

**UNIVERSIDADE DO ESTADO DO AMAZONAS
ESCOLA NORMAL SUPERIOR
LICENCIATURA EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS**

**ANÁLISE DE ALTERAÇÕES CROMOSSÔMICAS UTILIZANDO A TÉCNICA
BANDEAMENTO G EM PACIENTES DO SISTEMA ÚNICO DE SAÚDE COM
SUSPEITA DE DISTÚRBIOS GENÉTICOS**

MANAUS - AM

2019

**UNIVERSIDADE DO ESTADO DO AMAZONAS
ESCOLA NORMAL SUPERIOR
LICENCIATURA EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS**

ANANDA LARISE COLARES MENEZES

**ANÁLISE DE ALTERAÇÕES CROMOSSÔMICAS UTILIZANDO A TÉCNICA
BANDEAMENTO G EM PACIENTES DO SISTEMA ÚNICO DE SAÚDE COM
SUSPEITA DE DISTÚRBIOS GENÉTICOS**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado à coordenação do curso de Ciências Biológicas da Universidade do Estado do Amazonas para obtenção do título de licenciatura em Ciências Biológicas.

Orientador: Prof.º Dr. Cleiton Fantin

Coorientadora: Drª Denise Corrêa Benzaquem

MANAUS - AM

2019

Ficha Catalográfica

Ficha catalográfica elaborada automaticamente de acordo com os dados fornecidos pelo(a) autor(a).
Sistema Integrado de Bibliotecas da Universidade do Estado do Amazonas.

M543a Menezes, Ananda Larise Colares
Análise de Alterações Cromossômicas Utilizando a
Técnica Bandeamento G em Pacientes do Sistema Único de
Saúde com Suspeita de Distúrbios Genéticos / Ananda
Larise Colares Menezes. Manaus : [s.n], 2019.
41 f.: color.; 30 cm.

TCC - Graduação em Ciências Biológicas - Licenciatura
- Universidade do Estado do Amazonas, Manaus, 2019.
Inclui bibliografia
Orientador: Fantin, Cleiton
Coorientador: Benzaquem, Denise Corrêa

1. Citogenética. 2. Bandeamento G. 3. Cariótipo. I.
Fantin, Cleiton (Orient.). II. Benzaquem, Denise Corrêa
(Coorient.). III. Universidade do Estado do Amazonas. IV.
Análise de Alterações Cromossômicas Utilizando a
Técnica Bandeamento G em Pacientes do Sistema Único de
Saúde com Suspeita de Distúrbios Genéticos

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus por essa etapa importante na minha vida acadêmica. Agradeço a minha mãe Ana, minhas irmãs Amanda e Alanna por todo apoio incondicional e por enfrentar comigo todas as dificuldades encontradas ao longo do caminho. Agradeço a meu pai Antônio, onde quer que ele esteja em sua nova vida espiritual, por me ensinar a nunca desistir.

Agradeço aos meus amigos de curso Marcilene da Silva, Elias Mosqueiro, Sabrina Lima, Val Maia e Antônio Luís por todas as discussões acerca das diversas áreas da biologia.

Agradeço aos meus amigos e coordenadores do projeto OFS por me manter em contato com as várias áreas das licenciaturas em especial Amanda Gortz e Ney (E. Santos) que me mostraram a beleza da matemática e do curso de letras.

Agradeço aos meus orientadores Prof. Dr. Cleiton Fantin e Dr. Denise Benzaquem por todo ensino e pela oportunidade de trabalhar com citogenética. À Dr. Vânia Mesquita que nos encaminhou os voluntários. Agradeço meus colegas de laboratório Antônio Lucas e Sabrina Marcely pelo apoio e conversas durante a limpeza de lâminas.

A todos os professores do curso de biologia pela dedicação com ensino. A todas as pessoas que contribuíram de alguma forma com meu trabalho e vida acadêmica.

Muito obrigada!

Nas estepes sempre se usa a palavra azul para descrever o céu, mesmo que ele esteja cinzento – porque sabem que depois das nuvens ele continua azul.

