicamente detectados, o gráfico da Figura 10.15. Tal gráfico mostra, por coeficiente de correlação semelhante a 1, que no momento da fecundação a porcentagem de abortos espontâneos pode atingir até 70% em mulheres com mais de 40 anos. Este dado é de suma importância para explicar o porquê do relativo insucesso de gestantes idosas, bem como os poucos resultados de fertilização assistida em mulheres de faixa etária beirando a menopausa, além, é claro, da baixa resposta hormonal à indução da ovulação.

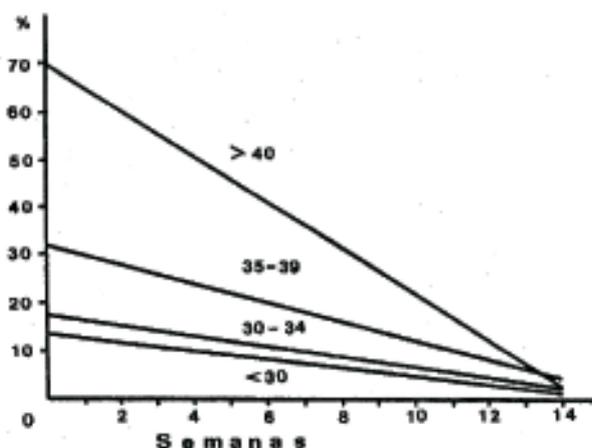


Figura 10.15: Correlação entre a idade materna e perda fetal em diferentes semanas da gestação de acordo com os dados extraídos de Gustavii, 1984.

Esse aumento da taxa de abortos com a idade está, também, positivamente correlacionado ao aumento das trissomias, cuja frequência pode aumentar cerca de vinte vezes após os 40 anos.

A importância da cariotipagem em abortos espontâneos recorrentes é assinalada no trabalho de Jacobs (1977), que demonstrou uma alta correlação entre a constituição cromossômica de dois abortos consecutivos: se o primeiro for cromossomicamente normal, o segundo terá grande probabilidade de também o ser e se o primeiro for cromossomicamente anormal ocorre, muito frequentemente, o mesmo com o segundo aborto espontâneo. Além disso, se de um casal resultarem abortos cromossomicamente anormais, não se deve atribuir a fatores imunológicos a origem de sua infertilidade.

Diferentemente dos casais com um ou dois abortos, torna-se importante o estudo do cariótipo de casais com abortamento habitual. Isso porque se sabe que esses casais têm alta probabilidade de serem portadores de translocações equilibradas estando sujeitos a risco da ordem de 75% de transmitir essa translocação. Um exemplo dessa situação pode ser documentado pelos casos de translocação de todo um cromossomo 14 sobre um cromossomo 15, possuindo portanto o portador dessa translocação apenas 45 cromossomos. Do mesmo modo que a translocação D/G vista anteriormente, esse portador pode transmitir gametas com os 23 cromossomos normais, gametas com 22 cromossomos o qual contém a translocação 14/15 em equilíbrio, gametas com 22 cromossomos

em que falta o cromossomo 14 e gametas com 23 cromossomos com o cromossomo 14 translocado sobre o 15 além do cromossomos 14 normal. Nas duas primeiras situações haverá o nascimento de crianças normais e nas duas últimas apenas abortos.

Como, dentre os casais com abortamento habitual, existe probabilidade de 7,2% do encontro de uma translocação equilibrada em um dos genitores, translocação essa que pode envolver qualquer par cromossômico, a indicação do cariótipo do casal se faz mandatória. Se o casal tiver, além dos abortos, algum feto malformado, ou que faleceu nas primeiras semanas de vida devido a malformações, a probabilidade de se detectar uma translocação cromossômica equilibrada em um dos genitores passa a 16,7%. O encontro de uma translocação em um dos genitores não implica que, obrigatoriamente, o casal tem um risco de gerar nascituros com translocação desequilibrada (e portanto com quadro clínico grave). Pelo contrário, quando se tria a aberração a partir de casais com abortamento habitual, o risco é bem mais baixo do que quando tais casais são triados a partir de um feto malformado com translocação cromossômica em desequilíbrio. Isso porque, nos casais triados por abortos, o material translocado possui genes mais importantes ou em maior número, que não permitem que o feto se desenvolva até o nascimento.

De qualquer modo, nos casais com abortos recorrentes com translocações deve-se tomar a cautela de analisar se tal translocação em desequilíbrio permite o nascimento do feto com desequilíbrio cromossômico. Se permitir deve-se indicar o diagnóstico pré-natal o mais precocemente possível, por células de vilosidades coriônicas ou por amniócitos obtidos por punção precoce de líquido amniótico.

Nos casais com aberrações cromossômicas que, provavelmente, não permitem continuidade natural da gravidez e naqueles com cariótipo normal, deve-se sugerir a punção amniótica porque, se passar o período crítico em que o casal abortou anteriormente, o feto deverá ter normalidade funcional dos cromossomos. Nos casais com cariótipo normal deve-se evitar os exames precoces para evitar que o método de punção seja um fator codeterminante do aborto.

FERTILIZAÇÃO ASSISTIDA

Com a crescente expansão dos serviços de fertilização assistida, as indicações de um estudo cromossômico dos cônjuges passou a ser aplicada para várias situações.

A primeira delas é referente aos casais com esterilidade sem causa aparente, os quais podem ser encarados como se tivessem repetição de abortamento em períodos bem precoces, abortos esses, tão precoces, que não seriam clinicamente detectados por ocorrerem antes da próxima menstruação.

Uma segunda situação diz respeito aos casos em que a mulher já se submeteu à transferência de vários pré-embriões e na qual não houve implantação de embriões clinicamente detectáveis. Essa falta de nidificação poderá ser equivalente ao abortamento habitual.

Uma terceira indicação de cariotipagem é inerente a casais que foram submetidos a vários ciclos de fertilização assistida para fecundação in vitro de óvulos maduros por espermatozoides classificados como bons, mas que apresentaram baixo índice de formação de pré-embriões.

Os maridos com azoospermia, oligospermia e(ou) que referem repetição de abortamento em sua família também merecem a indicação de cariotipagem.

Apesar de a frequência dos portadores de translocação equilibrada na espécie humana ser baixa e da ordem de 1/500, deve-se recomendar a cariotipagem de todo(a) doador(a) de gametas. Isso porque um serviço que tenha um banco de esperma poderá fornecer o sêmen de um mesmo doador a várias receptoras de diferentes localidades. Além de tal sêmen propiciar a ocorrência de abortos, poderá determinar o nascimento de crianças com malformações decorrente dessa translocação desequilibrada.

Com o advento da micromanipulação de gametas e da inseminação do espermatozóide dentro do citoplasma do óvulo (ICSI), está sendo possível a reprodução de indivíduos com oligospermia grave. Nessa situação se encontra a hipoplasia ou agenesia do conduto deferente. Sabe-se que um bom percentual desses indivíduos são heterozigotos ou mesmo homozigotos de uma ou duas mutações do gene da fibrose cística (mucoviscidose). Como a frequência de heterozigotos na população caucasóide é relativamente alta (1/25) deve-se realizar a pesquisa de mutações desse gene no marido e sendo encontrada uma mutação, a pesquisa deve ser estendida a esposa. Se ambos forem portadores de mutações, poderão realizar o diagnóstico pré-implantação com a biópsia de embrião, isto é, poder-se-á estabelecer o diagnóstico com uma única célula!

DIAGNÓSTICO PRÉ-NATAL DE DOENÇAS GENÉTICAS

O diagnóstico pré-natal de doenças genéticas é ainda um procedimento relativamente caro e cresceu rapidamente devido à interação estreita do uso da ultrassonografia e dos métodos laboratoriais básicos da Genética. Ambos propiciaram a invasão do ninho fetal, por meio da qual tornou-se possível obter material do produto gestacional e, assim, proceder a diagnósticos cada vez mais precisos. Com o aprimoramento dessas técnicas, a Medicina pôde desenvolver métodos de tratamento intra-útero e de correções fetais, conduzindo a esse novo e promissor campo, que foi denominado Medicina Fetal.

As técnicas utilizadas para o diagnóstico pré-natal podem ser reunidas em seis grandes grupos:

- 1- Diagnóstico ultra-sonográfico;
- 2- Estudos através do sangue materno;
- 3- Rastreamento bioquímico e biofísico e translucência nugal;
- 4- Punção de vilosidades coriônicas;
- 5- Punção amniótica;
- 6- Cordocentese;
- 7- Fetoscopia.

DIAGNÓSTICO ULTRA-SONOGRÁFICO

O avanço técnico dos aparelhos de ultrassonografia fornece hoje uma resolução extremamente refinada para o diagnóstico de anomalias fetais. Essa resolução permite que as medidas anatômicas fetais sejam determinadas a cada semana de gestação e, conseqüentemente, que se estime a idade fetal e se pesquise

a presença de todas as estruturas anatômicas. Qualquer desarmonia de crescimento de órgãos, regiões fetais ou mesmo atraso no seu desenvolvimento é facilmente visualizado. As malformações fetais passaram a ter os seus sinais específicos e, em menos de uma década, a ultrassonografia fetal ficou tão minuciosa que passou a demandar do médico que a execute uma sistemática extremamente rigorosa. Vários aspectos fisiológicos são hoje parte dessa rotina, como a presença de líquido no estômago e na bexiga, que atestam a higidez do trato gastro-esofágico e o funcionamento renal, respectivamente. A quantidade de líquido amniótico também faz parte dessa avaliação, por estar aumentado em lesões do trato gastro-esofágico e diminuído no mau funcionamento do aparelho gênito-urinário.

