



25

**PATERNIDADE
DUVIDOSA**

SÉRGIO PERES

Capítulo 25

PATERNIDADE DUVIDOSA

SÉRGIO PERES

QUAIS SÃO OS FATORES QUE DEVEM SER CONSIDERADOS AO SE DETERMINAR UMA PATERNIDADE DUVIDOSA ?

Antigamente procurava-se a aparência entre o filho e o pai, porém devemos considerar que o fenótipo varia muito de acordo com os fatores ambientais e com a idade. A morfologia dos cromossomos também pode ser considerado, porque em casos de estupro, pode-se coletar sangue fetal e do possível pai e comparar o tamanho do cromossomo Y, se é longo ou curto, e determinar o seu pai biológico. Esses critérios só foram considerados válidos após a década de 50, porém são bastante valiosos para garantir a exclusão da paternidade de um homem acusado injustamente.

Atualmente os sistemas genéticos permitem uma probabilidade de exclusão de paternidade em 100% dos casos e os métodos mais utilizados são os grupos sanguíneos, sistema HLA e o exame de DNA.

Grupos sanguíneos:

Antes de 1900 as transfusões de sangue eram arriscadas porque muitas vezes ao invés de salvar a vida do receptor provocavam sua morte.

Landsteiner, em 1900, verificou que o sangue de certas pessoas era incompatível para outras, porque as hemácias do doador se aglutinavam, bloqueando a passagem do sangue nos capilares e provocando sua morte. Examinando o sangue de várias pessoas, ele encontrou na superfície das hemácias dois tipos de proteínas que ele chamou de antígeno A e antígeno B (ou aglutinogênios) e localizado no soro sanguíneo dois tipos de anticorpos denominou de anti-A e anti-B (aglutininas).

Baseado na presença ou ausência do antígeno as pessoas foram classificadas em 4 tipos: grupo A, com antígeno A e anticorpo anti-B, antígeno B e anticorpo anti-A; grupo AB com antígenos A e B, sem os anticorpos; e grupo O sem os antígenos e com os anticorpos anti-A e anti-B.

Esses anticorpos resultam de um processo de imunização natural das pessoas.

Em qualquer transfusão de sangue devemos determinar os grupos sanguíneos ABO do doador e do receptor. Assim, uma pessoa do grupo O, pelo fato de apresentar anticorpos anti-A e anti-B, só pode receber sangue de pessoas do mesmo grupo, porque aglutinam as hemácias dos outros grupos. Porém, ela pode doar o seu sangue para qualquer outro tipo, porque as suas hemácias não possuem os antígenos A e B e, portanto, não são aglutinados (doadores universais); pessoas do grupo AB podem receber sangue de qualquer

tipo (receptores universais), porém só podem doar a pessoas do mesmo grupo (Figura 25.1).