O Zahir – Paulo Coelho

RESUMO

A citogenética é uma ciência que mantém foco nos estudos microscópicos dos cromossomos e nos revela informações importantes sobre a constituição genética de um ser vivo. Este estudo tem como objetivo avaliar as alterações cromossômicas que ocorrem nos linfócitos do sangue periférico de pacientes com suspeita de distúrbios genéticos. Foram encaminhados para essa pesquisa dez pacientes do Instituto de Saúde da Criança do Amazonas. O material genético foi coletado por punção venosa em um tubo com heparina. O meio de cultura foi preparado no mesmo dia da coleta no Laboratório de Citogenética Humana da unidade de Ciências da Saúde da Universidade do Estado do Amazonas. O método de bandeamento GTG foi utilizado para análise dos cromossomos, o cariótipo foi montado com auxílio do programa Gene All e as alterações investigadas segundo o ISCN. Foram contadas 100 metáfases e montado 10 cariótipos de cada paciente. Em nossos resultados 6 pacientes apresentaram número e estrutura normal de cromossomos, sendo 3 do sexo feminino com cariótipo 46,XX e 3 do sexo masculino com cariótipo 46,XY. Três pacientes apresentaram alteração no número de cromossomos, uma paciente do sexo feminino apresentou cariótipo 47,XX,+21 e 2 pacientes do sexo masculino apresentaram cariótipo 47,XY,+21. Não foi possível fazer a montagem de cariótipo de um dos pacientes devido a má qualidade das metáfases após verificação do meio celular. E encontramos a alteração cromossômica trissomia do 21 nos cariótipos que apresentaram alterações.

Palavras chave: Citogenética, Bandeamento G, Cariótipo.

ABSTRACT

Cytogenetics is a science that focuses on microscopic studies of chromosomes and reveals important information about the genetic makeup of a living being. This study aims to evaluate the chromosomal changes that occur in peripheral blood lymphocytes in patients with suspected genetic disorders. Ten patients from the Amazonas Children's Health Institute were referred for this research. Genetic material was collected by venipuncture in a heparin tube. The culture medium was prepared on the same day of collection at the Human Cytogenetics Laboratory of the Health Sciences unit of the Amazonas State University. The GTG banding method was used for chromosome analysis, the karyotype was assembled with the aid of the Gene All program and the alterations investigated according to ISCN. 100 metaphases were counted and 10 karyotypes of each patient were assembled. In our results 6 patients had normal number and structure of chromosomes, 3 female with 46, XX karyotype and 3 male with 46, XY karyotype. Three patients presented alteration in the number of chromosomes, one female patient presented karyotype 47, XX, + 21 and 2 male patients presented karyotype 47, XY, + 21. It was not possible to assemble a karyotype of one of the patients due to the poor quality of the metaphases after checking the cell medium. The trisomy 21 chromosomal alteration was found in the karyotypes that presented alterations.

Key words: Cytogenetics, G-Banding, Karyotype

LISTA DE FIGURAS

Figura 1.	Classificação dos cromossomos humanos de acordo com a posição do centrômero	13
Figura 2.	Cariótipo de homem normal (46,XY) por meio da técnica de bandeamento G	15
Figura 3.	Representação de deleção cromossômica	18
Figura 4.	Representação de duplicação cromossômica	18
Figura 5.	Representação de inversão cromossômica	19
Figura 6.	Representação de translocação cromossômica	19
Figura 7.	Cariótipo masculino alterado do paciente 47,XY+21	003 31
Figura 8.	Cariótipo feminino alterado da paciente 47,XX+21	007 31
Figura 9.	Cariótipo feminino normal da paciente 46,XX	002 32
Figura 10.	Cariótipo masculino normal do paciente 46,XY	004 32

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Caracterização dos voluntários participantes da pesquisa_____26

Tabela 2 - Resultados de análise por bandeamento G e meio de cultura____30

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	11
1.1 Histórico da citogenética	11
1.2. Classificação e estrutura dos cromossomos humanos	13
1.3. Técnica de Bandeamento G	14
1.4. Cariótipo.....	15
1.5 Alterações cromossômicas	17
1.6. Cromossomopatias	20
1.6.1. Síndrome de Turner.....	20
1.6.2. Síndrome de Klinefelter	20
1.6.3. Síndrome de Patau.....	21
1.6.4. Síndrome de Edwards	21
1.6.5. Síndrome de Down	22
1.6.6. Síndrome de Cri-du-chat.....	22
1.6.7. Leucemia mieloide crônica	22
2. JUSTIFICATIVA	23
3. OBJETIVOS	24
3.1 Geral	24
3.2 Específicos.....	24
4. MATERIAIS E MÉTODOS.....	25
4.1. Aspectos éticos	25
4.2. Caracterização da amostra	25
4.3. Coleta das amostras	26
4.4. Cultura de linfócitos.....	27
4.4.1. Incubação com colchicina.....	27
4.4.2. Solução Hipotônica	27

