

Clinicas, amostras biológicas, metodologias e cromossomopatias

Simão L¹, Silva M¹, Alves C¹, Brito F¹, Serafim S¹, Ambrósio P¹,Geraldes MC¹, Marques B¹, Ferreira C¹, Pedro S¹, Furtado J¹, Ventura C¹, Tristão J², Ferreira A³, Correia J⁴, Correia H¹¹Unidade de Citogenética, Departamento de Genética Humana, Instituto Nacional de Saúde Dr. Ricardo Jorge, INSA, IP, Lisboa. ²Consulência Externa de DPN, Centro Hospitalar do Algarve, EPE, Unidade de Portimão. ³Serviço de Obstetria, Sector DPN, Centro Hospitalar do Algarve, EPE, Unidade de Faro. ⁴Serviço de Obstetria, Maternidade Dr. Alfredo da Costa, Centro Hospitalar Lisboa Central

INTRODUÇÃO

As mudanças no diagnóstico pré-natal de anomalias cromossômicas (DPN) nos últimos 20 anos foram contínuas e significativas. A introdução do estudo das biópsias de vilosidades coriônicas (BVC) permitiu a obtenção de resultados mais cedo na idade de gestação (Figura 1). As metodologias entretanto desenvolvidas deram-nos melhores tempo de resposta, acerto nos resultados e novos conhecimentos sobre os cromossomas e o genoma¹ (Figura 2).

METODOLOGIA

Fez-se a avaliação retrospectiva do DPN nas gestações com amostras estudadas nos triénios 2004-2006 e 2014-2016. Analisaram-se os parâmetros indicação clínica, tipo de amostra biológica, metodologias utilizadas, resultados obtidos e tempo de resposta.

RESULTADOS

- No triénio 2004-2006 identificaram-se 68 fetos com cariótipo anormal num total de 2210 cariótipos (3,1%) enquanto que em 2014-2016 se identificaram 208 fetos com cariótipo anormal em 2315 cariótipos (9,0%) (Tabela 1).
- A maior frequência de anomalias foi encontrada nos casos em que os rastreios ecográficos e combinados indicaram um risco acrescido de anomalia numérica e nos casos com progenitores portador de uma alteração cromossômica.
- O incremento de BVC permitiu respostas mais cedo nas gestações com risco aumentado para anomalias cromossômicas numéricas no triénio 2014-2016.
- Em 2014-2016, os LA totalizaram 1751 amostras com cariótipo (75,6% do total de cariótipos) e as BVC 537 amostras com cariótipo (23,2%). Outros produtos biológicos totalizaram 27 amostras (1,2%).
- Houve um aumento percentual de cariótipos com anomalias numéricas (7,5% de todos os cariótipos). As trissomias 13, 18 e 21 tiveram um grande incremento, devido à presença nas BVC.
- As anomalias estruturais foram menos preponderantes nos cariótipos anormais (32,4% em 2004-2006 e 14,4% em 2014-2016).
- O tempo de resposta para os LA foi dois dias mais rápido do que nas BVC.
- A implementação do DRA permitiu ter um tempo de resposta mais rápido nas anomalias numéricas mais frequentes, que se situa em cerca de 2 dias.
- A utilização de estudos de microarray permitiu em gravidezes com patologias específicas um incremento na deteção de anomalias genómicas no feto. Possibilitou também a caracterização e melhor definição de pontos de quebra em alterações cromossômicas estruturais (Figura 3).



Figura 1. Amostra de biópsia de vilosidade coriônicas

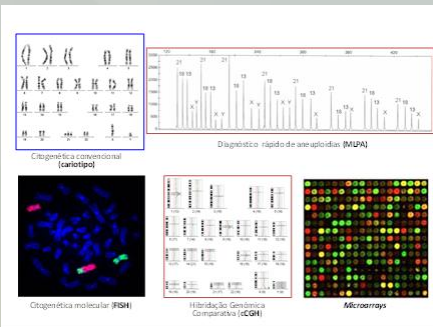


Figura 2. Evolução das metodologias em DPN

OBJETIVOS

Propomo-nos analisar e refletir sobre a evolução no DPN: mudanças nas indicações clínicas; implemento das BVC; utilização do diagnóstico rápido de aneuploidias (DRA); generalização dos estudos por microarray; diferenças nas alterações cromossômicas encontradas.

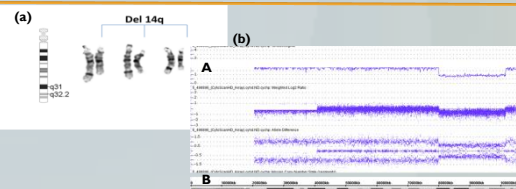


Figura 3. Exemplo de utilização de array para delimitação precisa de pontos de quebra num cromossoma anormal: (a) Ideograma da cromossoma 14 indicando os pontos de quebra no cromossoma deletacionado e metáfases parciais. Os cromossomas anormais estão indicados à direita; (b) Perfil de SNFarray do cromossoma 14. A - Smooth signal encontra-se representado na parte superior da imagem, intensidade das sondas copy number (log₂ ratio) encontra-se representado no centro da imagem e as sondas SNP, na parte inferior da imagem, indicam uma perda da região 14q21.1-q22.1 e uma região de homozigotia na região 14q11.2-q21.1; B - Ideograma do cromossoma 14 mostrando a região deletacionada