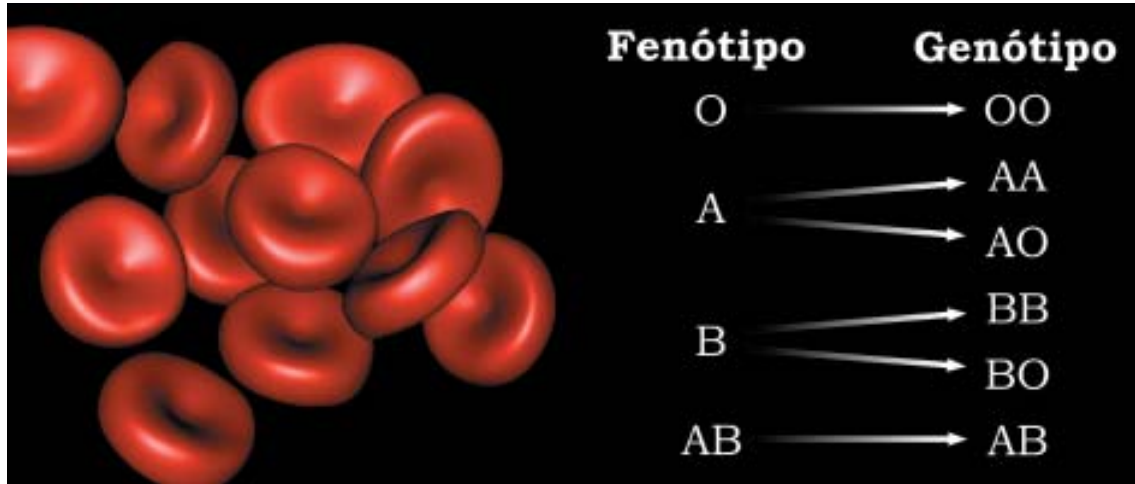
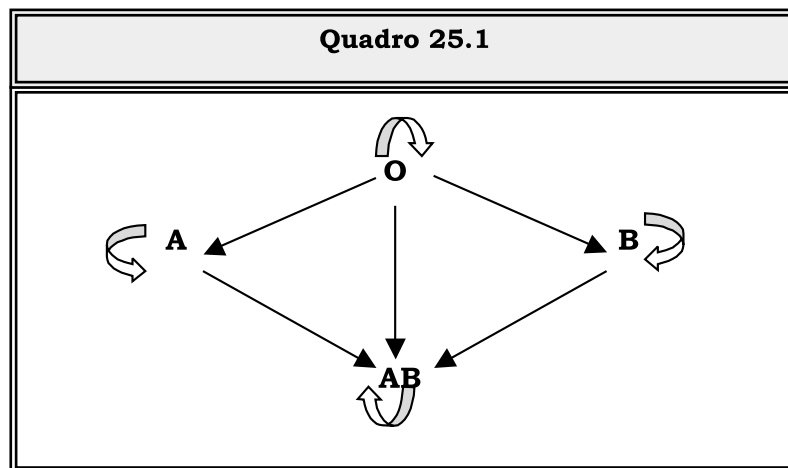


Figura 25.1: Grupos Sanguíneos

Se as transfusões de sangue forem acima de 500ml deve-se preferir pessoas do mesmo grupo (Quadro 25.1).



No que se refere à herança dessas características, este sistema é determinado por alelos múltiplos, ou seja, existem mais de dois locus diferentes para o mesmo gene, embora no mesmo genótipo só se apresentem dois deles ao mesmo tempo e como sempre um herdado dos pai e outro da mãe. Assim, existem 3 alelos: I a, I b, i, capazes de ocuparem dois a dois um certo locus gênico. Os genes I a, I b, são dominantes sobre i, mas co-dominantes entre si (Tabela 25.2).

Tabela 25.2	
Genótipos	Fenótipo (grupo sanguíneo)
$I^a I^a$ ou $I^a i$	A
$I^b I^b$ ou $I^b i$	B
$I^a I^b$	AB
ii	O

Vamos imaginar uma situação clínica:

Uma criança vai ser submetida a uma cirurgia e a tipagem sanguínea do grupo O. Quando o resultado é entregue ao pai da criança ele fica surpreso, dizendo que pode haver algum erro, pois ele é B e sua esposa A; como um filho pode ter sangue tão diferente dos pais?

Se a criança é O, seu genótipo é ii , recebendo um gene i de seu pai e outro de sua mãe, que com certeza devem ser $I^b i$ e $I^a i$ já que o grupo O é determinado por genes recessivos.

Resolva: Dados os cruzamentos abaixo, indique todos os possíveis tipos de filhos resultantes (fenótipos). Considere sempre heterozigotos os indivíduos A e B (Tabela 25.3):

Tabela 25.3: EXERCÍCIO	
CRUZAMENTOS	FILHOS POSSÍVEIS
A X A	
A X B	
A X AB	
A X O	
B X B	
B X AB	
AB X AB	
AB X O	
O X O	

O Efeito Bombay:

É um fenômeno raríssimo, descoberto numa família da Índia, donde a denominação. Pela análise do sangue dos filhos de certos indivíduos do grupo sanguíneo O, verificou-se que eles eram portadores do gene do grupo sanguíneo B (ou A), porque ao se casarem com pessoas do grupo sanguíneo B (ou A), tinham filhos do tipo AB. A exemplificação é que essas pessoas do grupo O, eram homozigotos quanto a um gene supressivo e recessivo raro (hh) que não permitia a manifestação do gene produtor do antígeno B (ou A) dando um “falso” O.