4.4.3. Fixação	27
4.5. Preparação das lâminas	28
4.6. Bandeamento GTG	28
4.7. Montagem do Cariótipo.....	29
5 - RESULTADO	30
6- DISCUSSÃO	33
7 – CONCLUSÃO.....	35
8 – REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	36
9 – ANEXOS	40

1. INTRODUÇÃO

1.1 Histórico da citogenética

A citogenética é um campo da genética que se caracteriza principalmente por manter seu foco em estudos microscópicos dos cromossomos, de sua morfologia, sua organização, sua replicação, sua função, suas anomalias e evolução (GUERRA, 1988; MASCENA, 2009; CHAVES & NICOLAU, 2013; MARTINS, 2017). Revela-nos informações relevantes sobre a constituição genética de um indivíduo, visto que cada cromossomo tem uma morfologia e tamanho característico (MASCENA, 2009).

A descoberta das estruturas celulares no século XVII com a invenção do microscópio abriu caminhos para diversos trabalhos como os de Matthias Schleiden e Theodor Schwann que propuseram a teoria celular. Anos mais tarde, com a descrição do núcleo como importante componente celular por Robert Brown, Heackel descreveu o núcleo como o principal agente responsável pela divisão das células. Em 1873, Anton Schneider descreveu de forma clara e objetiva o processo de divisão celular, descreveu como o conteúdo do núcleo transforma-se em filamentos mais grossos durante o processo de divisão e como esses filamentos se separam para duas células filhas (CREMASCO, 2008).

Em 1882 Walther Flemming foi primeiro a utilizar o termo mitose e a se referir a parte corável do núcleo como cromatina, também foi o primeiro a publicar ilustrações dos cromossomos humanos (MALUF, RIEGEL & COLS, 2011). Estudos de Roux, em 1883, ao examinar o comportamento dos cromossomos meióticos, concluiu que os cromossomos estavam relacionados ao mecanismo de herança (GUERRA, 1988).

Nos primeiros anos do século XX foi proposta a teoria da herança cromossômica, baseada nas leis mendelianas da herança redescobertas por Correns, em 1900, em trabalhos de Sutton, em 1903, que demonstrou um paralelismo existente entre o comportamento dos cromossomos na meiose e fertilização e o comportamento das unidades hereditárias postuladas por

Mendel. Os trabalhos de Boveri, em 1907, demonstraram que cada célula de embrião de equinodermos necessitam de um número específico de cromossomos para obter um desenvolvimento normal (MOORE, 1986). Esses trabalhos deram suporte para o surgimento da citogenética uma área que superpõe os conhecimentos da citologia e da genética (GUERRA, 1988).

Ainda no início do século XX, com o avanço das tecnologias da época, como o aperfeiçoamento das lentes ópticas, os estudos em citogenética concentraram-se em determinar o número correto de cromossomos e configuração sexual dos seres humanos. Surgiram relatos como os de von Winiwarter, em 1912, que concluiu que os homens tinham 47 cromossomos e as mulheres 48, propôs um mecanismo de determinação do sexo do tipo XX/Xo para humanos (GUERRA, 1988; MALUF, RIEGEL & COLS, 2011; FONSECA, 2017).

Na década de 50, Hsu anunciou que estudar células cultivadas aprimorava a análise dos cromossomos em relação aos estudos de células obtidas a partir de cortes histológicos. Hsu expressou a utilidade do método de meio de cultura ao usar na análise de cultura de células embrionárias humanas e estabeleceu um ideograma dos 48 cromossomos humanos (GUERRA, 1988; MALUF, RIEGEL & COLS, 2011; FONSECA, 2017).

Ainda na década de 50, foi descrito que através de um erro de laboratório, a utilização de solução hipotônica ocasionou o aumento das membranas celulares e separação dos cromossomos, tornando mais fácil visualizá-los. Em 1955, Ford e Hamerton modificaram essa técnica e também trabalharam em um método de pré-tratamento com colchicina para bloqueio de fuso mitótico e acúmulo de células em metáfase (GUERRA, 1988; MALUF, RIEGEL & COLS, 2011; FONSECA, 2017).

Em 1956 Tjio e Levan otimizaram a técnica de colchicina/hipotônica e após uma cuidadosa revisão de trabalhos apresentados anteriormente relataram formalmente que o número correto de cromossomos humanos é 46 e não 48 como se passou décadas acreditando. Em seguida Ford e Hamerton averiguaram e confirmaram as constatações de Tjio e Levan e um dogma que perdurou por 30 anos foi derrubado (GUERRA, 1988; MALUF, RIEGEL & COLS, 2011; FONSECA, 2017).

