

# ANAIIS

## EICTI 2017

6° Encontro de  
Iniciação Científica

2° Encontro de Iniciação  
ao Desenvolvimento  
Tecnológico e Inovação

4 a 6 de outubro de 2017

Universidade Federal da Integração Latino-Americana (UNILA)  
Av. Tarquínio Joslin dos Santos, nº 1000  
Foz do Iguaçu, Paraná – Brasil



Realização:



Apoio:



# ANÁLISE INVESTIGATIVA DE CROMOSSOMOPATIAS NUMÉRICAS E SEUS MECANISMOS DE HERANÇA

**SANTOS, Alice Celente dos.**

Estudante do Curso de Medicina, bolsista PIBIS-FA - ILACVN – UNILA;  
E-mail: [alice.celente@aluno.unila.edu.br](mailto:alice.celente@aluno.unila.edu.br);

**MENDES, Matheus Lourenço.**

Estudante do Curso de Medicina, bolsista IC-FA - ILACVN – UNILA;  
E-mail: [matheus.mendes@aluno.unila.edu.br](mailto:matheus.mendes@aluno.unila.edu.br)

**TERENCIO, Maria Leandra**

Docente/pesquisador do curso Medicina – ILACVN – UNILA.  
E-mail: [maria.terencio@unila.edu.br](mailto:maria.terencio@unila.edu.br).

## 1 INTRODUÇÃO

A citogenética clínica é a ciência que se dedica ao estudo da estrutura dos cromossomos e do padrão de herdabilidade estabelecido nos diversos contextos fisiológicos e patológicos, relacionando-lhes com a aplicação na prática médica. Alterações cromossômicas (numéricas ou estruturais) estão relacionadas com atraso no desenvolvimento físico e mental e transtornos morfofuncionais em variados sistemas e órgãos (MALUG; RIEGEL, 2009). Estima-se que as cromossomopatias representem, no mundo, a causa de 50% dos abortos espontâneos, 6% do número de casos de natimortos e 1% do número de ocorrências de nascidos vivos malformados (Bastos *et al.*, 2014). Apresentam-se, assim, como uma das mais representativas anomalias no grupo das doenças genéticas. Entretanto, a área profissional de Genética Médica pública no Brasil apresenta diversos obstáculos para uma implantação integral de planos de intervenção ou estudos populacionais. Destaca-se, nesse contexto, a falta de profissionais especializados na ciência. Além da falta de recursos humanos, é também limitado o número de centros fornecedores de exames diagnósticos no campo da Genética Clínica, como o cariótipo. Agrava a situação o desconhecimento da população em relação aos padrões de herdabilidade, verificando-se, no núcleo familiar com membros portadores de anomalias genéticas, a decisão de não ter mais filhos ou aumento da recorrência dos casos. Torna-se, então, essencial, o acompanhamento de tais casos através do Aconselhamento Genético. De acordo com o Ministério da Saúde, qualquer profissional da área de saúde habilitado pode realizar o aconselhamento genético

(BRASIL, 2004). Dessa maneira, o Projeto de Pesquisa “Análise investigativa de cromossomopatias numéricas e seus mecanismos de herança” dedica-se à interação entre a Universidade Federal da Integração Latino-Americana e a Tríplice Fronteira na esfera da prestação de serviços de diagnóstico em Genética Clínica, inexistentes na região, de maneira a concentrar o estudo epidemiológico das cromossomopatias numéricas relacionadas à área científica. Assim, são objetivos específicos: investigar os padrões de herdabilidade das doenças genéticas humanas de modo a inferir se as mesmas referem-se a alterações cromossômicas, erros na gametogênese dos pais ou herança multifatorial por meio do exame de cariótipo; buscar a implantação de técnicas moleculares investigativas relacionadas ao diagnóstico de anomalias genéticas de ordem molecular; gerar conhecimento e estabelecer metodologias que possam ser utilizadas no diagnóstico de doenças hereditárias; e auxiliar na identificação de indivíduos assintomáticos portadores de mutações gênicas ou cromossômicas.

## **2 METODOLOGIA**

O público alvo é composto por portadores sintomáticos e assintomáticos suspeitos para cromossomopatias encaminhados pelos profissionais da rede pública de saúde e educação em diversos contextos, bem como seus familiares, casais acometidos por abortos espontâneos e gestantes com fetos suspeitos de cromossomopatias. Inicialmente, realiza-se anamnese com o índice e familiares para investigação clínica do caso. Após concordância, os participantes são submetidos à coleta de sangue periférico. São coletados 3 a 5 ml de sangue periférico em frasco *vacutainer* heparinizado. O processo de sedimentação é seguido por coleta de cerca de 1 ml do plasma sobrenadante ao hematócrito, que é recolhido e transferido ao meio de cultura próprio para linfócitos, submetido à incubação em estufa a 37°C por 71 horas. Em seguida, são adicionados 100 microlitros de colchicina, com posterior nova submissão à estufa por 50 min. Finalizado o processo, o material é submetido à centrifugação a 800 rotações por minuto (rpm) por 8 minutos. Descarta-se o sobrenadante, sendo deixado aproximadamente 1,5 ml no frasco. São adicionados 7 ml de solução hipotônica de KCl (0,075M). Novamente, o material é levado à estufa a 37 °C por 35 minutos. Posteriormente, centrifuga-se o material a 800 rpm por 8 minutos. O sobrenadante é descartado e adiciona-se 6 ml de fixador *Carnoy* (metanol: ácido acético, 3:1) ao frasco. Após homogeneização, a mistura é