Grupos sanguíneos MN (Tabela 25.4):

Foram descobertos posteriormente por Landsteiner e Wiener, nas populações humanas.

M e N são determinados por genes Lm e Ln respectivamente, não havendo dominância entre os dois (tabela).

Não existem os anticorpos e respectivos no soro sanguíneo e portanto não há incompatibilidade nas transfusões de sangue, mas sendo importante para a determinação de paternidade.

Tabela 25.4		
Antígeno	Grupo	Genótipo
M	M	Lm Lm
N	N	Ln Ln
MN	MN	Lm Ln

Resolva: Numa ação de divórcio o marido acusa a esposa de infidelidade. O primeiro e o segundo de seus filhos, com os quais ambos concordam com o que se relaciona à paternidade, são do grupo sanguíneo O e AB respectivamente.

A terceira criança de que o marido nega a paternidade é do grupo sanguíneo B:

- De posse destas informações, pode-se decidir o caso judicial?
- Um segundo teste foi efetuado pelo sistema do grupo sanguíneo N-M. A terceira criança é do grupo M e o marido é do grupo N. Poderia esta informação apoiar o caso do marido?

Resolva: O avô materno de uma mulher pertence ao grupo sanguíneo AB, enquanto todos os demais avós são do grupo O. Qual é a probabilidade de que esta mulher seja respectivamente do grupo A, B, AB e O?

Frequência dos Grupos ABO na População Branca:

Os grupos sanguíneos apresentam-se distribuídos nas seguintes proporções na raça branca: 45% O, 42% A, 10% B e 3% AB.

Grupo Secretor e Não-secretor:

Na maioria das pessoas os antígenos do sistema ABO, além de se expressarem no sangue, são secretados em vários fluidos do corpo humano, inclusive na saliva. Isso é determinado por 2 alelos: secretor (+) e secretor (-) sendo o primeiro dominante e o segundo recessivo.

A importância disso é que as pessoas secretoras (+) tem uma tendência a adquirir úlcera péptica e além disso, o locus secretor está ligado (vinculado) ao locus da distrofia miotônica. Então, antes do advento do DNA marcador, para prever-se se uma pessoa assintomática era portadora do que para distrofia costumava detectar-se se as famílias possuíam o gene secretore e em caso positivo a probabilidade era elevada.

Grupos Sanguíneos S e s:

Walsh e Montgomery (1947) empregando soros anti-S e anti-s, conseguiram detectar dois novos antígenos S e s, cujos genes estão associados ao sistema MN num mesmo cromossomo, por isso passou a se denominar

sistema MNSs como as seguintes combinações gênicas: MS, Ms, NS, Ns, MNS, MNs. Supõe-se a ligação absoluta em tais genes, embora haja autores que presumam uma recombinação esporádica entre esses genes ou uma mutação.

Como não existem os anticorpos correspondentes no soro sanguíneo, sua importância está restrita aos casos de paternidade duvidosa.

Resolva: *Um bebê foi raptado numa maternidade e depois de vários anos o casal suspeitou de uma criança que poderia ser seu filho. Resultado dos testes:*

Tabela 25.5				
	Anti-M	Anti-N	Anti-S	Anti-s
PAI	+	-	+	+
MÃE	-	+	-	+
CRIANÇA	+	-	-	+

Esses resultados permitem excluir ou não a possibilidade da criança encontrada ser o filho do casal?

O Sistema Xg:

A descoberta de algumas características causadas por genes localizados no cromossomo X, mostrou-se importante para agirem como marcadores genéticos. Como por exemplo a deficiência da enzima G-6-PD, os grupos sanguíneos Xg e outros.

Desejando-se investigar a procedência dos cromossomos X de uma pessoa, pode-se usar o gene responsável pela presença do antígeno Xg^a, já que são bastante frequentes nas populações brancas.