A visualização fetal considerada outrora, por alguns, como um luxo obstétrico, é hoje parte da rotina com que o médico conta para assegurar à sua paciente o bem estar fetal. Para que essa segurança seja transmitida, é necessário que tal exame seja feito em vários períodos da gravidez, de modo a permitir diferentes diagnósticos de acordo com a época do aparecimento de seus primeiros sinais. Por exemplo, os defeitos de fusão do tubo neural poderão ser detectados a partir da décima primeira semana de gestação, se for utilizado um transdutor vaginal; o funcionamento da bexiga entre dezoito e vinte semanas; o perfil dos lábios, que possibilitam o diagnóstico de fendas labiais, a partir da vigésima semana; a defasagem do crescimento do fêmur nos diferentes nanismos, através de exames seqüenciais, a partir de doze semanas; a hidrocefalia, a partir das quatorze semanas, e a microcefalia, por diferentes avaliações, dependendo da época e da etiologia para ela se manifestar.

Não se pode admitir nos dias de hoje que somente após o nascimento se diagnostiquem malformações que poderiam ser detectadas durante a gestação pelo ultrassom, como, por exemplo, a ausência de dedos, de mãos ou até de membros. Exames ultrassonográficos bem feitos são capazes de diagnosticar grande parte das malformações e, por esse motivo, não é de estranhar que os programas de monitorização de malformações congênicas devam assinalar nos próximos anos decréscimo acentuado de nascimento de fetos com malformações múltiplas. Isto porque é a ultrassonografia que mais diagnostica malformações congênicas. Crianças com anomalias graves como a anencefalia, grandes mielomeningoceles e alterações sérias da anatomia fetal não chegarão, pois, a nascer porque gestações com essas alterações serão interrompidas eticamente em fases precoces.

A ultrassonografia obstétrica é, indiscutivelmente, aquela que mais diagnostica, em frequência e em número, tanto doenças genéticas quanto não-genéticas e, por esse motivo, aliado ao seu baixo custo e à sua característica não invasiva, deve ser incentivada e priorizada no diagnóstico pré-natal. Se bem feita e rotineiramente indicada ela é capaz de detectar alterações em um de cada vinte ou vinte e cinco fetos, durante a gravidez. Do ponto de vista genético-clínico, em que vários casais são encaminhados por terem um filho anterior, nativo ou natimorto possuidor de uma ou várias malformações indicadoras ou não de uma síndrome específica, o uso de minuciosos exames de ultrassonografia pode representar o único meio para assegurar que o filho seguinte não será malformado.

Uma outra grande aplicação da ultrassonografia diz respeito à investigação do efeito de agentes teratogênicos, como certos agentes químicos, que são causadores de redução de membros, ou físicos, como a radiação, que pode causar

microcefalia, ou, ainda, biológicos, capazes de acarretar retardamento do crescimento intra-uterino, além de microcefalia. Muitas pacientes se esquecem da época exata da última menstruação, mas têm documentada a época da radiação ou da ingestão de certo medicamento. A ultrassonografia ajuda a decifrar essa data e se o agente for clastogênico (como a radiação e determinadas drogas), e tiver atuado no período peri-concepcional, estará também indicado o estudo cromossômico fetal.

Deve-se assinalar, ainda, que, a detecção de qualquer alteração ultrasonográfica do ninho fetal, em qualquer época da gestação, merece a indicação do cariótipo fetal, tendo em vista que 15 a 30% desses casos mostram alguma alteração cromossômica. A tabela 10.3 é referente a 52 pacientes submetidas a amniocentese por apresentar alguma alteração ultra-sonográfica. A indicação do método invasivo a ser utilizado (biópsia de vilosidades coriônicas, amniocentese ou cordocentese) dependerá da fase da gestação em que foi detectada a alteração.

Tabela 10.3: ABERRAÇÕES CROMOSSÔMICAS OBSERVADAS EM 52 GESTAÇÕES CUJO DIAGNÓSTICO PRÉ-NATAL FOI INDICADO EM DECORRÊNCIA DE ALTERAÇÕES FETAIS DETECTADAS POR ULTRASSONOGRRAFIA

<u>ANORMALIDADE CITOGENÉTICA</u> ALTERAÇÕES PELO ULTRASSOM	NORMAIS	No.	CROMOSSOMOPATIA
Poli-hidramnia por gemelaridade ou diabete	11	0	---
Outras poli-hidramnias	8	1	Síndrome de Patau
Óligo-hidramnia	1	1	Isocromossomo 17q
Atresia do piloro	0	1	Síndrome de Down
Hidropsia fetal	2	0	---
Malformação do tubo neural	7	0	---
Malformações múltiplas	2	0	---
Microcefalia	2	0	---
Ventriculos dilatados	2	2	Síndrome de Down
Onfalocele	2	1	Síndrome de Edwards
Tumoração cervical	1	2	Síndrome de Turner
Retardamento do crescimento intra-uterino	3	1	Triploidia
Dois vasos umbilicais	2	0	---
Total	43	9	
	(82,7%)	(17,3%)	

Semanas de gestação

Média = 28,2; Desvio Padrão = 6,6

Alguns sinais anatômicos ultrasonográficos são suficientes, inclusive, para diagnosticar síndromes. Exemplos bastante significativos se referem à síndrome de Turner. Assim, a presença do higroma cístico em feto do sexo feminino torna altamente possível esse diagnóstico. Sinais importantes como lábio-leporino associado à diminuição das órbitas e presença de polidactilia impõe que se avenge a hipótese da síndrome de Patau. Um espessamento da pele na nuca de fetos, associado ou não a alterações da relação entre diâmetro biparietal e tamanho do fêmur constitui associação sugestiva de que o feto pode ser possuidor da síndrome de Down. Deve-se chamar a atenção para o fato de que as síndromes que cursam com aumento do líquido amniótico são mais fáceis de diagnosticar, quando comparadas àquelas em que o líquido amniótico está diminuído, porque as imagens pela ultrassonografia são muito mais nítidas na primeira e de difícil visualização na segunda.

A Tabela 10.4 modificada de Weaver (1988) é apenas um exemplo de alterações que podem fazer um ultra-sonografista suspeitar de uma síndrome genética. Esse aperfeiçoamento da visualização da anatomia fetal e suas alterações fará com que os ultra-sonografistas se voltem cada vez mais para a sindromologia ou que trabalhem estreitamente com grupos de medicina fetal, desenvolvendo refinamentos da avaliação ultra-sonográfica de sinais importantes para o diagnóstico de síndromes específicas.

Finalmente, não podemos deixar de mencionar, novamente, as aplicações do ultrassom na detecção de alterações anatômicas em fetos oriundos de casamentos consangüíneos, uma vez que tais casais deverão ser considerados como de risco de gerar filhos com alterações anatômicas (vide tópico sobre consanguinidade, bem como a Tabela 10.1)

Tabela 10.4: SINAIS ULTRASSONOGRÁFICOS IMPORTANTES SUGESTIVOS DE ALTERAÇÕES GENÉTICAS E/OU SÍNDROME FETAIS

Ascite	Lábio leporino
Atresias	Microcefalia
Bexiga-distensão	Microftalmia
Bradicardia sinusal	Mielomeningocele
Contraturas congênita	Morte Fetal
Cistos	Oligohidramnia
Cordão umbilical-anormalidades	Onfalocele
Encefaloceles	Palato Fendido
Fêmur-curto	Pericardio - efusão
Fraturas	Placenta - anomalias
Gemelaridade - desordens da	Pleura - efusões
Genitálias - defeitos cloacais	Polidactilia
Hematomas	Pterigium
Hidramnia	Radio - aplasia
Hidrocefalia	Retardo de crescimento intra-uterino
Hidronefrose	Rins - ectopia
Hidropsia fetal	Rins multicísticos
Hidrotórax	Taquicardia supra-ventricular
Hidroureter	Trombocitopenia
Hipotelorismo ocular	Tumores
Hipertelorismo ocular	Ureteres - Obstrução

ESTUDO DO SANGUE MATERNO

Antes de abordarmos a metodologia invasiva de diagnóstico pré-natal de alterações fetais, teceremos algumas considerações a respeito do diagnóstico pré-natal com o uso do sangue materno. As vantagens que advirão do desenvolvimento de técnicas que sirvam para o diagnóstico de alterações fetais a partir do estudo do sangue materno são indiscutíveis, pois propiciarão a triagem em massa de inúmeras doenças genéticas.

Sabe-se que células fetais atravessam a placenta e podem ser encontradas na circulação materna e que tais células poderão ser concentradas ou separadas por métodos imunológicos, com o uso, por exemplo, de anti-I fetal. A aplicação dos cicladores de temperatura para a multiplicação de genes com o uso da reação em cadeia da polimerase (PCR) é capaz de multiplicar milhões de vezes genes ou regiões específicas de genes no intervalo de algumas horas. Com isso, é de se esperar que em futuro bem próximo será possível o diagnóstico bioquímico de

alterações de várias doenças genéticas e mesmo de doenças infecto-contagiosas com o uso de células fetais obtidas por simples punção venosa da gestante.

Creemos, também, que o maior obstáculo para a obtenção de células fetais será a incompatibilidade materno-fetal no sistema ABO, uma vez que os antígenos desse sistemas são encontrados não apenas nas hemácias, mas também nas células de outros tecidos incluindo os leucócitos. Mesmo assim, será considerável o número de fetos compatíveis com sua mãe no sistema ABO e que permitirão a existência de células fetais na circulação sangüínea materna. Diga-se de passagem, que os grupos sangüíneos constituem o primeiro exemplo, no qual a dosagem de anticorpos séricos no sangue materno permitiu o diagnóstico da constituição genética do grupo sanguíneo fetal, tanto no sistema ABO, quanto no sistema Rh ou Kell. Ao lado disso, vários marcadores protéicos e enzimáticos podem ser constatados no soro materno em micro-quantidades, mas suficientes para serem detectados por métodos bioquímicos.

A dosagem da alfa-fetoproteína no soro materno (AFPSM) para a detecção dos defeitos de fusão do tubo neural constitui o melhor exemplo dessa situação. O fechamento do tubo neural ocorre nas primeiras semanas de gestação, mais precisamente até a terceira e quarta semanas. Fatores do meio ambiente associados a uma predisposição genética são capazes de alterar o seu desenvolvimento podendo originar uma série de malformações denominadas, genericamente, como defeitos de fusão do tubo neural. De acordo com a época, a intensidade e as características de tais fatores, essas malformações poderão ser traduzidas em anomalias compatíveis com a vida como as meningo e mielomeningoceles, ou mais graves como as encefalocelos e até anomalias invariavelmente letais, como a anencefalia. Aquelas compatíveis com a vida poderão condicionar debilidade e incapacidade física e(ou) mental para a criança e um grande dispêndio emocional, social e econômico para a família.

