

# Importância do estudo genético pré-natal

Importance of prenatal genetic diagnosis

Mariana Pedrosa Batista<sup>1</sup>  
Wanderson Lucas da Costa<sup>2</sup>  
Andréia Cristina Gomes<sup>3</sup>  
Waldemar Naves do Amaral<sup>4</sup>

## Palavras-chave

Genética  
Cuidado pré-natal  
Diagnóstico

## Keywords

Genetics  
Prenatal care  
Diagnosis

## Resumo

O desenvolvimento de técnicas, como o cariótipo e ensaios enzimáticos em células fetais, a determinação de metabólitos no líquido amniótico e a ultrassonografia, propiciaram o diagnóstico pré-natal de desordens genéticas. A investigação genética pré-natal permite a detecção, ainda no útero, de doenças que, de outra forma, somente seriam diagnosticadas após o nascimento. Diversas técnicas são utilizadas para avaliação do estado fetal, algumas como a biópsia de vilos coriais, a amniocentese e a cordocentese. Com desenvolvimento tecnológico, novas técnicas moleculares foram desenvolvidas apresentando-se de forma mais refinada e de rápido resultado. A utilização dessas técnicas é fundamental para o desenvolvimento fetal, podendo então indicar uma conduta adequada para cada caso. Dessa forma, o conhecimento e a aplicação da genética clínica, utilizando o aconselhamento genético, trazem a certeza de um bom acompanhamento pré-natal necessário à assistência médica.

## Abstract

The development of techniques, such as karyotype and enzymatic assay in fetal cells, the determination of metabolites in amniotic liquid and the ultrasonography, allowed prenatal diagnosis of genetic disorders. The prenatal genetic investigation allowed the detection, in the womb, of diseases that, in other way, just could be diagnosed after birth. Many techniques are used to fetal state assessment, some of them such as villi cori biopsy, the amniocentesis and cordocentesis. Through the technological development, new molecular techniques were developed. They present a more refined and fast results. The use of these techniques is fundamental to fetal development, enabling the use of adequate conduct in each case. In this way, the knowledge and application of genetic clinic, using genetic counseling, bring the certainty of a good prenatal care, which is necessary to medic assistance.

<sup>1</sup> Biomédica pela Universidade Federal de Goiás (UFG) – Goiânia (GO), Brasil.

<sup>2</sup> Acadêmico de Ciências Biológicas pela UFG – Goiânia (GO), Brasil.

<sup>3</sup> Graduada em Biomedicina pela UFG – Goiânia (GO), Brasil.

<sup>4</sup> Professor Doutor Adjunto III e Chefe do Departamento de Ginecologia e Obstetrícia da Faculdade de Medicina da UFG – Goiânia (GO), Brasil.

**Endereço para correspondência:** Mariana Pedrosa Batista – Rua N03, Quadra 06, Lote 08, Etapa 1 – Anápolis City – CEP: 75094-070 – Anápolis (GO), Brasil – Email: marianabiomed@gmail.com

Conflito de interesse: não há.

## Introdução

O diagnóstico pré-natal (DPN) teve início com a demonstração de Steele e Breg<sup>1</sup> (A) sobre a constituição cromossômica de um feto, que poderia ser determinada pela análise da cultura de células do líquido amniótico (LA). A partir disso, o desenvolvimento de técnicas, como o cariótipo e ensaios enzimáticos em células fetais, a determinação de metabólitos no LA e a ultrassonografia propiciaram o DPN de desordens genéticas<sup>2</sup> (B).

A investigação genética pré-natal permite a detecção, ainda no útero, de doenças que, de outra forma somente, seriam diagnosticadas após o nascimento. Contribui também para o esclarecimento etiológico de malformações fetais detectadas pelo ultrassom, durante a gestação<sup>2</sup> (B).