O sistema Xg foi descoberto em 1962 por Mann et al, quando encontrou-se um anticorpo no soro de um homem que receberá muitas transfusões de sangue, definindo a presença do antígeno Xg^a nas hemácias, bem como os grupos sanguíneos Xg (a +) e Xg (a -), sendo o primeiro dominante e o segundo recessivo (Tabela 25.6).

Tabela 25.6		
Fenótipo	Homem	Mulher
A +	Xg ^a Y	Xg ^a Xg ^a
A +	-	Xg ^a Xg
A -	Xg Y	Xg Xg

Este sistema tem pouca importância clínica, porque o antígeno Xg^a não estimula a formação de anticorpos. Sua importância é genética, como marcador do cromossomo X. Exemplificando:

Um paciente XXY, com Síndrome de Klinefelter é do grupo sanguíneo Xg^{a-}, seu pai Xg (a+) e sua mãe Xg (a-), portanto ela não pode ter os cromossomos X de seu pai. Mas, um outro paciente XXY e Xg (a+) e sua mãe é Xg (a-), o cromossomo X excedente proveio do pai. No caso da Síndrome de Turner cujo cariótipo XO, a maioria das tabelas com os grupos sanguíneos Xg demonstram que o único cromossomo X presente, é o de origem materna.

INVESTIGAÇÃO DE VÍNCULO GENÉTICO DE FILIAÇÃO

Através de análise de DNA podemos determinar se um indivíduo é ou não o pai (ou a mãe) biológico de outro indivíduo. Ao contrário dos exames utilizados anteriormente, onde somente era possível provar por exclusão de paternidade. O exame de DNA permite excluir a suposta paternidade ou comprovar a mesma.

INCLUSÃO DE PATERNIDADE

Isso é possível porque cada pessoa possui um conjunto único de informações genéticas herdadas de seus pais biológicos.

Todos os seres vivos são formados por células que possuem o núcleo onde está o material genético. Em quase todas as células de um indivíduo, existem duas cópias destas informações genéticas em cada par de cromossomos. Uma destas cópias é transmitida do pai biológico ao filho, através do espermatozóide.

O mesmo acontece com a mãe biológica, que transmite ao filho uma de suas cópias através do óvulo. No processo de fecundação, o espermatozóide do pai se une ao óvulo da mãe. A partir deste momento o óvulo fecundado vai desenvolver-se por 9 meses até o parto. A criança terá duas cópias de cada uma das informações genéticas que a caracterizam, uma originada de sua mãe e outra de seu pai.

A maioria das informações genéticas, presentes nas duas cópias dos diferentes indivíduos na espécie humana, são idênticas, o que explica porque todas as pessoas tem as mesmas características gerais como o número de dedos ou formas do corpo em geral. Porém, para um grande número de características genéticas as pessoas possuem cópias semelhantes, mas não idênticas, da informação genética, o que explica as diferenças que existem entre as pessoas, como por exemplo a cor da pele ou a cor dos olhos. Existem grupos de informação genética que variam na população, são chamados de polimorfismos (muitas formas). Através da análise destas informações genéticas **poliformicas** é possível determinar as relações de vínculo genético entre as pessoas. Como cada cópia destas informações genéticas veio de um dos pais biológicos do indivíduo, quando analisa-se as duas cópias de uma certa informação genética, de uma pessoa, e se compara com as de seus pais, sempre se encontra no pai biológico uma das cópias presentes no filho e, na mãe, a outra cópia do filho (Figura 25.2).