Em nosso meio o conjunto de defeitos de fusão do tubo neural apresenta-se numa frequência de 1 em cada 700 nascidos vivos, sendo importante assinalar que os casais que já tiveram uma criança com defeito de fusão do tubo neural têm um risco de recorrência de 3 a 5% em uma nova gravidez. Caso tenham duas crianças afetadas, o risco de uma nova ocorrência atinge 15%. Apesar de o ácido fólico ministrado a partir da concepção reduzir em três quartos o risco de recorrência dessa alteração tais casais devem ser submetidos a dosagem da AFPSM para o diagnóstico de eventual recorrência. O mesmo é verdadeiro para casais de isolados genéticos ou de populações com alto índice dessa doença, como ocorre na Irlanda do Norte (1%), na Alexandria (0,55%) e em Bombay (0,55%).

Como a AFPSM aumenta progressivamente no sangue materno a partir da sétima semana de gestação, os valores obtidos devem ser relacionados ao tempo de gestação. A época ideal para a realização da dosagem de AFPSM situa-se entre a décima-sexta e décima-oitava semanas de gestação e antes de realizá-la não pode ter havido manipulação uterina por punção ou qualquer procedimento invasivo. Se a AFPSM for alta, esse casal deve ter a indicação da realização de ultrassonografia fetal dirigida à coluna vertebral fetal (vértebra por vértebra) e, mesmo que normal ou duvidosa (dependendo da precisão do aparelho empregado), se submeter à dosagem de alfa-fetoproteína no líquido amniótico (AFPLA).

Várias situações podem causar um aumento do valor da AFPSM, tais como sub-estimativa da idade gestacional, gestação múltipla, onfalocele, pré-eclampsia, infecções maternas etc., mas não devem excluir a pesquisa de alterações de fusão do tubo neural ou a dosagem da AFPLA. Outra associação interessante diz respeito a baixos valores de AFPSM assinalados na síndrome de Down.

TESTES DE RASTREAMENTO

A despeito de ser sobejamento conhecida a relação entre idade e aberrações cromossômicas, a realização de métodos invasivos em gestantes com mais de trinta e cinco anos, foi capaz de detectar apenas 20 a 30% das crianças que nascem com síndrome de Down. Isto porque o percentual relativo de síndrome de Down em mulheres jovens multiplicado pelo número de mulheres sob risco suplantam aquele obtido em mulheres com mais de trinta e cinco anos.

A dosagem de alfa-fetoproteína em gestantes com fetos portadores de síndrome de Down permitiu ver que havia uma associação dos baixos valores dessa substância nessas gestantes, permitindo que se fizesse uma triagem das gestantes sob maior risco. Em seguida, com um grande banco de soros de pacientes que estavam gerando crianças normais e crianças com síndrome de Down pôde-se associar também os valores altos de β HCG com a geração de síndrome de Down. A partir dessas observações e da pesquisa de outras substâncias produzidas pelo feto ou decorrentes deste, incorporou-se também o Estriol livre como outra substância associada e que constitui o chamado Triteste.

O triteste (realizado entre quinze e vinte semanas detecta cerca de 65% das gestações com síndrome de Down. Segundo experiência internacional, serão considerados “fetos de risco para Síndrome de Down” ou seja como rastreamento “positivo”, aqueles que na análise do soro materno mostrarem valores de AFPSM menores que 0,5 MoM (múltiplos da mediana), de estriol livre menores que 2,5 MoM e de gonadotrofina coriônica maiores que 2,0 MoM. Além disso, este teste ajuda a rastrear 98% das gestantes com defeitos abertos do tubo neural e 60% dos defeitos abertos da parede abdominal.

O triteste é capaz, também, de rastrear outras aberrações cromossômicas, como trissomia do cromossomo 18 (aproximadamente 80%), trissomia do cromossomo 13 (cerca de 30%) e monossomia do cromossomo X (45,X) em 44%.

Um triteste “positivo” não significa que foi diagnosticada uma aberração cromossômica. O obstetra ou o geneticista clínico deverá discutir com o paciente os testes adicionais para determinar se a criança tem realmente uma doença e as outras explicações referentes ao teste positivo. A gestante pode ter uma idade gestacional maior do que pensava, pode estar gerando gêmeos ou, mais frequentemente, os níveis dessas proteínas séricas são simples variações da normalidade. Os testes adicionais incluem um ultrassom morfológico, e um teste cromossômico (biópsia de vilos coriais ou amniocentese), que pode diagnosticar com precisão e segurança se a criança é cromossomicamente normal.

A procura de um teste mais precoce, levou os pesquisadores a desenvolver um teste aplicado no primeiro trimestre e as substâncias mais específicas relacionadas a ele foram o PAPP-A (Pregnancy Associated Plasma Protein-A) e o β HCG livre. As mulheres gestando uma criança com síndrome de Down apresentam níveis mais baixos de PAPP-A e mais elevados de β HCG livre. Para que esse teste atinja uma triagem de cerca de 68% das gestações com síndrome

de Down, ele foi considerado positivo quando o risco é igual ou superior a 1/400. Se os valores desses dois testes forem associados a medida ultrasonográfica da região nucal conhecida como translucência nucal, os valores combinados podem aumentar o poder de triagem para 80 a 95%.

Ainda assim sobraria um percentual de aberrações cromossômicas não detectado pela triagem e que inclui a própria síndrome de Down. Somente um procedimento invasivo, geralmente a amniocentese, pode diagnosticar todas as aberrações cromossômicas.

Apesar de esses testes de triagem serem bastante promissores, deve-se tomar cuidado na interpretação de seus valores, uma vez que essas dosagens devem ser corrigidas com relação ao tempo de gravidez, à idade da gestante, ao grupo racial, ao peso da paciente, a doenças crônicas como diabetes materno, à gestação gemelar etc. Deve-se ainda chamar a atenção para a confusão que muitas pessoas fazem ao realizar esses testes, pois pensam que eles são uma alternativa que substitui a amniocentese para pesquisa de alterações cromossômicas associadas com a idade dos genitores ou com a história familiar de aberração cromossômica.

TRANSLUCÊNCIA NUCAL

Nicolaidis et al. (1992) chamaram a atenção para a medida da translucência nucal (TN) em fetos de gestações entre 10-14 semanas, que poderia ser usada como triagem de aberrações cromossômicas. A partir desse trabalho seguiram vários outros na própria Inglaterra, Itália, Espanha, Brasil, etc. Desses trabalhos ficou claro que quanto maior a medida da TN, maior seria a probabilidade de a paciente estar gerando uma criança com uma cromossomopatia. Como as cromossomopatias também aumentam com a idade materna, uma frequência de medidas maiores de TN são encontradas em mulheres com mais de 35 anos. Com o feto em posição sagital (como na medida cabeça-nádegas), a medida da TN é feita medindo-se a máxima espessura da translucência entre a pele e o tecido mole que cobre a espinha cervical. A medida de 2,5mm diferencia as mulheres de risco maior daquelas com menor risco de estarem gerando uma criança com cromossomopatia. Medidas entre 2,5 e 3,9mm aumentam o risco em 3 vezes; medidas entre 4,0 e 4,9mm aumentam 18 vezes; entre 5,0 e 5,9mm aumentam 28 vezes; e igual ou maior que 6,0mm aumenta 36 vezes o risco esperado de acordo com a idade materna. É claro também que quanto maior a translucência, maior a probabilidade de aborto espontâneo; medidas acima de 5,0mm estão relacionadas a uma taxa de 13% de aborto. Neste tipo de rastreamento também é mister chamar a atenção que cerca de 3-4% das gestantes em geral podem ser triadas como estando sob risco aumentado, mas não significará que o feto é seguramente anormal. O mesmo se deve dizer em relação às gestantes com medidas inferiores a 2,5mm que, embora com menor risco após a triagem, não estão isentas de estar gerando uma criança com cromossomopatia. Assim, pacientes com mais de 35 anos poderão mostrar a TN normal e assim terão um maior sossego para realizar a amniocentese após duas a quatro semanas. Cabe ainda lembrar que a TN não é específica de cromossomopatia, podendo ser encontrada em síndromes como a de Noonan

,higroma cístico e cardiopatias. O uso da TN é capaz de detectar cerca de 50% das cardiopatias congênitas, sendo assim usado como rotina para tranquilizar casais que já tiveram uma criança afetada (ver capítulo “Ultrassonografia no Diagnóstico das Múltiplas Malformações Fetais”).

PUNÇÃO DE VILOSIDADES CORIÔNICAS

Apesar de a amniocentese ter sido a técnica mais amplamente utilizada para o diagnóstico pré-natal de anomalias genéticas, tanto ela quanto a biópsia fetal transvaginal começaram a ser desenvolvidas na mesma década de 60. Mohr (1968) iniciou essas biópsias em 63 pacientes utilizando um endoscópio. Nessa primeira amostra, obteve 32 biópsias contendo vilosidades coriônicas, mas não conseguiu os cariótipos pelo insucesso das culturas. Já nessa época, relatavam poucas complicações maternas. Num trabalho cooperativo feito por esse grupo em 1974, os autores referem que, após a décima-segunda semana, obtinham além do córion, o âmnion e havia muita perfuração de bolsa amniótica. Em 1975, um grupo do Hospital Tietung da China relatou o primeiro estudo de determinação do sexo em uma amostra de 100 pacientes. Tanto esse estudo quanto os posteriores tiveram uma grande margem de erro no diagnóstico de sexo, o que desestimulou a aplicação da punção de vilosidades coriônicas em larga escala, a despeito da precocidade de sua realização e, conseqüentemente, das menores implicações psicológicas de seus resultados para as mães.