Entretanto, a finalidade do DPN não é simplesmente detectar anomalias na vida fetal e levar ao término da gravidez quando o feto tem um defeito. O DPN é útil para reduzir a ansiedade (especialmente entre os grupos de alto risco), vigiar a evolução da gravidez, programar o parto, antever complicações no parto e no recém-nascido, detectar determinadas características dos pais que possam afetar a gravidez atual ou futura, dar aos casais a opção de uma conduta apropriada para o iminente nascimento de uma criança com um distúrbio genético em termos de preparo psicológico, e também possibilitar o tratamento pré-natal da criança afetada<sup>3</sup> (C).

Originalmente, o DPN era indicado apenas para mães com idade mais avançada (acima de 35 anos), devido ao risco elevado de anomalias fetais nessa faixa etária. Com o passar do tempo e com o avanço do conhecimento científico, um maior número de gestantes passou a realizar esse tipo de diagnóstico<sup>4</sup> (A).

Atualmente, as principais indicações para o DPN (além da idade materna avançada) são: história familiar de doença cromossômica, pais portadores de alterações cromossômicas, filho anterior malformado falecido sem diagnóstico, história familiar de erros inatos do metabolismo (EIM), história familiar de doenças gênicas que tenham testes moleculares definidos para DPN, translucência nucal aumentada, anomalia fetal na ultrassonografia, triagem sérica materna alterada (rastreamento bioquímico positivo), abortos/perdas fetais repetidas ou, ainda, quando há ansiedade materna excessiva<sup>2</sup> (B).

As anomalias cromossômicas são muito frequentes na espécie humana, sendo responsáveis por 50% dos abortamentos espontâneos, em torno de 6% dos casos de anomalias congênitas e por 5,6 a 11,5% das mortes perinatais<sup>2</sup> (B).

As alterações genéticas mais frequentes na espécie humana são as não disjunções que ocorrem na primeira divisão meiótica, resultando nas perdas (cerca de 50 a 70%), no primeiro

trimestre de gestação, causadas por aberrações cromossômicas. Mesmo entre 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<sup>5</sup> (B).

Dessa maneira, o DPN para cromossomopatias tornou-se uma ferramenta fundamental para a detecção de síndromes cromossômicas, bem como para o aconselhamento genético de gestantes de risco<sup>6</sup> (C).

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: ampla compreensão de todas as implicações relacionadas às doenças genéticas em discussão; 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; e eventual apoio psicoterapêutico<sup>7</sup> (B).

Nessa definição é fácil vislumbrar que uma das metas prioritárias do aconselhamento genético é ajudar famílias, que estão ou que se 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, à defesa dos interesses dos indivíduos e famílias, e não os da sociedade<sup>8</sup> (A).

Com base em todas essas considerações, o objetivo desse manuscrito foi descrever e comparar as técnicas diagnósticas pré-natais, citar suas indicações e prováveis riscos, assim como avaliar a importância do aconselhamento genético.

## Metodologia

Este trabalho tratou-se de uma revisão da literatura, realizada a partir de buscas nas bases de dados *Scientific Electronic Library* (SciELO), *Medical Literature Analysis and Retrieval System on Line* (MEDLINE) e *Science Direct*, utilizando-se os seguintes descritores: Diagnóstico Genético Pré-Natal, Cariótipo, Bandamento GTG, *Fluorescence In Situ Hybridization* (FISH), *Multiplex Ligation-Dependent Probe Amplification* (MLPA), Aconselhamento Genético e Síndromes Genéticas. Foram selecionados estudos,

preferencialmente ensaios clínicos randomizados e controlados, relacionados ao diagnóstico genético em sua amplitude. A partir desse levantamento, foram selecionados 31 artigos específicos sobre o tema, publicados nos últimos 15 anos. Foram incluídos 17 ensaios clínicos, 9 estudos observacionais, 4 relatos de casos e 1 trabalho desprovido de avaliação crítica.

## Técnicas diagnósticas

Para Sanseverino<sup>2</sup> (B), existem alguns procedimentos chamados invasivos para DPN. Os principais procedimentos invasivos são: a biópsia de vilos coriais (BVC), a amniocentese e a cordocentese.