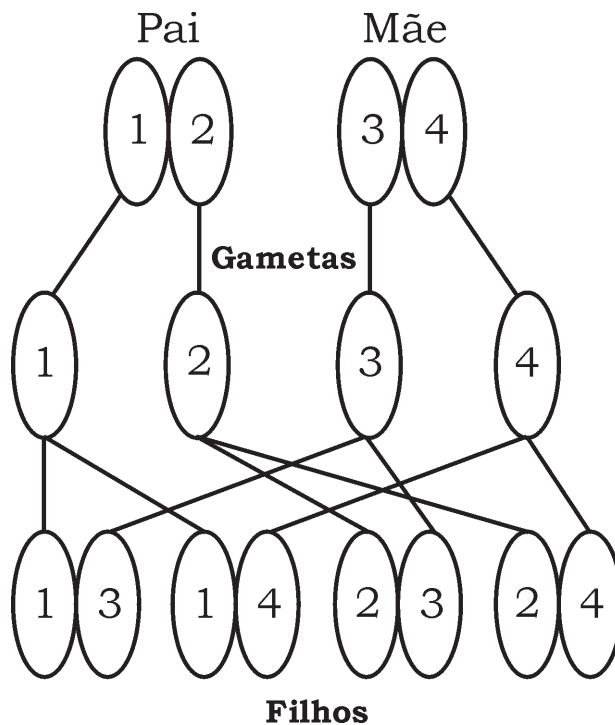


Figura 25.2: Nesta figura está representado um par de cromossomos de cada um dos pais. Neste exemplo, num determinado locus, estão presente quatro alelos diferentes, um em cada um dos quatro cromossomos. O filho deve herdar necessariamente uma das quatro combinações representadas na figura, via dos gametas (espermatozóide e óvulos). Caso apresente uma combinação que não as acima descritas, caracteriza-se um caso de exclusão de paternidade.

Na investigação da paternidade procura-se analisar no mínimo seis informações genéticas (chamadas de locus gênicos) e para cada uma destas informações genéticas, as duas cópias presentes no filho, na mãe e no proposto pai, são identificadas. A análise destes dados permite concluir, com toda certeza, se o suposto pai é realmente o pai biológico da pessoa em questão. Para cada loco analisamos os 2 alelos presentes no filho. Caso um deles seja encontrado na mãe e outro no suposto pai, podemos afirmar que os resultados analisados deste loco, são compatíveis com o fato do suposto pai ser o pai biológico da criança. Mas, caso um determinado alelo presente no filho (que não herdado na mãe) não seja encontrado no suposto pai, podemos dizer que ele não é o pai biológico da criança.

Resumindo, podem ser encontradas duas situações:

- 1- Vários alelos do filho (que não herdados da mãe) não estão presentes no suposto pai. Isso demonstra que o suposto pai não é o pai biológico da criança e, portanto, a paternidade é excluída;
- 2- Em todos os locus estudados, os alelos presentes no filho (que não herdados da mãe) sejam encontrados no suposto pai, levando a conclusão de que ele é o pai biológico da criança. Utilizando 6 ou mais locos, podemos garantir um nível de certeza nos casos de inclusão de paternidade, superior a 99,99%.

INTERPRETAÇÃO: Todas as informações de um indivíduo estão contidas na molécula de DNA.

O DNA está presente em quase todas as células de uma pessoa e é formado por uma sequência de bases (ou nucleotídeos). As diferenças na sequência destas bases é que distingue os alelos entre si após a análise em géis, de sequência de DNA.

O teste de paternidade utilizando-se a análise do DNA, é realizado para identificar o pai biológico, comparando diferentes regiões do DNA, definidos como loci, entre o filho, a mãe e o suposto pai. As bandas de DNA escolhidas, apresentam uma grande variabilidade, portanto são polimórficos. Para cada locus são conhecidos inúmeros alelos e para cada loci há necessariamente um alelo herdado do pai e outro, obrigatoriamente, herdado da mãe.

O teste identifica os alelos no filho e compara-os com os da mãe e aqueles que não são comuns aos herdados da mãe são considerados, necessariamente herdados do lado paterno. Em seguida comparam-se os alelos paternos com os alelos que não estão presentes na mãe do filho e se forem observados uma correlação de loci, muito provavelmente será configurada a paternidade. Entretanto, para que se possa fazer uma adequada análise utiliza-se uma amplificação por PCR, de cerca de 15 a 18 loci do DNA. E habitualmente, quando o “suposto pai” é verdadeiramente o “pai biológico” a compatibilidade deste exame é de cerca de 99%.