Posteriormente, Simoni et al. (1983) descreveram as primeiras amostras em que o índice de sucesso era relativamente alto, o que estimulou inúmeros centros a utilizar a punção de vilosidades coriônicas no diagnóstico pré-natal de anomalias genéticas.

À essa época, a amniocentese era realizada entre a décima-quarta e décima-sexta semanas, sendo necessárias, ainda, mais duas a três semanas para que se concluísse ou não pela normalidade fetal. Isso porque a maior parte do tempo era dispendida no cultivo de células, tanto para a cariotipagem quanto para o diagnóstico enzimático ou mesmo para estudos de biologia molecular. A padronização de uma técnica que podia ser aplicada a partir da sétima semana de gestação veio ao encontro da ansiedade natural de médicos e pacientes, pois um resultado em fase tão precoce tornaria, nos casos alterados, mais fácil e menos agressiva a interrupção da gestação, tanto do ponto de vista técnico, quanto psicológico.

A técnica de biópsia aspirativa transcervical consiste basicamente na inserção intra-uterina de um catéter que tenha em seu interior um mandril que possa lhe dar a direção. O uso da ultrassonografia para orientação do catéter facilita sobremaneira o índice de sucesso. Esses cateteres medem 21-25 cm, com diâmetro variando entre 1 a 2,3 mm. Em gestações de até 12 semanas, a bolsa amniótica não preenche ainda a luz do útero. O córion começou a diferenciar o córion frondoso, que irá constituir o local da placenta. É a região de maior índice mitótico e, portanto, a área da qual será coletado o material.

O passo inicial é um estudo detalhado pela ultrassonografia. Deve-se obter o máximo possível de detalhes. Deve-se medir o tamanho da bolsa amniótica e a distância cabeça-nádega. A área da placenta deve ser bem delimitada. Antes da

sétima semana, o córion frondoso cobre uniformemente o feto e pode haver dificuldade de reconhecimento da área a ser puncionada (A punção antes da nona semana raramente é feita, como veremos adiante). A inserção do cordão umbilical pode não ser visualizada nessa fase. Se o for, será melhor. As posições do útero e do cervix podem também ser identificadas. Se o útero encontrar-se em ante-verso-flexão, recomenda-se o enchimento da bexiga para facilidade da inserção do catéter. Nunca é demais recomendar um exame bacterioscópico na semana que antecede a punção para evitar possível infecção intra-uterina. Se houver incompatibilidade no sistema Rh, é recomendável a prevenção pelo uso da globulina específica. Se a paciente já estiver imunizada, contra-indica-se a punção de vilosidades coriônicas.

Após o enchimento da bexiga, e estando o útero visualizado adequadamente, a paciente é colocada em posição ginecológica. Adapta-se o espéculo estéril, fazendo-se a assepsia da vulva, da vagina e do cervix com Povidine. A porção anterior do colo é pinçada, o que pode produzir uma leve cólica. É a única sensação de desconforto. Dependendo da posição do colo e corpo do útero, pode não ser necessário o pinçamento do colo. A posição uterina é reavaliada pelo ultrassom pois, com uma leve tração do colo, o útero se torna mais retificado e o catéter é encurvado de maneira a se dirigir ao ponto onde será obtida a amostra. O catéter é introduzido lentamente de modo a evitar a perfuração da bolsa amniótica. Quando sentirmos uma leve resistência, deveremos chamar a atenção do ultra-sonografista para visualizar melhor a ponta do catéter, uma vez que no córion frondoso não há resistência. Quando a ponta do catéter estiver no meio do córion frondoso, o mandril é retirado do catéter com uma leve pressão para dentro deste último, de modo que sua ponta toque mais o córion. Após a retirada do mandril, adapta-se uma seringa que contém 5 ml de meio sem soro e aplica-se uma pressão negativa de 10 a 15 cc. Se o ultrassom estiver focalizando a parte distal do catéter, será possível ver a aspiração com essa pressão negativa. Puxa-se todo o conjunto para fora até sentir a aspiração do material puncionado para dentro da seringa. Nesse momento a ponta do catéter já estará na altura do cervix.

A punção de vilosidades por via transabdominal tem algumas vantagens em relação à transvaginal, quais sejam:

- a) Ela pode ser feita entre a nona e a décima-quinta semana de gestação;
- b) Supõe-se que seja de menor risco quando comparada à transvaginal;
- c) Não necessita de bacterioscopia prévia.

No dia da punção, com a gestante de bexiga cheia, deve-se fazer uma minuciosa pesquisa da região do córion frondoso e da implantação do cordão umbilical. Esta região é, geralmente, onde o córion frondoso é mais espesso. A região do córion a ser puncionada deve apresentar-se como a mais espessa em um corte longitudinal da placenta. Nesse ponto, observar que esta região deve estar no meio do corte setorial do vídeo. A posição e inclinação do transdutor é que ditará a inclinação da agulha a ser introduzida. Essa agulha deverá penetrar no córion frondoso longitudinalmente de modo a não perfurar a cavidade amniótica (se a placenta for anterior, geralmente o exame é feito de bexiga cheia; se posterior, geralmente manda-se esvaziar a bexiga).

Após exaustiva assepsia do abdômen com álcool a 70% ou Povidine, anestesiando o local onde será introduzida a agulha com xilocaína sem

vasoconstritor, tomando-se o cuidado de não anestésias regiões próximas ao córion frondoso. O ultrassom, envolto em plástico estéril ajudará essa fase, bem como determinará se houve alguma contração uterina que prejudique a introdução da agulha no sentido longitudinal do córion frondoso. Após a introdução da agulha heparinizada no córion frondoso, retiramos o mandril, acoplamos uma seringa com 4 ml de meio e provocamos uma pressão negativa de 10 a 15 cc de ar. Com essa pressão negativa e com cerca de 20 movimentos de vai-e-vem dentro do córion frondoso, retiramos o conjunto de seringa mais agulha, mantendo a pressão negativa até a retirada da agulha da pele. Se a agulha estiver bem locada no córion frondoso e, dependendo de seu calibre (18 a 20 G, 8-10 cm de comprimento), bastará uma ou duas aspirações para a obtenção de material suficiente para análise.

O material aspirado na seringa, que é composto de pequenos pedaços filamentosos esbranquiçados, pode ser fortemente agitado na seringa, sendo uma metade do mesmo vertida para uma placa de Petri que contém 3-4 gotas de coluicina 10-6 M (para preparação cromossômica direta). O conteúdo dessa placa é conferido em qualquer microscópio ou lupa ou mesmo à visão direta, colocando-se abaixo um foco de luz (as vilosidades têm uma refringência especial) e anota-se a quantidade aspirada de vilosidades. O exame das vilosidades a olho nu mostra uma estrutura característica semelhante a ramos de árvore. Em contraste, o tecido decidual não tem uma estrutura bem delimitada e tem uma aparência de nuvem ou de membranas, sendo facilmente distingüível. Esse tecido contaminante pode ser facilmente separado das vilosidades e as vilosidades atípicas são simplesmente jogadas fora.

A amostra original geralmente é acompanhada de hemácias em quantidades variadas, mas a remoção das vilosidades para outra placa de Petri contendo novo meio (com o auxílio de uma pinça) é suficiente para que os eritrócitos sejam eliminados. Uma boa aspiração trará cerca de 20 desses pedaços (10-25 mg de tecido úmido). Para o estudo enzimático e citogenético bastam 10-20 mg e para os ensaios com enzimas de restrição cerca de 20-40 mg. Se a amostra for adequada, pára-se aí o procedimento da coleta. Caso contrário poder-se-á fazer mais duas tentativas sem complicações relacionadas à gravidez. Geralmente, a paciente não apresenta problemas posteriores ou apenas um leve sangramento.

CONTRA-INDICAÇÕES

Existem algumas recomendações prévias para a realização da biópsia aspirativa de vilosidades coriônicas (BVC) por via transvaginal (BVC). Uma delas, de grande importância, é o exame bacteriológico do conteúdo vaginal prévio ao exame, que deve ser realizado cerca de 10 a 14 dias antes, a fim de propiciar seu tratamento caso algum agente adventício seja constatado. A presença de herpes simples também constitui um obstáculo à sua realização. Outro impedimento dessa via é encontrado nas pacientes que foram submetidas à conização pregressa. Essas situações podem ser contornadas pela realização de BVC por via abdominal, cujo risco de infecção é semelhante àquele da amniocentese. Uma outra contra-indicação existe quando a paciente refere sangramentos anteriores ao exame ou quando a paciente já possui pelo menos dois abortamentos cuja etiologia é desconhecida. Isso porque, se desconhecemos a sua origem, poderemos estar

“facilitando” a sua recorrência. Antes da ultrassonografia, que monitorizará a punção (qualquer que seja a via), deve-se ter o cuidado de informar a paciente sobre a alta incidência de abortos espontâneos nessa fase, a qual aumenta muito com a idade materna (verificar a Figura 10.13). Além disso, a punção de vilosidades coriônicas e sua análise permite detectar algumas trissomias que não seriam observadas algumas semanas mais tarde. Com isso, poderemos estar realizando um exame que não seria necessário se aguardássemos algumas semanas, uma vez que tais aberrações não permitiriam a sobrevivência fetal. É claro que a ultrassonografia prévia esclareceria se existe um aborto iminente, mas o impacto psicológico seria muito maior.

A imunização prévia no sistema Rh também é outro fator para a contra-indicação da BVC porque, indubitavelmente, essa biópsia induz à mistura de sangue materno e fetal. Para casais com filhos anteriores portadores de malformações não devidas a alterações cromossômicas, mas para as quais há suspeita de que possa haver recorrência (por exemplo malformações de membros, malformações cranianas, malformações múltiplas etc.) ou em relação às quais se tem a certeza da participação de um componente genético (por exemplo, defeitos de fusão do tubo neural, nanismo etc.) não existe razão para indicar a punção de vilosidades coriônicas, porque o risco de recorrência dessas entidades é, em geral, superior àquele das aberrações cromossômicas, a não ser, é claro, que estejamos fazendo o exame para pesquisa com determinada sonda de DNA. Deve ser explicado à gestante as limitações desse método e que, em certas situações, essa punções poderão alterar exames posteriores, como, por exemplo, a dosagem de alfa-fetoproteína.