A BVC é um método de diagnóstico genético pré-natal que pode ser realizado com segurança no primeiro trimestre da gestação. Os vilos coriais correspondem ao tecido que se transformará na placenta e têm a mesma composição genética que o feto<sup>6</sup> (C).

Esse procedimento consiste na obtenção de uma amostra de tecido trofoblástico para análise genética, considerando-se a mesma origem embriológica de formação fetal e placentária (as vilosidades coriônicas originam-se do trofoblasto extra-embriônico). A via de acesso escolhida para a obtenção do fragmento placentário pode ser transabdominal.

Para a realização da BVC usa-se uma agulha fina com guia obturadora que é inserida no abdômen materno orientada por ultrassom. A seguir, retira-se a guia e acopla-se uma seringa na qual é aplicada pressão negativa e realizam-se movimentos repetidos para trás e para a frente, coletando o material. Na BVC, o material coletado pode ser analisado diretamente ou após cultivo, podendo ser utilizado para estudo citogenético, ensaio enzimático ou análise molecular<sup>4</sup> (A).

A BVC apresenta como grande vantagem o tempo de realização: por volta de 11 semanas de idade gestacional. Para Fonseca<sup>4</sup> (B), o período ideal para a realização da BVC é entre 10 e 14 semanas. Segundo Magalhães e Magalhães<sup>9</sup> (A), também evita a ansiedade adicional de esperar pela época adequada da amniocentese (15 a 16 semanas, mais 2 semanas para o resultado, chegando o mesmo com cerca de 17 a 18 semanas de curso de gravidez).

No primeiro trimestre gestacional, a BVC é o procedimento diagnóstico invasivo mais seguro. É um exame que pode ser também realizado na gestação múltipla; porém, em cerca de 5% dos casos, não se pode ter certeza de que o material coletado corresponde a ambas as placentas, nas gestações em que as placentas se localizarem no mesmo lado do útero<sup>9</sup> (A).

A BVC tem as mesmas indicações que a amniocentese. A vantagem da BVC é que o resultado pode ser obtido em 5 a

8 dias após o procedimento. É importante também observar que a BVC tem seu período de indicação superponível àquele da realização da translucência nucal, permitindo uma resposta rápida para os casos em que este teste de rastreamento indica um risco muito elevado de doença fetal. Além disso, determinadas doenças metabólicas só podem ser diagnosticadas quando a análise enzimática é feita nesse tipo de células<sup>4</sup> (A).

Segundo esses autores, a segurança da BVC já foi bastante discutida no passado recente. A maioria dos centros tem taxas de perda fetal relacionadas ao procedimento em torno de 1%. O aparente maior risco da BVC quando comparada a amniocentese é devido à diferença na idade gestacional na qual é realizado o procedimento, uma vez que ocorrem mais perdas espontâneas em uma fase mais inicial da gravidez. Deve-se evitar o procedimento antes das 9 semanas de gestação devido à possibilidade de ocorrer defeitos de encurtamento de membros fetais, nessa fase<sup>6</sup> (C).

Apesar de todos os benefícios da BVC, existem algumas contra-indicações. Existem algumas recomendações prévias para a realização da biópsia aspirativa de BVC por via transvaginal. 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<sup>7</sup> (B). 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<sup>7</sup> (B).

Além disso, a punção de vilosidades coriônicas e sua análise permitem detectar algumas trissomias que seriam observadas algumas semanas mais tarde. Com isso, estaríamos realizando um exame que não seria necessário se aguardássemos algumas semanas, uma vez que tais aberrações não permitiriam a sobrevivência fetal<sup>7</sup> (B).

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<sup>10</sup> (A). 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%<sup>11</sup> (A). Tal risco implica a perda do conceito por infecção, por ruptura de membranas ou por outras causas<sup>7</sup> (B).