Como o teste de paternidade está vinculado com exclusão, pode afirmar-se com certeza quando o suposto pai não é o pai biológico, enquanto que a confirmação é calculada por uma probabilidade de grande exatidão, através de uma determinação da frequência dos padrões do DNA da população onde vivemos. Esta situação é calculada pela distribuição desta frequência e na possibilidade de que o homem seja o pai de uma pessoa, em relação a qualquer outro indivíduo compatível do mesmo sexo, tomado da população estudada ao acaso.

Esse exame envolve sérias questões éticas e jurídicas, conseqüentemente os resultados devem ser sistematicamente confirmados com uma segunda bateria de testes e esse devem ter uma periódica avaliação de qualidade e normas que são estabelecidas pela *American Association of Blood Banks*.

DOENÇA HEMOLÍTICA DO RECÉM-NASCIDO

O grupo sanguíneo Rh é identificado por meio de testes sorológicos, sendo determinado por 3 locus cujos genes estão muito próximos entre si: Cc, Dd, Ee. O antígeno tem uma forte manifestação e as pessoas que o possuem são chamadas Rh positivas, enquanto as que não apresentam esse antígeno, são Rh negativas. Se uma pessoa Rh negativa recebe um sangue Rh positivo, passa a produzir anticorpos anti-Rh, ficando sensibilizada e numa nova transfusão de sangue Rh positivo ocorre hemólise pela reação antígeno, anticorpos. As mulheres Rh negativas casadas com homens Rh positivos, tem grande probabilidade de seu bebê morrer precocemente, ou de nascer com um tipo de anemia severa chamada Eritroblastose Fetal. Isto acontece se o feto for Rh positivo, porque durante a gravidez algumas hemácias podem passar para a circulação materna no momento do parto, quando a placenta se descola, ou então no caso de um aborto e não estimular a fabricação de anticorpos anti-Rh e a mãe fica sensibilizada. Porém, como a fabricação de anticorpos é lenta, o primeiro filho não é afetado. Numa segunda gravidez, Rh positiva, os anticorpos podem passar para a circulação do bebê, atravessando a placenta, podendo resultar em morte fetal ou se nascer,

apresentar Eritroblastose Fetal. Para evitar a sensibilização, uma mulher Rh negativa pode tomar uma vacina, na forma de gamaglobulina, que destrói as hemácias Rh positivas do feto, que porventura passarem para o seu corpo. A aplicação deve ser feita até 36 horas após cada parto, em toda as gestações, para evitar a sensibilização materna.

Como medida de rotina, toda mulher Rh negativa é analisada durante a gravidez para se pesquisar a presença de anticorpos anti-D (ou anti-Rh). Se der positivo, pesquisa-se no sangue do feto e, caso os anticorpos sejam encontrados, deve-se resolver entre: interromper a gravidez, correndo os riscos da prematuridade e da exsanguineotransfusão, ou então o tratamento do feto no útero, com transfusão de sangue.

Prova de Coombs (Coombs, Mourant e Race – 1945)

Chamada de prova direta, quando se verifica se a mãe está sensibilizada, isto é, pesquisar se as hemácias estão ou não com os sítios antigênicos, bloqueados pelas moléculas de anticorpos e assim saber até que ponto uma mulher Rh negativa corre o risco de hemolisar o sangue de seu bebê.

Bases Moleculares:

Estados bioquímicos propõem duas teorias para explicar o mecanismo genético do fator Rh. Uma proposta por Fisher que preconiza a existência de 3 pares de alelos muito próximos entre si e localizados no mesmo cromossomo: DdCcEe (D=Rho). A outra teoria é proposta por Wiener que propõe a existência de 8 alelos no mesmo locus, ocorrendo dois a dois (Tabela 25.6).

Não se sabe ainda qual dos dois mecanismos é o correto, mas isto não é imprescindível porque na prática, como o locus D (Rh0) é o responsável pela incompatibilidade sanguínea materno-fetal em 90% dos casos; é portanto o de maior interesse. Assim, as pessoas DD ou Dd são Rh+ porque possuem o antígeno Rh em suas hemácias, enquanto que os homozigotos recessivos dd são Rh negativos porque não tem o antígeno Rh.