Os casos de gemelaridade em que existe um feto vivo ao lado de outro em reabsorção ou “ovo cego”, situação essa que pode ocorrer em cerca de uma de cada cinquenta gestações, devem ser vistos com muita cautela, pois, diante de um resultado anormal, nunca seremos capazes de garantir que o resultado diz respeito ao feto vivo. Um feto sem batimentos cardíaco-fetais pode manter por semanas vilosidades coriônicas vivas e dificilmente teremos a certeza de que não houve uma “contaminação” com células do aborto retido (como já vimos, a taxa de aberrações cromossômicas em abortos é muito alta). No caso de gêmeos, com placentas muito próximas ou unidas, é válido o mesmo raciocínio e não devemos nos esquecer que o risco de duas punções deve, possivelmente, dobrar.

O risco de abortamento inerente à BVC foi estabelecido com o mínimo de viés por um estudo colaborativo do Canadá e sua estimativa é de 0,6 a 1,6%. Tal risco implica na perda do conceito por infecção, por ruptura de membranas, ou por outras causas. Deve-se assinalar que em nossa casuística pessoal a ruptura de membranas ocorreu com uma frequência de cinco em mil, predominando esse acidente nas primeiras centenas coletadas. A maioria delas, porém, prosseguiu sem intercorrências e sem seqüelas para os fetos, devido à ausência de infecção concomitante. Nas primeiras semanas, houve perda de quase todo líquido que se reconstituiu nas semanas subseqüentes. Duas delas, em que houve aspiração indesejada de líquido amniótico, permitiram o cultivo, com sucesso, de células amnióticas.

Foi descrito recentemente que a BVC realizada antes da nona semana pode provocar redução de crescimento de membros, em cerca de 0,5% dos casos. Apesar de tal assunto ainda suscitar controvérsias, é recomendável não realizar

a biópsia antes da décima semana. Também nunca é demais reforçar a indicação da globulina anti-D nas pacientes Rh negativo que têm a possibilidade de gerar crianças Rh positivo, a fim de assegurar o potencial reprodutivo dessas mulheres.

Quanto aos resultados, do ponto de vista técnico, cremos ser aconselhável esclarecer alguns pontos básicos às pacientes, antes da opção da BVC, a fim de que seu consentimento seja consciente por ter conhecimento da precisão do método. Não é raro que na fase de mórula possam ocorrer não-disjunções cromossômicas que provoquem o aparecimento de mosaicismo. Tal mosaicismo é encontrado com certa frequência a nível placentário e pode implicar em cromossomos compatíveis com o nascimento do feto, como ocorre com os cromossomos sexuais, o 13, o 18 e o 21. As alterações cromossômicas que não permitem a sobrevivência causam menos preocupação, mas também são indicadores de uma futura punção amniótica a fim de assegurar a normalidade cromossômica fetal. A maioria desses mosaicismos está associada às gestações de crianças normais, mas isso somente pode ser assegurado após a comprovação dos resultados pela punção amniótica e(ou) cordocentese.

Outro esclarecimento que também deve ser dado às gestantes para que elas dêem consentimento consciente diz respeito a possibilidade de haver resultados falsos. Esses resultados falsos podem ser divididos em falsamente positivos e falsamente negativos. No caso de resultados falsamente positivos, o laboratório constatará uma trissomia ou outra aberração nas células analisadas, mas que não estão presentes no feto, o qual é normal. Isso ocorre em cerca de um por cento das vezes e, mesmo que o casal permita conferir o resultado em células de tecido fetal, raramente esse casal deseja que lhes seja transmitido o resultado. Quando a indicação da biópsia de vilosidades coriônicas for devida a translucência nucal aumentada, esses falsos resultados devem ser desconsiderados porque existe um sinal biofísico de peso associado ao resultado.

A situação mais conflitante é a do falso negativo, em que as células analisadas se apresentam citogeneticamente normais, mas, ao nascimento, constatamos uma aberração cromossômica. Esta situação ocorre em um de cada mil diagnósticos. Outras situações intermediárias são facilmente contornáveis, como ocorre, por exemplo, nos falsos positivos, em que a aberração encontrada é incompatível com a sobrevivência fetal até aquela semana gestacional. Uma aberração dessa ordem foi por nós detectada, já tendo sido descrita, em relação à trissomia 16. O casal tinha sido punccionado na décima-segunda semana de gestação com um feto vivo e ativo e ao laboratório foi constatado tratar-se, indubitavelmente, de trissomia do cromossomo 16. Como essa trissomia é incompatível com fetos maiores que 1 mm, e ocorre mais frequentemente em "ovos anembrionados", suspeitamos de mosaicismo confinado à placenta. A amniocentese confirmou a presença de feto normal com 46 cromossomos.

O cultivo das células das vilosidades coriônicas também deve ser encarado com restrição quando apresentar um resultado diferente daquele que encontramos na preparação direta ou na cultura de curta duração. Isso porque nessas últimas o cariótipo que analisamos é o de células que já se encontram na fase natural e final de divisão celular, devendo corresponder ao cariótipo do tecido *in situ*, ao passo que no cultivo poderemos ter a diferenciação de células de determinada classe celular. Desse modo, a presença de resultados diferentes oriundos de dois métodos aplicados à coleta de um mesmo material por BVC deve, obrigatoriamente, ser inconclusivo e indicativo de punção amniótica.

Ao leitor poderia parecer que, com tantos cuidados técnicos, a biópsia aspirativa de vilosidades coriônicas poderia ou deveria ser colocada em segundo plano. Não é essa nossa opinião. Achamos que ela tem as suas vantagens e indicações de excelência comparados aos outros métodos de obtenção de material fetal. Assim, não se discute sua indicação nos casais de alto risco de gerar crianças com cromossomopatia, como ocorre nos fetos com translucência nucal aumentada, nas translocações, ou nos casais heterozigotos com risco de gestação de crianças com determinado erro inato do metabolismo ou outras doenças genéticas recessivas ou dominantes em que já se tenha um diagnóstico por sondas de DNA. Nessas situações, o risco de recorrência ou do aparecimento da alteração genética ultrapassa, geralmente, os 25% e o custo/benefício, ao lado da enorme diminuição da ansiedade, é plenamente justificável. Como, a cada dia, a ultrassonografia e os métodos de biologia molecular se tornam mais simplificados e mais abrangentes, a biópsia aspirativa de vilosidades coriônicas veio para ficar.

AMNIOCENTESE

A amniocentese realizada a partir da décima quarta semana é um dos métodos mais difundidos para a obtenção de material fetal com finalidade de diagnóstico pré-natal de alterações genéticas, embora, historicamente, ela tenha surgido na mesma época que se desenvolveram os primeiros trabalhos de coleta de vilosidades coriônicas. Isso deveu-se, provavelmente, à má visualização da área para sua obtenção, em uma época em que a resolução dos aparelhos de ultrassonografia era muito inferior quando comparada à de nossos dias. Além disso, a segurança e o baixo índice de complicações decorrentes da amniocentese fizeram com que ela se tornasse rotina na maioria dos serviços.

O risco de sérias complicações, incluindo perda fetal, varia nos diferentes centros de 0,2% a 0,5%. Essa variação deve ser decorrente do método de monitoragem aplicado à punção. Os bons serviços só executam o procedimento de punção se realizado com toda a assepsia de um teatro operatório, incluindo o uso de material esterilizado e o revestimento da sonda de ultrassom com invólucro estéril uma vez que ela acompanhará a introdução da agulha até o lago amniótico escolhido. Parece desnecessário acentuar que, previamente à punção, o feto deve ser minuciosamente avaliado em sua proporcionalidade através das medidas dos diâmetros biparietal, occípito-frontal, torácico e abdominal, bem como o tamanho do fêmur. Deve-se, também, analisar seus movimentos, os membros, a coluna vertebral, o cérebro, coração, rins, estômago e, eventualmente, bexiga, número de vasos e implantação do cordão, além da hidramnia.

Esse minucioso exame tem a intenção de detectar qualquer anormalidade fetal prévia à amniocentese, a qual, se presente, deverá ser comunicada ao casal antes do procedimento. Ao lado disso, esse exame prévio poderá determinar o local ou os locais de maior facilidade para punção por possuírem o maior lago amniótico, serem mais distantes do pólo cefálico e, preferencialmente, longe dos núcleos placentários. Se para realizar a punção houver necessidade de transpassar a placenta, isto não implica em riscos maiores. O mais importante é, realmente, essa monitorização de modo a dar a certeza do caminho a ser percorrido pela agulha, o que implica em menos probabilidade de obter líquido com sangue ao

evitar que a agulha atravesse a cavidade amniótica e puncione vasos ou a placenta localizados posteriormente. A monitorização evita, também, que a agulha seja introduzida mais de uma vez, o que diminui a possibilidade de lesões fetais.

Mesmo tomando todos esses cuidados poderá ocorrer a perda de líquido amniótico, aborto ou, ainda, amnionite. Fica muito difícil explicar a amnionite como decorrente de uma falha médica quando se tomam todos esses cuidados, a não ser que as luvas não estejam estéreis e a agulha seja tocada por elas previamente à punção. Por esse motivo, a agulha só deve vir à mão do puncionador através de seu canhão quando já se conhecer exatamente o ponto em que ela será introduzida. Após a aspiração de uma a três seringas de líquido amniótico, o mandril não deve ser reintroduzido para retirada da agulha, uma vez que o mesmo ficou exposto ao ar por alguns minutos. Se houver necessidade de se localizar a agulha por uma segunda vez, esta deve ser trocada. As seringas devem ser numeradas em ordem crescente a fim de que o laboratório possa diagnosticar mais facilmente o crescimento de células maternas misturadas às fetais. Quando isso ocorre, esse acontecimento é mais provável nos tubos de cultivo oriundos da primeira seringa. Procedendo com todo esse cuidado, acreditamos que, se ocorrer amnionite, ela pode ser decorrente de bactérias oriundas do organismo materno e localizadas entre a pele e a bolsa amniótica.