A amniocentese realizada a partir da 14<sup>a</sup> semana é um dos métodos mais difundidos para a obtenção de material fetal com

finalidade de DPN de alterações genéticas, embora, historicamente, ela tenha surgido na mesma época que se desenvolveram os primeiros trabalhos de coleta de vilosidades coriônicas.

Isso se deveu, 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<sup>12</sup> (D). Além disso, a segurança e o baixo índice de complicações decorrentes da amniocentese fizeram com que ela se tornasse rotina na maioria dos serviços<sup>13</sup> (A).

A amniocentese consiste na obtenção de LA através de punção do abdômen materno com agulha fina guiada por ultrassom<sup>4</sup> (A). Na amniocentese, a coleta de LA por punção via abdominal é elemento-chave no diagnóstico genético-fetal<sup>9</sup> (A). O material utilizado para análise são as células fetais flutuantes no líquido, e algumas análises podem ser realizadas no sobrenadante<sup>2</sup> (B). O período da gestação mais adequado para a coleta do LA e para a análise de células situa-se entre 15/16 e 18 semanas<sup>9</sup> (A).

A amniocentese e a subsequente análise do LA são utilizadas para detectar principalmente: doenças congênitas, defeitos de tubo neural, idade gestacional e maturidade fetal pulmonar, sendo indicada principalmente a mulheres acima de 35 anos devido à maior probabilidade de anormalidades cromossômicas fetais (síndrome de Patau e Edwards), além de tornar possível o exame do DNA para testes de paternidade<sup>4</sup> (A).

Mas é importante ressaltar que muitos defeitos do nascimento não podem ser detectados pela amniocentese.

A amniocentese para diagnóstico genético é um procedimento que não impõe um aumento significativo no risco para a evolução da gravidez. Considerando-se os dados existentes, atribui-se um risco adicional de 0,5 a 1,0% de abortamento nas gestações nas quais é realizada a amniocentese para estudo genético<sup>4</sup> (A).

A cordocentese foi desenvolvida por Daffos et al.<sup>14</sup> (B), na França, em 1983. Esses autores tinham 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<sup>7</sup> (B).

A técnica consiste em um minucioso exame ultrassonográfico para a localização da região de implantação do cordão na placenta, sendo essa região, sempre que possível, a eleita para a cordocentese<sup>7</sup> (B).

Em outras palavras, a cordocentese é a punção do vaso umbilical, e é utilizada quando a idade gestacional é avançada demais para a realização de amniocentese, na ausência de LA ou para esclarecimento diagnóstico mais rápido<sup>2</sup> (B).

Emprega-se tal procedimento para o diagnóstico ou terapêutica fetal. Pode ser realizada a partir de 18 semanas de gestação e apresenta um risco de perda fetal em torno de

0,5 a 1,9%. O procedimento é realizado ambulatorialmente e deve ser precedido de uma cuidadosa revisão da anatomia fetal e de seus anexos. Utiliza-se uma agulha fina e longa que é inserida no abdômen materno e direcionada ao local da punção com auxílio do ultrassom. Uma amostra de 3 a 4 mL de sangue é suficiente para a maioria dos exames e essa quantidade pode ser retirada com segurança nessa idade gestacional<sup>4</sup> (A).

Apresenta a vantagem da rápida obtenção do cariótipo, em poucos dias<sup>9</sup> (A), ou seja, além da possibilidade de diagnóstico genético rápido, em até 24 h, por meio do estudo do sangue fetal podemos diagnosticar uma série de outras patologias como as infecções e a doença hemolítica perinatal. A cordocentese pode também servir como via de acesso para transfusão de hemácias, infusão de drogas e talvez, em um futuro próximo, para a transferência de células com vistas à terapia gênica<sup>4</sup> (A).

As complicações maternas incluem o risco de infecção e de sensibilização Rh se a gestante for Rh negativa. O risco de abortamento é de aproximadamente 1%. Outras complicações incluem a ruptura prematura das membranas ovulares, hemorragia e trombose do vaso do cordão umbilical<sup>4</sup> (A).