Tabela 1. Anomalias cromossômicas nos triénios 2004-2006 e 2014-2016

Anomalias cromossômicas	2004 – 2006 (2210 cariótipos)			2014-2016 (2315 cariótipos)		
	Número de anomalia	% das anomalias (n = 68)	% de total de cariótipos	Número de anomalia	% das anomalias (n = 208)	% de total de cariótipos
Trisomia 21	17	25,00	0,8	98	47,12	4,23
Trisomia 18	12	17,64	0,5	39	18,75	1,68
Trisomia 13	1	1,47	0,04	8	3,85	0,35
Trisomias em mosaico	1	1,47	0,04	2	0,96	0,09
Duplas aneuploidias em mosaico	3	4,41	0,14	3	1,44	0,13
Turner 45,X e mosaicismo Turner	9	13,24	0,41	8	3,85	0,35
47,XXX	1	1,47	0,04	1	0,48	0,04
Klinefelter e mosaicismo Klinefelter	1	1,47	0,04	2	0,96	0,09
47,XXY	1	1,47	0,04	1	0,48	0,04
Triplóidia: XXY;XXX	2	2,94	0,09	6	2,88	0,26
Aneupl. Autosómicas: 47,X,-idic(9)(q12); 47,XY,+9				2	0,96	0,09
47,XX,+21,inv(4)(q21q23)				1	0,48	0,04
Marcaadores e marcadores em mosaico	2	2,94	0,09	2	0,96	0,09
mos46,XX,(15)(q10),47,XX,i(15)(q10)+mar/46,XX	1	1,47	0,04			
mos 47,XX,+18/46,XX,t(2;6)(8)				1	0,48	0,04
Total Anomalias Numéricas	46	67,65	2,08	174	83,65	7,52
Derivados de Transl.						
Robertsonianas	1	1,47	0,05	2	0,96	0,09
Deleções	1	1,47	0,05	5	2,40	0,22
Duplicações	1	1,47	0,05	2	0,96	0,09
Derivados de Translocações/ material adicional (add)	3	4,41	0,14	1	0,48	0,04
Total Anomalias Estruturais	6	8,82	0,27	10	4,81	0,43
Desequilibradas						
Translocações robertsonianas	4	5,88	0,21	4	1,92	0,17
Inversões	9	13,24	0,41	9	4,33	0,39
Translocações aparentemente equilibradas	3	4,41	0,14	7	3,37	0,30
Total Anomalias Estruturais Equilibradas	16	23,53	0,73	20	9,62	0,86
Total Anomalias Estruturais	22	32,35	1,00	30	14,42	1,30
Outras anomalias				4	1,92	0,17
TOTAL ANOMALIAS	68	100,00	3,08	208	100,00	8,98

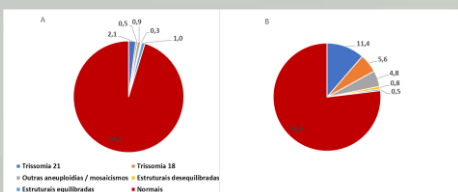


Figura 4. Percentagem de anomalias cromossômicas nas amostras de (A) LA e (B) BVC (trienio 2014-2016)

DISCUSSÃO

- Os avanços conseguidos com a implementação dos rastreios ecográficos, combinados com os marcadores bioquímicos no soro materno a partir da 10ª semana de gestação tiveram grande impacto no aumento da taxa de deteção de anomalias cromossômicas fetais.
- A utilização de BVC permitiu uma identificação precoce de anomalias e contribuiu para uma melhor correlação fenótipo-genótipo em idades gestacionais mais prematuras.
- O DRA reduziu o tempo de resposta e permite uma decisão precoce do casal sobre o futuro da gestação.
- Nas BVC, a possível contaminação materna e mosaicismo confinado à placenta são eventos que tornam muito específico o modo como se tem de olhar para os resultados obtidos no DRA, na observação microscópica e nos estudos de microarray.
- Os tempos de resposta após a realização de BVC ou de amniocentese revelaram-se ligeiramente diferentes, com as BVC a demorarem em média mais dois dias até à resposta final, o que se pode explicar pelas características/estado das amostras, pelas especificidades das culturas celulares e do estudo citogenético mais trabalhoso.
- As trissomias 18 e 21, no seu conjunto, foram identificadas em cerca de 17% das BVC, o que se revela um elevado valor (Figura 4). No entanto, as gestações com anomalias numéricas têm um risco elevado de perda fetal espontânea durante o primeiro trimestre e início do segundo trimestre, estimada entre 7% a 20%². Assim, algumas BVC com cariótipos anormais, designadamente com trissomia 18 (que tem uma presença dez vezes superior em relação aos LA), resultariam em perdas fetais nesse período.
- Por outro lado, embora a síndrome de Down e as outras anomalias numéricas estejam na origem e continuam a ser a mais importante indicação para a realização de DPN não podemos esquecer que outras anomalias, designadamente as anomalias estruturais equilibradas podem estar relacionadas com doença genética. Além disso contribuem para um melhor conhecimento da variação genética nas famílias e na população e consequente aconselhamento genético. Assim, não devem ser postos de lado metodologias que as menosprezem.
- A utilização da técnica de microarray, em casos de malformações fetais, permite um incremento de cerca de 6-9% na deteção de anomalias genómicas no feto³. Permite ainda estabelecer relações genótipo/fenótipo com maior acerto¹.
- Um novo paradigma é constituído pela implementação dos testes não invasivos no DPN, designadamente através do DNA fetal livre em circulação no sangue materno e também da sequenciação de nova geração.
- Estas ferramentas têm potencialidades enormes, mas para as quais ainda não conhecemos ou não refletimos sobre todas as limitações a nível do conhecimento obtido e a nível ético^{4,5,6}. As repercussões a estes níveis são ainda parcialmente desconhecidas.