novamente submetida à centrifugação sob os parâmetros anteriores. Esse processo é repetido mais duas vezes. Finalmente, o sobrenadante é descartado, restando no frasco aproximadamente 0,5 ml. Adiciona-se 1,5 ml de fixador *Carnoy* e homogeneiza-se o conteúdo. O material é então transferido para um tubo *ependorf* e submetido à refrigeração a  $-10^{\circ}\text{C}$ . Esse material é utilizado para observação microscópica através da coloração por *Giemsa*, com posterior montagem de cariótipo. Nos casos cabíveis, é possível a realização de bandeamento. Neste processo, as lâminas são tratadas com tripsina 0,025% em tampão fosfato pH 6,8 por 30 a 60 segundos, com posterior lavagem em água destilada e aplicação de coloração *Giemsa*, possibilitando a visualização das bandas G. Todo o processo é realizado preferencialmente no complexo de laboratórios da Universidade Federal da Integração Latino-Americana, campus Jardim Universitário. Naqueles casos em que as anomalias são detectadas ao nascimento, opta-se pela coleta de sangue de cordão umbilical imediatamente no parto, seguindo os mesmos procedimentos citados acima.

### **3 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA**

O cromossomo é uma estrutura complexa, formada de DNA, RNA e proteínas, e que contém os genes dos organismos. Na espécie humana, os cromossomos apresentam-se aos pares, compondo 22 pares autossômicos e 1 par de cromossomos sexuais, totalizando 46 cromossomos. Na interfase, os cromossomos apresentam-se na forma de cromatina, que, ao microscópio, pode ser visualizada na forma de eucromatina ou heterocromatina. Para a visualização dos cromossomos, estabelece-se como momento ideal o da metáfase (MALUF; RIEGEL, 2009). Os indivíduos com 46 cromossomos são considerados euploides. Em relação às alterações numéricas, os indivíduos podem ser poliploides (possuem número de cromossomos múltiplos de 23, condição incompatível com a vida), aneuploides (possuem constituição cromossômica com ganho ou perda de cromossomos, não múltiplo de 23, sendo que, em algumas condições, pode ser compatível com a vida) e mosaicos (que possuem diferentes conjuntos cromossômicos em linhagens celulares variadas) (MALUF; RIEGEL, 2009). Com relação às alterações numéricas, registra-se que aquelas relacionadas aos cromossomos autossômicos tendem a ser mais graves e, na maioria das vezes, incompatíveis com a vida. Além de alterações

numéricas, os cromossomos também podem apresentar alterações estruturais. (MALUF; RIEGEL, 2009).

#### **4 RESULTADOS**

A análise do caso 1 não verificou alguma alteração numérica em 10 células analisadas de cada indivíduo. Na análise do caso 2, verificou-se cariótipo 47, XY em 13 lâminas analisadas, com trissomia do cromossomo 13, caracterizando a síndrome de Patau. Na análise do caso 3, foram analisadas 10 células da mulher, todas com contagem normal de cromossomos. Os casos 3-7 foram analisados a fim de servir como controle para criação de protocolo de novos reagentes, sendo, porém, inconclusivos por problemas próprios da preparação. A paciente do caso 8 apresenta fenótipo típico de X0 (Síndrome de Turner) e o cariótipo ainda está em análise. Foram coletadas amostras de sangue periférico de 1 paciente com miodistrofia a esclarecer, bem como de 4 de seus familiares. Apenas as lâminas de um indivíduo (irmã do paciente) tiveram metáfases visualizáveis, com cariótipo 46, XX sem alterações estruturais. O caso 9 está sendo estudado através de técnica de bandeamento G.

#### **5 CONCLUSÕES**

O projeto contemplou seus objetivos por explicar como as alterações cromossômicas dos pais podem inferir em diferentes padrões de herdabilidade dos filhos, ou na incapacidade da geração de uma prole. Além disso, possibilitou a integração do conhecimento teórico adquirido em sala de aula nos diferentes módulos do curso de medicina e a prática no campo da Genética, a análise dos resultados e a coleta da história clínica. Tratando-se de um projeto a ser continuado, espera-se aumentar o número de casos estudados.

#### **6 PRINCIPAIS REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS**

BASTOS, R.; RAMALHO, C.; DÓRIA, S. 2014: Prevalence of Chromosomal Abnormalities in Spontaneous Abortions or Fetal Deaths. **Revista Científica da Ordem dos Médicos Acta Med.** Port. 27(1):42-48.

FONSECA, R. **A construção de uma política pública para doenças raras no Brasil.** 2014. Trabalho de conclusão de curso em Saúde Coletiva - Universidade de Brasília, Brasília, 2014.

MALUF, S. W.; RIEGEL, M. **Citogenética humana** – Artmed. Porto Alegre, 2011.333p.

THOMPSON, J S.; THOMPSON, M W. **Genética médica – Thompson & Thompson**. 6ª edição. Ed. Guanabara Koogan. Rio de Janeiro – RJ. 2002. 388p.