Após a coleta do material, sendo ele vilos coriárias, LA ou sangue, o mesmo é encaminhado para o laboratório para a realização do exame genético convencional, o cariótipo com bandeamento.

O cariótipo é, essencialmente, a organização dos pares de cromossomos homólogos alinhados pelo centrômero, de acordo com o tamanho, posição do centrômero e padrão de bandas que exibem. A coloração e o bandeamento de cromossomos revelam padrões de bandas intrínsecos que são específicos e reprodutíveis para cada cromossomo de cada espécie<sup>15</sup> (A).

## Bandeamento

O bandeamento-G por digestão dos cromossomos pela enzima proteolítica tripsina, com subsequente coloração com Giemsa (GTG – Bandeamento-G por ação da tripsina e coloração com Giemsa), tornou-se uma técnica de referência de bandeamento para a obtenção de cariótipos das mais variadas espécies<sup>15</sup> (A). Esse tipo de bandeamento e o bandeamento-R são fundamentais para a identificação e caracterização dos cromossomos em mamíferos<sup>16</sup> (C). O bandeamento-R, através da cromomicina A3 (CMA3), fluorocromo com afinidade para sequências ricas em bases GC, produz padrões de bandeamento fluorescente específicos e reversos aos obtidos através do bandeamento-G<sup>15</sup> (A).

O bandeamento-C produz uma coloração específica da heterocromatina constitutiva (HC), pois causa a perda de DNA nas

regiões não heterocromáticas, produzindo um contraste positivo das regiões heterocromáticas que se localizam, principalmente, nas regiões centroméricas dos cromossomos<sup>15</sup> (A). Esse bandejamento pode ajudar na organização de cariótipos, na medida em que, por vezes, permite esclarecer determinadas dúvidas na identificação dos cromossomos.

A aplicação de técnicas que produzem diferenciação longitudinal nos cromossomos, como os bandeamentos cromossômicos referidos, possibilitou uma caracterização mais detalhada do cariótipo, com identificação individual dos cromossomos, distribuição de segmentos heterocromáticos e uma melhor compreensão da estrutura cromossômica. Além disso, os bandeamentos cromossômicos permitem a detecção de alguns rearranjos cromossômicos<sup>16</sup> (C).

Apesar de o cariótipo ser um exame de muita precisão, pesquisadores buscaram alternativas para suprir outra de suas grandes limitações: o tempo que a cultura de células leva para atingir o crescimento celular desejado (em torno de 10 a 14 dias) e conseqüentemente, a demora do resultado, o risco de perda da cultura por contaminação ou falta de crescimento celular; com isso, nenhum resultado é atingido, permanecendo a família sem um esclarecimento sobre a situação, além da carência de profissionais especializados para o mesmo<sup>17</sup> (A).

## Diagnóstico molecular

O mais importante avanço, nos últimos 20 anos, foi o desenvolvimento da técnica citogenética molecular chamada de FISH<sup>18,19</sup> (A). Através de uma hibridização do DNA alvo com sondas fluorescentes na própria lâmina, essa técnica pode detectar os principais cromossomos envolvidos em aneuploidias (13, 18, 21, X e Y), que representam 90% de todas essas anormalidades cromossômicas<sup>19</sup> (A). A técnica pode ser realizada em até 48 h, e não depende da cultura de células, ou seja, essa hibridização pode ocorrer em núcleos interfásicos de LA, conseqüentemente abreviando o resultado. No DPN, o FISH é bastante utilizado como uma resposta rápida e inicial das principais aneuploidias (triagem), necessitando-se de uma confirmação complementar através do cariótipo.