A perda de líquido amniótico, que em nossa casuística ocorreu em cerca de 1 em cada 1000 punções, merece uma consideração especial. Se a punção foi alta e a perda, visualizada pelo ultrassom, oriunda de um rompimento baixo, é porque deve tratar-se de uma gravidez que já tinha algum comprometimento anterior, geralmente por infecção ascendente e que, devido à introdução da agulha, houve um estímulo que provocou a contração uterina. Essa contração pressiona a bolsa em todos os sentidos e, naquele local onde já está acontecendo uma lesão por infecção, tem-se a ocorrência de perda aguda de líquido nas primeiras horas após a punção, muito frequentemente acompanhada de amnionite.

Se, entretanto, a punção for alta e a perda se der pelo orifício puncionado, ocorrerá perda crônica, discreta ou em jatos, e com tendência a parar com o repouso da paciente, a qual não apresentará febre. Ela deve ser seguida com controles contínuos de temperatura, pesquisa de odor vaginal e leucograma, podendo ainda sofrer cobertura antibiótica. Essas pacientes com perda de líquido asséptico geralmente prosseguem a gravidez e o líquido amniótico se recupera após duas ou três semanas, coincidente com maior funcionamento renal. Outras complicações menores são as lesões fetais que aparecem ao nascimento como pequenas “cavinhas” na região tocada pela agulha. Se não monitorizadas pelo ultrassom, poderão ocorrer lesões graves, dependendo da região atingida pela agulha, tendo já sido descrita gangrena de membro e lesão de articulação de joelho.

Alguns autores referem que a punção amniótica não provoca aumento da taxa de imunização no sistema Rh, ao contrário de outros, que mostram frequência aumentada de mulheres imunizadas quando submetidas à punção amniótica. Esses últimos autores assinalam uma taxa de imunização da ordem de 2,1-5,2% maior que a observada nas mulheres não submetidas a esse procedimento. A conduta mais precavida parece ser a ministração de gamaglobulina Rho a toda paciente Rh negativo com potencial de gerar feto Rh positivo.

A punção com sangue é, em grande parte das vezes, decorrente das

dificuldades de se atingir o lago amniótico desejado. Ela é mais frequente quando se introduz por duas vezes a agulha. Quando for um vaso da parede anterior do útero, geralmente é somente a primeira seringa que se contamina com o mesmo. Quando é da parede posterior, resultante da perfuração de vasos dessa região, pode-se notar pelo ultrassom o borbulhar para a cavidade amniótica. A perfeita monitorização da posição da ponta da agulha pode diminuir muito esse acontecimento.

Não é raro, após a introdução da agulha, visualizarmos sua ponta no lago amniótico e não obtermos líquido. Se nos detivermos mais à visualização ultra-sonográfica, poderemos notar que a agulha está empurrando a membrana amniótica sem perfurá-la. Com uma simples retração da agulha e nova introdução mais abrupta ou com um movimento de rotação da mesma obter-se-á o líquido desejado sem necessidade de nova locação. A seringa deixada repousada por alguns minutos nos esclarecerá se o sangue foi um resultado da punção ou se já se encontrava no líquido amniótico. Quando ele for devido à punção, o sangue se sedimentará rapidamente e o sobrenadante será amarelo límpido. Se o sangramento for antigo, o sobrenadante continuará vermelho. Deve-se sempre adicionar algumas gotas de heparina para evitar sua coagulação na seringa, que só ocorre se o sangue for devido à punção.

Como a probabilidade de crescimento celular diminui nos líquidos com sangue, pode haver necessidade de nova punção, o que deve ser avisado à paciente. Na repetição o líquido ainda estará sanguinolento mas, seguramente, com menos hemácias para atrapalhar o crescimento celular. Cerca de 95% das vezes o sangue contaminante é de origem materna e, se devido à punção, não trará conseqüências ao prognóstico da gestação. Em nossa experiência, os líquidos sangüinolentos em que não houve punção anterior são de pior diagnóstico e podem ser conseqüência de aberrações cromossômicas ou da ingestão de medicamentos adversos como a prostaglandina ou mesmos citostáticos, para tratamento de câncer.

O líquido meconial, que ocorreu em cerca de 1,91 % de nossa casuística, é associado a sangramentos vaginais anteriores à punção ou à punção anterior de vilosidades coriônicas. Sua cor é, geralmente, marrom claro ou, mais raramente, marrom esverdeado. Seu reconhecimento é muito fácil a nível laboratorial por apresentar um grande sedimento. Quando tal líquido é posto em cultura, as micropartículas do mecônio aderem fortemente ao fundo do tubo e não permitem a adesão de células vivas, que normalmente já são poucas (o líquido amniótico na décima-sexta semana contém cerca de 12000 células por ml, sendo em média apenas 6 vivas por ml. Se tal líquido apresentar níveis elevados de alfa-fetoproteína, o prognóstico é menos favorável e deve ser explicado à paciente. Por outro lado, a continuidade da gestação não implica para seus nascituros prognóstico diferente das outras gestações, uma vez que essas crianças não apresentarão sequelas neuro-psico-motoras como foi demonstrado por Carla Franchi-Pinto.

Do ponto de vista laboratorial, os erros diagnósticos são bem mais raros quando comparados ao exame das vilosidades coriônicas. As raras falhas descritas se referem à contaminação com células maternas por laboratórios que não tiveram o cuidado de separar as diferentes seringas nem de analisar tais células empregando polimorfismos de bandas Q e C. Outra técnica que também deve ser

aplicada é a análise *in situ* que discrimina se um mosaicismo encontrado originou-se *in vitro* ou se é um mosaicismo que ocorre no feto.

Se o mosaicismo tem potencial de viabilidade como ocorre com células trissômicas do cromossomo 21 (ou dos cromossomos 13, 18 e sexuais), a apreensão pode ser tanto maior quanto maior a sua frequência. Essa situação pode ser contornada pela indicação da cordocentese nos mosaicismos viáveis e de alta frequência relativa. Uma das situações mais embaraçosas é a presença de translocações aparentemente equilibradas. Se presentes nos pais, geralmente se atribui risco praticamente zero de o feto ser anormal. No caso de cromossomos “marcadores”, presentes ou não nos genitores, a situação pode ser bem mais complicada, necessitando uma detalhada explanação aos genitores para uma decisão definitiva.

AMNIOCENTESE PRECOCE

A amniocentese precoce, definida como aquela realizada com quatorze semanas ou menos de gestação, passou a ser desenvolvida nestes últimos anos devido a vários fatores. Entre eles pode-se citar a melhoria técnica e dos aparelhos de ultrassonografia, a proporção relativamente alta de líquido em relação ao feto nessa fase de gestação, a obtenção de resultado mais precoce e, principalmente, devido a maior fidedignidade que seus resultados apresentam quando comparados à punção de vilosidades coriônicas. Os problemas que ela apresenta são o maior risco de comprometimento fetal, semelhante à punção de vilosidades coriônicas e as dificuldades técnicas de crescimento celular na maioria dos laboratórios, devido à menor quantidade de líquido retirado, com menor quantidade de células. Esse último obstáculo pode ser contornado por uma filtração das células durante a punção, concentrando-as em pequenos volumes. A punção amniótica precoce pode ser realizada a partir da nona semana mas, preferencialmente, a partir da décima-primeira semana e um dos critérios muito importante para que haja sucesso no cultivo celular é que o feto possua a distância cabeça-nádegas superior a 37 mm.

CORDOCENTESE

A cordocentese foi desenvolvida por Daffos na França em 1983. Esse autor tinha como maior preocupação o diagnóstico de doenças infectocontagiosas e, dada à liberdade de aborto nesse país, em qualquer fase da gestação, o treinamento para obtenção de sangue de fetos comprometidos pôde ser rapidamente adquirido. À essa época, a obtenção de sangue fetal por fetoscopia e visualização direta do cordão era difícil e trazia grande risco. Com a melhoria dos aparelhos de ultrassonografia e as facilidades terapêuticas de transfusão de fetos imunizados, nos quais era possível controlar rapidamente a volemia e o hematócrito, a cordocentese passou a ser um método invasivo de relativo baixo risco (1% em mãos experientes) e de ampla utilização. Desse modo, ela serve não apenas para as situações acima, como também para esclarecer os casos em que o resultado citogenético da amniocentese não foi suficiente e, ainda, para a obtenção, em 72

horas, do diagnóstico citogenético fetal das gestações que apresentam alguma anomalia congênita detectada à ultrassonografia (Tabela 10.3).

A técnica consiste em um minucioso exame ultra-sonográfico para a localização da região de implantação do cordão na placenta, sendo essa região, sempre que possível, a eleita para a cordocentese. Deve-se sempre visualizar os vasos do cordão no sentido longitudinal, o ponto em que a agulha deve penetrar na pele perpendicularmente ao cordão, medir essa distância e, após, locar a sonda do ultrassom de tal modo que se possa ver a ponta da agulha “tocando” o cordão. Esse toque deve ser feito dentro da cavidade amniótica, de tal modo que, se não vier sangue, haverá a penetração de líquido amniótico.

Aliás, para a finalidade de diagnóstico citogenético deve-se sempre, antes da funiculocentese, coletar cerca de 20 ml de líquido para garantir a obtenção de cultura de células fetais. Quando a agulha tocar o cordão, faz-se um rápido movimento de introdução da ponta da agulha no mesmo e aspira-se para uma seringa heparinizada de 1 a 3 ml. Uma gota desse sangue deve ser transferida para um tubo contendo NaOH a 1/12 N. Se essa solução adquirir um tom quase preto, é porque se trata de sangue materno, uma vez que o sangue fetal deverá manter tom róseo. Se a região funicular for de difícil acesso, deve-se procurar outra, em que o cordão se apresente bem visualizado e pouco móvel para realizar esse procedimento. Para fins de transfusão intra-uterina, o feto deve ser curarizado, a agulha deve ser firmemente localizada e a injeção de sangue deve ser acompanhada pelo borbulhar dentro do vaso visto ao ultrassom.