Se um homem for heterozigoto com o genótipo Dd, ao se casar com uma mulher negativa, metade de seus filhos será Rh+ e metade Rh-, diminuindo assim o risco de nascer com a Doença Hemolítica do Recém-nascido (DHRN).

Tabela 25.7				
TEORIA DE WIENER			TEORIA DE FISHER E RACE	
Gene	Aglutinógeno	Fatores	Combinação Gênica	Antígenos
R ^o	Rh0	hr', Rho, hr''	cDe	c, D, e
R ¹	Rh1	rh', Rh0, hr''	CDe	C, D, e
R ²	Rh2	hr', Rh0, rh''	cDE	c, D, E
R ^z	Rhz	rh', Rh0, rh''	CDE	C, D, E
R	rh	hr', hr''	cde	c, e
r'	rh'	rh', hr''	Cde	C, e
r''	rh''	hr', rh''	cdE	c, E
R ^y	rh ^y	rh', rh''	CdE	C, E

Determinação do fator Rh:

Na prática, sempre que possível devemos determinar o fator Rh do receptor com o soro anti-D (ou anti-Rh0) antes de qualquer transfusão de sangue. Se o resultado do teste for positivo, é positivo mesmo. Porém, se o resultado for negativo, deve ser feito outro teste para a detecção do fator Du e neste caso, se o resultado for positivo, é considerado Rh positivo, apesar de ser negativo com o soro anti-D, porque o alelo Du é muito fraco e não responde ao anti-D, embora positivo. Porém, se o resultado for negativo, é considerado negativo mesmo (confirmado).

Riscos da criança ser afetada:

As estatísticas indicam que o risco de nascer um bebê com Eritroblastose Fetal, a partir da mãe Rh negativa e pai Rh positivo, não é muito alto porque:

1. A passagem do sangue da criança para o organismo materno, por ocasião do nascimento, não ocorre com muita frequência;
2. Há mulheres cuja produção de anticorpos é muito lenta;
3. Há maridos Rh positivos que são heterozigotos (Dd).

A produção de anticorpos é impedida pelo mecanismo protetor do ABO. Este atua quando a mulher Rh negativa for do grupo O, pois contém anticorpos anti-a e anti-b e a criança Rh positiva sendo do grupo A ou B, cujo sangue será hemolisado (destruído) pelos anticorpos do grupo ABO materno, ao passar para a sua circulação antes que a mãe tenha tempo de produzir anti-Rh.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. BOUÉ, A.; Fetal Medicine - Prenatal diagnosis and management. ed. Oxford Medical Publications. 1995. New York;
2. CURLVER, W. K.; Gene Therapy-A Handbook for Physicians. Ed. Mary Ann Libart 1994. United States of America;
3. FREIRE-Maia, H. *Tópicos de Genética Humana*. 1ª ed. São Paulo, Edusp, 1976. p.118-26;
4. FROTA-Pessoa, O.; Otto, P.A.; Otto, P.G. *Genética Clínica*. Rio de Janeiro, Ed. Francisco Alves, 1975. 127p;
5. HIGGINS, J. S.; Hames, D. B.; Genes probes 2- A practical Approach. Ed. Irl Press 1995. New York;
6. JORDE, B. L.; Carey, C.J.; White, L.R.; *Genética Médica*. Ed. Guanabara Koogan 1996. Rio de Janeiro, Brasil;
7. KELLY, E. T.; *Clinical Genetics & Genetic Counseling*. Ed. Year Book Medical Publishers, Inc. 1980 United States of America;
8. LEWIN, B.; *Genes V*. Ed. Oxford 1994. United States of America;
9. ROSS, W. E.; *Introduction to Molecular Medicine*. Second Edition. ed. Springer. 1996 Spriger Verlag/New York;
10. SEASHORE, R. M.; Wappner, S. R.; *Genetics in Primary Care & Clinical Medicine*. Ed. Appleton & Lange 1996. United States of America;
11. SOLARI, A. J.; *Genética Humana, Fundamentos Y aplicaciones en medicina*. Ed. Médica Panamericana 1996. Buenos, Argentina.