O FISH em núcleos interfásicos é utilizado através de *kits*, comercialmente disponíveis, e tem demonstrado, em múltiplos estudos, ser um método altamente sensível e específico para a detecção de aneuploidias<sup>20</sup> (B). Obviamente a capacidade diagnóstica do FISH é limitada pelas sondas que são escolhidas; conseqüentemente, anormalidades cromossômicas estruturais, aberrações cromossômicas numéricas incomuns, ou marcadores, não ficarão evidenciados, necessitando do cariótipo para detectar ou descartar essas raras, porém possíveis, alterações<sup>17</sup> (A).

Outra técnica de citogenética molecular que tem sido muito utilizada recentemente é a MLPA, que é uma análise quantitativa baseada na reação em cadeia da polimerase (PCR)<sup>21</sup> (A). Possui muitas vantagens, como a alta eficiência, facilidade de operacionalizar, e necessidade de pequenas quantidades de DNA. Com apenas 20 ng de DNA e somente um par de iniciadores, essa nova tecnologia é capaz de detectar tanto um número anormal de sequências do DNA genômico, como uma mutação de ponto<sup>17</sup> (A).

Nessa técnica, as sondas adicionadas às amostras é que são amplificadas, e são capazes de discriminar sequências que diferem em apenas um único nucleotídeo<sup>22</sup> (A). Os produtos gerados pela PCR são separados por eletroforese capilar adaptada em sequenciador automatizado e analisadas através de um *software*<sup>17</sup> (A).

Tanto o termociclador, como o sequenciador, são equipamentos fundamentais e estão presentes hoje em dia em quase todos os laboratórios de biologia molecular. Até 96 amostras podem ser analisadas simultaneamente, e os resultados podem ser obtidos em 24–48 h<sup>17</sup> (A).

Existem *kits* que estão disponíveis comercialmente e são específicos para a detecção de aneuploidias. Esses *kits* contêm oito sondas independentes para cada cromossomo 13, 18, 21, X e mais quatro sondas específicas para o cromossomo Y, e são muito utilizados para a detecção rápida de aberrações numéricas desses cromossomos no DPN<sup>17</sup> (A).

Embora a aplicação da técnica de MLPA seja fácil, a implantação de um novo protocolo desse ensaio é muito complexa e demanda muito tempo para se conseguir determinar as condições ideais para a sua utilização. Os resultados dependem basicamente da qualidade da extração de DNA<sup>23</sup> (B).

Uma alternativa para avaliar mutações cromossômicas submicroscópicas, que não podem ser detectadas no cariótipo convencional, é a técnica de hibridização genômica comparativa (aCGH). O aCGH permite a detecção de anormalidades cromossômicas numéricas e estruturais de forma rápida e precisa. Estudos mais elaborados serão necessários para determinar se o aCGH irá tornar-se o teste de primeira linha para detectar anormalidades cromossômicas em amostras fetais<sup>24</sup> (A).

## Perspectiva: diagnóstico pré-natal com o uso do sangue materno

As células fetais aparecem na circulação materna precocemente no primeiro trimestre e continuam presentes através da gestação<sup>25</sup> (A). Durante a gravidez, essa concentração aumenta gradualmente, acentuando-se antes do nascimento<sup>26</sup> (A), podendo ser utilizadas para o DPN precoce de aneuploidias e doenças genéticas<sup>25</sup> (A).

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 muitas doenças genéticas<sup>7</sup> (B).

Sabe-se que células fetais atravessam a placenta e podem ser encontradas na circulação materna<sup>27</sup> (B) e que tais células poderão ser concentradas ou separadas por métodos imunológicos, com o uso, por exemplo, de anti-I fetal<sup>28</sup> (B). A aplicação dos cicladores de temperatura para a multiplicação de genes com o uso da PCR é capaz de multiplicar genes ou regiões específicas de genes milhões de vezes no intervalo de algumas horas. Com isso, é de se esperar que, em futuro bem próximo, seja possível o diagnóstico bioquímico de alterações de várias doenças genéticas e mesmo de doenças infectocontagiosas com o uso de células fetais obtidas por simples punção venosa da gestante<sup>29</sup> (C).