FETOSCOPIA

A técnica de fetoscopia consiste da introdução de um endoscópio transabdominal, rígido ou flexível, de 2 a 3 mm, com a finalidade de pesquisar a anatomia fetal e de realizar uma biópsia de pele ou a punção do cordão umbilical. Esse procedimento invasivo requer bastante experiência, pois implica em risco de perda fetal que oscila de 3 a 5%, além de complicações, como amniorrexia crônica, parto prematuro, infecções e descolamento de placenta. A fetoscopia deve ser utilizada para investigação anatômica em doenças que não podem ser pesquisadas pela ultrassonografia e cujo sinal anatômico é fundamental para o estabelecimento do diagnóstico síndrômico.

A fetoscopia deve ser feita entre 15 e 18 semanas de gestação quando a proporção entre o fluido amniótico e o feto é maior, além do que, nessa fase esse fluido é, ainda, bastante límpido, permitindo melhor visão. Antes da introdução da cordocentese com o auxílio do ultrassom por Daffos, a fetoscopia foi muito utilizada para a obtenção de sangue de cordão, tanto na placa coriônica quanto em outras regiões do cordão umbilical. Nos tempos atuais, essa indicação tem sido abandonada e, a única que parece pertinente, é aquela que visa ao diagnóstico de alterações dermatológicas ainda impossíveis de detecção por técnicas de biologia molecular.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

01. BEIGUELMAN, B. ; Prado, D. - Recessive juvenile glaucoma. *J. Genét. Hum.* 12: 53-54, 1963
02. BEIGUELMAN, B. - *Genética Médica Vol. 2. Dinâmica dos genes nas famílias e nas populações* Capítulo IV. Edart, São Paulo, Brasil, 1981.
03. BEIGUELMAN, B. *Citogenética Humana*. 1a. ed. Rio de Janeiro, Guanabara koogan, 1982. I v. 320 p.
04. BEIGUELMAN, B. El Consejo Genético. *Actas V Congr. Latinoam. Genética* pp. 141-152, 1982, 489 p.
05. BENÁCERRAF, B.R; Bars, V.A.; Laboda, L.A. A sonografic sign for the detection in the second trimester of the fetus with Down's syndrome . *Am. J. Obstet. Gynecol.* 151: 1078-1079, 1985.
06. BAND. E. B.; Thompson, W.; Elwood, J.H.; Cran, G.W. Evolution of measurement of maternal plasma alpha-fetoprotein levels as a screening test for fetal neural tube defects. *Brit. J. Obstet. Gynaec.* 84: 574-577, 1977.
07. BOUÉ, J.; Boué, A., Lazar, P. Retrospective and prospective Epidemiological Studies of 1500 karyotyped spontaneous human abortions. *Teratology* 12: 11-26, 1975.
08. BOUÉ, J.; Philippe, E.; Girould, A.; Boué, A. Phenotypic expression of lethal chromosomal anomalies in human abortuses. *Teratology* 14: 3-20, 1976.
09. BOUÉ, A.; Boué, J.; Gropp, A. Cytogenetics of pregnancy wastage. *Adv. Hum. Genet.* 15: 1-57, 1985.
10. BRAMBATI, B.; Cislighi, C.; Tului, L.; Alberti, E.; Amidani, M.; Colombo, U. and Zuliani, G. First-trimester Down's syndrome screening using nuchal translucency: a prospective study in patients undergoing chorionic villus sampling. *Ultrasound in Obstetrics and Gynaecology.* 5:9-14, 1995.
11. BRUNONI, D. - Alto risco genético. *Aspectos neonatais. Ped. Mod.* 21: 415-447, 1986.
12. BURTON, B. K. Elevated maternal serum alpha-fetoprotein (MSAFP): Interpretation and follow-up. *Clin. Obstet. Gynecol.* 31: 231-420, 1988.
13. BUXTON, J.; Shelbourne, P.; Davies, J.; Jones, C.; Van Tongeren, T.; Aslanidis, C.; Jong, P.; Jansen, G.; Anvret, M.; Riley, B.; Williamson, R.; Johnson, K. Detection of an unstable fragment of DNA specific to individuals with myotonic dystrophy. *Nature* 355: 547-548, 1992.
14. BUYSE, M.L. Prefácio de : *Birth Defects Encyclopedia*. Blackwell Scientific Publications, Cambridge, Massachusetts, USA, 1892 p., 1990.
15. BYRNE, D.; Marks, K.; Cezar, G.; Nicolaidis, K. Ranzomized study of early

amniocentesis versus chorionic villus sampling: a technical and cytogenetic comparison of 650 patients. *Ultrasound Obst. Gynecol.* I: 235-240, 1991.

16.COMAS, C.; Martinez, J.M.; Ojuel, J.; Casals, E.; Puerto, B.; Borrell, A and Fortuny. ^a. First-trimester nuchal edema as a marker of aneuploidy. *Ultrasound in Obstetrics and Gynecology* 5: 26-29, 1995.

17.CHARD, T, Lowings C, Kitau MJ. Alphafetoprotein and chorionic gonadotropin levels in relation to Down's syndrome. *Lancet* 1984;2:750.

18.CRANDALL, B. F. Neural tube defects. Maternal serum screening and prenatal diagnosis. *Ped. Clin. N. Am.* 25: 619-629, 1978.

19.CRANE, J.P.; Kopta, M.M.: Genetic amniocentesis: impact of placental position upon the risk of pregnancy loss. *Am. J. Obstet. Gynecol.* 150: 813-816, 1984.

20.CREASY, M.R.; Crolla, J.A.; Alberman, E.D. A cytogenetic study of human spontaneous abortions using banding techniques. *Hum. Genet.* 31: 177-196, 1976.

21.CUCKLE, HS, Wald NJ, Thompson SG. Estimating a woman's risk of having a pregnancy associated with Down's syndrome using her age and serum alpha-fetoprotein level. *Br J Obstet Gynaecol* 94:387-402,1987.

22.DAFFOS, F.; Capella-Pavlovsky, M.; Forestier, F. A new procedure for fetal blood sampling in utero: Preliminary results of fifty-three cases. *Am. J. Obstet. Gynecol.* 15: 985-987, 1983.

23.DONNENFELD, A.E.; Mennuti, M.T. Sonografic findings in fetuses with common chromosome abnormalities. *Clinical Obstetrics and Gynecology*, 31: 80-96, 1988.

24.EDMONDS, D.K.; Lindsay, K.S.; Miller, Williamson, E.; Wood, P.J. Early embryonic mortality in women. *Fertil. Steril.* 38: 447-453, 1982.

25.ELEJALDE, B.R.; Elejalde, M. The prenatal growth of the human body determined by the measurements of bones and organs by ultrasonography. *Am. J. Med. Genet.* 24: 575-598, 1986.

26.ELEJALDE, B.R.; Elejalde, M.M.; Acuña, J.M.; Thelen, D.; Trujillo, C.; Karrmann, M. Prospective study of amniocentesis performed between weeks 9 and 16 of gestation: its feasibility risks, complications and use in genetic prenatal diagnosis. *Am. J. Med. Genet.* 35: 188-196, 1990.

27.FREITAS, E.; Pinto Jr., W. Comunicação pessoal, 1993.

28.GOLBUS, M. S.;Caughman, W.D.;Epstein, C.J.; Halbasch, G.; Stephens, J.D.; Hall, B.D.: Prenatal diagnosis in 3000 amniocenteses. *N. Engl. J. Med.* 300: 157-163, 1979.

29.GOLBUS, M. S.; Stevens, I. D.; Cann, H.M.; Mann, J.; Hensleigh, P. A.: Rh isoimmunization following genetic amniocentesis. *Prenat.Diagn.* 2: 149-153, 1982.

30.GUSTAVII, B. Chorionic biopsy and miscarriage in first trimester. *Lancet* I: 562, 1984.

31.HAHNEMANN, N.; Mohr, J. Antenatal foetal diagnosis in genetic disease. *Bull. Europ. Soc. Hum. Genet.* 3: 47-54, 1969.

- 32.HAHNEMANN, N.; Mohr, J. Genetic Diagnosis on the embryo means of biopsy from extraembryonic membranes. *Bull. Europ. Soc. Hum. Genet.* 28: 23-29, 1968.
- 33.HASSOLD, T. ; Chen, N. ; Funkhouser, J. ; Jooss, T. et al. A cytogenetic study of 1000 spontaneous abortions. *Ann. Hum. Genet.* 44: 151-178, 1980.
- 34.HASSOLD, T.; Chiu, D. Maternal age-specific rates of numerical chromosome abnormalities with special reference to trisomy. *Hum. Genet.* 70: 11-17, 1985.
- 35.HATA, T.; Deter, R.L. A review of fetal organ measurements obtained with ultrasound: normal growth. *J. Clin. Ultrasound* 20.: 155-174, 1992.
- 36.HILL, L. M.; Platt, L.D.; Kellogg, B.: Rh sensitization after genetic amniocentesis. *Obstet. Gynecol.* 56: 459, 1980.
- 37.HOQGE, W. A.; Schonberg, S.A.; Golbus, M.S. Chorionic Villus sampling: Experience of the first 1000 cases. *Am. J. Obstet. Gynecol.* 154: 1249-1252, 1986.
- 38.JACOBS, P.A. Epidemiology of chromosome abnormalities in man.. *Ann. J. Epidem.*, 105: 180-191, 1977.
- 39.JACOBS, P.A. Mutation rates of structural chromosome rearrangements in man. *Am. J. Hum. Genet.* 33: 44-54, 1981.
- 40.KAJII, T., Ohama, K.: Androgenetic origin of hydatidiform mole. *Nature* 268, 633-634, 1977.
- 41.KAJII, T.; Ferrier, A.; Nükawa, N.; Takahara, H.; Ohama, K.; Avirachan, S. Anatomic and chromosomal anomalies in 639 spontaneous abortuses. *Hum. Genet.* 55: 87-98, 1980.
- 42.KALOUSEK, D. K. Mosaicism confined to chorionic tissue in human gestations. pp. 130-136. *Em First trimester fetal diagnosis.* Editor: Fraccaro, M.; Simoni, G. e Brambati, B. Springer-Verlag Ed., New York, 1985, 355 p.
- 43.KAN, Y. N.; Nathan, D.G.; Cividalli, G. et al. Concentration of fetal red blood cells from a mixture of maternal and fetal blood by anti-i serum and aid to prenatal diagnosis of haemoglobinopathies. *Blood* 43: 411-415, 1974.
- 44.KNIGHT, G.J.; Palomaki, G.E.; Haddow, J.E. - Use of maternal serum alpha-fetoprotein measurements to screen for Down,s Syndrome. *Clin. Obstet. Gynecol.* 31: 306-327, 1988.
- 45.KURTZ, A.B.; Wapner, R.J.; Rubin, C.S.; Cole-Beuglet, C.; Ross, D.R.; Goldberg, B.B. Ultra-sound criteria for in utero diagnosis of microcephaly. *J. Clin. Ultra-sound* 8: 11-16, 1980.
- 46.LOEFFLER, F.E. (ed): An assessment on the hazards of amniocentesis. *Br. J. Obstet. Gynaecol.* 85 (Suppl. 2): 1, 1978.
- 47.MARTIN, R.H. ; Balkan, W.; Burns, K. Rademaker, A.W.; Lin, C.C.; Rudd, N.L. The chromosome constitution of 1000 human spermatozoa. *Hum. Genet.* 63: 305-309, 1983.