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 sistema 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 sanguínea materna<sup>7</sup> (B).

Ao lado disso, vários marcadores proteicos e enzimáticos podem ser constatados no soro materno em microquantidades, 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<sup>30</sup> (A).

Outro obstáculo, também, é a persistência dessas células fetais na circulação materna de gestações anteriores. Atualmente,

o DPN não invasivo, pelo isolamento e pela análise genética dessas células, vem procurando evidenciar a persistência dessas células fetais na circulação materna, através de amostras de sangue de mulheres com gestações anteriores. O DNA nuclear, amplificado por PCR para sequências de cromossomo Y em mulheres, longo tempo após uma gravidez do sexo masculino, foi considerado como uma evidência de células fetais masculinas persistentes. Há relatos da presença de DNA de células de feto masculino em sangue de mulher que teve seu último filho 27 anos antes do estudo<sup>31</sup> (B).

## Considerações Finais

A anomalia fetal é um evento preocupante na vida das grávidas e da família. O fato de esclarecer o diagnóstico ajuda os pais a lidarem com os sentimentos negativos e com a sua própria ansiedade. Quando o casal é orientado sobre a patologia do seu bebê e consegue compreendê-la melhor, todos os procedimentos médicos se tornam menos ameaçadores.

O rastreamento da anomalia feito pela idade materna, o rastreamento bioquímico em sangue materno e o rastreamento biofísico pela ultrassonografia trabalham com uma sensibilidade que ultrapassa os 90%.

A coleta do material biológico para estudo genético é altamente eficiente e com baixos níveis de complicações. O exame rápido através do FISH e/ou o exame tradicional através do bandeamento, efetivam o diagnóstico cromossômico.

Dessa forma, o conhecimento e a aplicação da genética clínica, utilizando o aconselhamento genético, trazem a certeza de um bom acompanhamento pré-natal necessário à assistência médica.

## Leituras suplementares

1. Steele MW, Breg WR. Chromosome analysis of human amniotic fluid cells. *Lancet*. 1966;1(7434):383-5.
2. Sanseverino S. Investigação genética pré-natal. In: Rotinas em obstetrícia. 5a ed. Porto Alegre: Artmed; 2006.
3. Thompson, Thompson. Genética Médica. 6a ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 2001.
4. Fonseca S. Ultrassonografia em obstetrícia: explorando um mundo novo. In: A relação pais-bebê: da observação à clínica. São Paulo: Casa do Psicólogo; 2000.
5. Aymé S. As injustiças do nascimento. Linadem (Liga Internacional para o Estudo e Apoio da Deficiência Mental). Lisboa; 2005.
6. Suassuna, AMV. A influência do diagnóstico pré-natal na formação de possíveis psicopatologias do laço pais-bebê. [Dissertação de Mestrado]. São Paulo: Universidade Presbiteriana Mackenzie; 2008.
7. Pinto Jr W. Diagnóstico pré-natal. *Ciênc Saúde Coletiva*. 2002;7(1):139-57.
8. Beiguelman B. Citogenética humana. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 1982.
9. Magalhães JA, Magalhães OA. Medicina fetal. In: Rotinas em obstetrícia. 5a ed. Porto Alegre: Artmed; 2006.
10. Warren RC, Butler J, Morsman JM, Mckenzie C, Rodek C.H. Does chorionic villus sampling cause fetomaternal haemorrhage? *Lancet*. 1985;1(8430):691.
11. Milner R, Johnston M, Taylor M, Hamerton JL. Multicentre randomised clinical trial of chorion villus sampling and amniocentesis. First report. Canadian Collaborative CVS-Amniocentesis Clinical Trial Group. *Lancet*. 1989;1(8628):1-6.
12. Nazareth HRS, Pinto Jr W, Andrade JAD. Diagnóstico pré-natal de aberrações cromossômicas. Primeira experiência brasileira. *Rev Bras Genética* IV. 1981;3:459-70.
13. Pinto JW. Diagnóstico pré-natal e genético. *Neurologia infantil*. 1987;74-82.
14. 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*. 1983;146(8):985-7.
15. Verma RS, Babu A. Human chromosomes: principles and techniques. New York: McGraw Hill; 1995.

16. Chaves R, Adegas F, Santos S, Guedes-Pinto H, Heslop-Harrison JS. In situ hybridization and chromosome banding in mammalian species. *Cytogenet Genome Res.* 2002;96(1-4):113-6.
17. Kessler RG, Sanseverino MTV, Leistner-Segal S, Magalhães JAA, Giugliani R. Prenatal diagnosis of fetal chromosomal abnormalities: Report of 18-year experience in a Brazilian public hospital. *Genet Mol Biol.* 2008;31(4):836-40.
18. Klinger K, Landes G, Shook D, Harvey R, Lopez L, Locke P, et al. Rapid detection of chromosome aneuploidies in uncultured amniocytes by using fluorescence in situ hybridization (FISH). *Am J Hum Genet.* 1992;51(1):55-65.
19. Munné S, Magli C, Bahçe M, Fung J, Legator M, Morrison L, et al. Preimplantation diagnosis of the aneuploidies most commonly found in spontaneous abortions and live births: X,Y, 13, 14, 15, 16, 18, 21, 22. *Prenat Diagn.* 1998;18(13):1459-66.
20. Shaffer LG, Bui TH. Molecular cytogenetic and rapid aneuploidy detection methods in prenatal diagnosis. *Am J Med Genet C Semin Med Genet.* 2007;145C(1):87-98.
21. Schouten JP, McElgunn CJ, Waaijer R, Zwijnenburg D, Diepvens F, Pals G. Relative quantification of 40 nucleic acid sequences by multiplex ligation-dependent probe amplification. *Nucleic Acids Res.* 2002;30(12):e57.
22. Zhou D, Ren Z. Multiplex ligation-dependent probe amplification and its application. *Zhonghua Yi Xue Yi Chuan Xue Za Zhi.* 2009;26(1):45-9.
23. Roeder AD, Elsmore P, Greenhalgh M, McDonald A. Maximization DNA profiling success from sub-optimal quantities of DNA: a staged approach. *Forensic Scienc Intern Genet.* 2009;3(2):128-37.
24. Van den Veyver IB, Patel A, Shaw CA, Pursley AN, Kang SHL, Simovich MJ, et al. Clinical use of array comparative genomic hybridization (aCGH) for prenatal diagnosis in 300 cases. *Prenat Diagn.* 2009;29(1):29-39. doi:10.1002/pd.2127.
25. Thomas MR, Tutschek B, Frost A, Rodeck CH, Yazdani N, Craft I, et al. The time of appearance and disappearance of fetal DNA from the maternal circulation. *Prenat Diagn.* 1995;15(7):641-6.
26. Rijnders RJ, Van RB, Peters ED, Goeree JK, Van CE, Ploos JK. Earliest gestational age for fetal sexagem in cellfree maternal plasma. *Prenat Diagn.* 2003;23(13):1042-4.
27. Schröder J, De La Chapelle A. Fetal lymphocytes in the maternal blood. *Blood.* 1972;39(2):153-62.
28. Kan YN. 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.* 1974;43(3):411-5.
29. Simpson JL, Elias S. Isolating fetal cells from maternal blood. *JAMA.* 1993;270(19):2357-61.
30. Band EB, Thompson W, Elwood JH, Cran GW. Evolution of measurement of maternal plasma alpha-fetoprotein levels as a screening test for fetal neural tube defects. *Br J Obstet Gynaecol.* 1977;84(4):574-7.
31. Bianchi DW, Zickwolf GK, Weil GJ, Sylvester S, Demaria MA. Male fetal progenitor cells persist in maternal blood for as long as 27 years postpartum. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1996;93(2):705-8.