48. MASTROIACOVO, P.; Cavalcanti, D.P. *Lancet* 337: 1091, 1991.
49. MILNER, R.; Johnston, M.; Taylor, M.; Hamerton, J.L. Multicentre randomised clinical trial of chorion villus sampling and amniocentesis. *Lancet*: 1-6, 1989.
50. MILUNSKY, A.: Sex chromosome and X-linked disorders. Em Milunsky, A. (editor): *Genetic Disorders and the Fetus*. New York, Plenum Press, 1979, pag. 157-208.
51. MOHR, J. Foetal genetic diagnosis: development of techniques for early sampling of foetal cells. *Acta. Fat. Microbiol. Scandinav.* 73: 73-77, 1968.
52. MORTON, N.E.; Crow, J.F.; Muller, H. J. - An estimate of mutational damage in man from data on consanguineous marriages. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 42: 855-863, 1956.
53. MORTON, N.E. - The mutational load due to detrimental genes in man. *Am. J. Hum. Genet.* 12: 348-364, 1960.
54. MULLER, H.S. *Acta. Genet.* 6: 157, 1956 em Beiguelman, B. Dinâmica dos genes nas famílias e nas populações. Cap. IV. Edart, São Paulo, Brasil, 1981.
55. NAZARETH, H.R.S.; Pinto Jr., W.; Andrade, J.A.D. Diagnóstico pré-natal de aberrações cromossômicas. Primeira experiência brasileira. *Rev. Brasil. Genet.* IV 3: 459-470, 1981.
56. NICOLAIDES, K.H.; Azar, G., Byrne, D., Mansur, C. and Marks, K. (1992). Fetal nuchal translucency : Ultrasound screening for chromosomal defects in first trimester of pregnancy. *Br. Med. J.*, 304, 867-9.
57. PALMER, C.G.; Miles, J.H.; Howard-Peebles, P.N.; Magenis, R. E.; Patil, S.; Friedman, J.M. Fetal karyotype following ascertainment of fetal anomalies by ultrasound. *Prenat. Diagn.* 7: 551-555, 1987.
58. PANDYA, P.P.; Kondylios, A ; Hilbert, L.; Snijders, R.J.M. and Nicolaidis, H.K. Chromosomal defects and outcome in 1015 fetuses with increased nuchal translucency. *Ultrasound in Obstetrics and Gynaecology.* 5: 15-19, 1995.
59. PAVANI, M.A.M.; Pellegrinetti, B.; Pinto Jr., W. Avaliação do peso e da estatura fetal pelo ultrassom, utilizando-se vários parâmetros. *J. Bras. Ginec.* 91: 185-188, 1981.
60. PINTO, C.F.. Significado do fluido amniótico meconial no segundo trimestre da gestação. 1993, Mestrado em Genética, Instituto de Biologia, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, SP.
61. PINTO JR, W.; Cavalcanti, D. P.; Magna, L.A.; Hackel, C.; Miguel, C. D.; Freire, S.S.; Veenstra, C.D.; Barriga, G.A.E.; Pavani, M.A. M.; Simões, S.L.; Frantz, N. - Diagnóstico pré-natal e genético. *Neurologia Infantil*, Belo Horizonte, ABEPI, 1987, pp 74-82.
62. PLACHOT, M.; de Grouchy, J.; Junca, A.; Mandelbaum, J.; Turlein, C.; Couillin, P.; Cohen, J.; Salat-Baroux, J. From oocyte to embryo: a model deduced from in vitro fertilization, for natural selection against chromosome abnormalities. *Ann. Génét.* 30 (1): 22-32, 1987.

64. SCHINZEL, A. Catalogue of unbalanced chromosome aberrations in man. Walter de Gruyter Ed. New York, USA, 1984, 913 p.
65. SCHLESSELMAN, J.J. How does one assess the risk of abnormalities from human in vitro fertilization? *Am. J. Obstet. Gynecol.* 135: 135-148, 1979.
66. SCHMIDT, B. J.; Martins, A. M. M.; Fisberg, R.; Adele, A.C.A.; Soares, D.; Muller, R.; Bechara, J.; Loghin-Grosso, N.S.; Diament, A.J. - Phenilketonuria (PKU): The Brazilian experience. Em *Current trends in infant screening* (Schmidt, B.J., Diament, A. J. and Log hin-Grosso, N.S. Eds) Excerpta Medica, New-York, USA. pp. 65-70, 1989.
67. SCHRÖDER, J.; De La Chapelle, A. "Fetal lymphocytes in the maternal blood". *Blood* 39 (2): 153-162, 1972.
68. SCWARTZ, S.; Palmer, C.G. Chromosomal findings in 164 couples with repeated spontaneous abortions: with consideration to prior reproductive history. *Hum. Genet.* 63: 28-34, 1983.
69. SHORT, E. Genetic Disorders. Em *Medical Complications during Pregnancy*. Editores Burrow G.N.e Ferris, T.F. Ed. W.B. Saunders Co. Philadelphia, USA, 1988.
70. SIMONI, G.; Brambati, B.; Danezinc, C.; Rossella, F.; Terzoli, G.L.; Ferrari, M.; Fracaro, M. Efficient direct chromosome analysis and enzyme determinations from chorionic villi samples in the first trimester of pregnancy. *Hum. Genet.* 1983: 349-357, 1983.
71. SIMONI, G.; Gimelli, G.; Cuoco, C. et al. Discordance between prenatal cytogenetic diagnosis after chorionic villi sampling and chromosomal constitution of the fetus. pp. 137-143. Em *First trimester fetal diagnosis*. Editado por Fraccaro, M.; Simoni, G. e Brambati, B. Springer- Verlag Ed. New York, USA, 1985, 355 p.
72. SIMONI, G.; Fraccaro, M.; Gimelli, G.; Maggi, F.; Bricarelli, F.D. False-positive and false negative findings on chorionic villus sampling. *Prenat. Diagn.* 7: 671-672, 1987.
73. TABOR, A.; Jerne, D.; Bock, J.E. Incidence of rhesus immunization after genetic amniocentesis. *Brit. Med. J.* 293: 533-536, 1986.
74. XIMENES, R.L.S.; Acácio G.L., Rodrigues, M.M.; Ximenes, A.R.S.; Pinto, C.F. and Pinto Jr., W.-Nucal Translucency and association with chromosomal abnormalities. *Ultrasound in Obstetrics and Gynecology*. Volume 12, 1997.
75. WALD, N.J., Hackshaw, A.k. Combining ultrasound and biochemistry in first-trimester screening for Down's syndrome. *Prenatal Diagnosis* 17:821-829, 1997.
76. WALD, N.J., Kennard A, Densem J.W, Cuckle H.S., Chard T, Butler L. Antenatal maternal serum screening for Down's syndrome: results of a demonstration project. *BMJ* 1992;305;391-4.
77. WALD, N.J., Cuckle HS, Densem JW, et al. Maternal serum screening for Down's syndrome in early pregnancy. *BMJ* 1988;297;883-7.
78. WALD, N.J., George, L., Smith, D., Densem, J.W., Petterson, K Serum screening for Down's syndrome between 8 and 14 weeks for pregnancy, *Br.J.Obstet.Gynaecol.*, 103, 407-412, 1996.

79. Wald, N. et al. Prevention of neural tube defects; Result of the Medical Research Council Vitamin Study. *Lancet* 338: 131-137, 1991. 80. WARBURTON, D.; Fraser, C. Spontaneous abortus risks in man: data from reproductive histories in a medical genetics unit. *Am.J. Hum.Genet.* 16:1-25, 1964.

81. WARREN, R.C.; Butler, J.; Morsman, J.M.; Mckenzier, C.; Rodek, C.H. Does chorionic villi sampling cause fetomaternal haemorrhage? *Lancet* I: 201, 1985.

82. WEAVER, D.D. - A survey of prenatally diagnosed disorders. *Clin. Obstet. Gynecol.* 31: 231-420, 1988.

83. WEBB, D.; Muir, I.; Faulkner, J. and Johson, G.: Myotonia dystrophica: obstetric complications. *Am. J. Obstet. Gynecol.* 132: 265, 1978.

84. WINTERS, R.W.; Graham, J.B.; Williams, T.F.; McFalls, V.W.; Burnet, C.H. A genetic study of familial hypophosphatemia and vitamin D resistant rickets with a review of the literature. *Medicine* 37: 97-142, 1958.