Em seguida se inicia a era da citogenética clínica quando em 1958 Lejeune descreve um número a mais dos menores cromossomos humanos em pacientes com síndrome de Down (MALUF, RIEGEL & COLS, 2011).

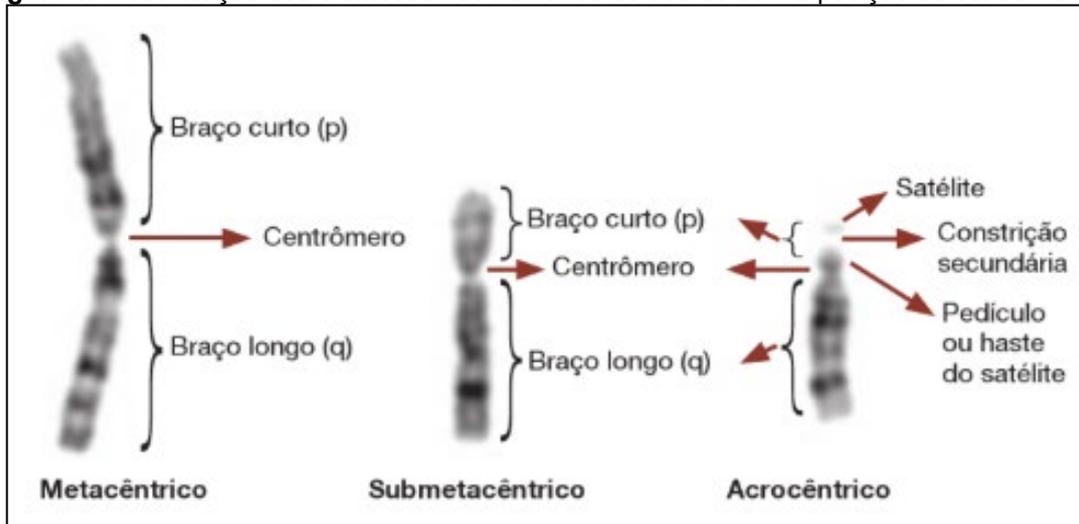
1.2. Classificação e estrutura dos cromossomos humanos

Os cromossomos humanos encontram-se no núcleo das células, é a forma espiralada da cromatina que obtém sua condensação máxima durante a divisão celular, especificamente na metáfase, fase que melhor são visualizados. São constituídos por diversas proteínas do tipo histonas, bases nitrogenadas purinas, como adenina e guanina e bases pirimidinas, como citosina e timina (MALUF, RIEGEL & COLS, 2011; ROSSETTO, 2015).

Os humanos possuem 46 cromossomos que se agrupam em 23 pares, sendo 22 pares autossômicos e dois pares sexuais, XX para o sexo feminino e XY para o sexo masculino. Os cromossomos são formados por duas cromátides irmãs que surgem a partir do processo de duplicação da cromatina. As cromátides são presas por uma região chamada centrômero ou constituição primária (MALUF, RIEGEL & COLS, 2011; ROSSETTO, 2015).

Os cromossomos diferenciam-se por seu tamanho e pela localização do centrômero, que os divide em dois braços, um braço curto, intitulado p, do francês *petit*, e um braço longo intitulado com a letra q. (THOMPSON & THOMPSON, 2002; AGUIAR, 2015). Podem ser classificados de acordo com a localização do centrômero em: metacêntricos, quando o centrômero se encontra na porção mediana do cromossomo e os braços curtos e longos apresentam tamanhos semelhantes; submetacêntricos, o centrômero é dito como excêntrico e os braços apresentam tamanhos notadamente desiguais; acrocêntricos, quando o centrômero é encontrado próximo a uma das extremidades chamada telômero. Os acrocêntricos, com exceção do Y, apresentam um apêndice denominado “satélite” (ROSSETTO, 2015; ISCN, 2016) (Figura 1).

Figura 1. Classificação dos cromossomos humanos de acordo com a posição do centrômero



Fonte: Citogenética Humana (Maluf; Riegel, 2011)

1.3. Técnica de Bandeamento G

Análises cromossômicas são realizadas com uma variedade de tecidos, porém o mais aconselhável é o cultivo de linfócitos de sangue periférico devido ao baixo custo econômico e o fornecimento de um bom número de células para divisão (MASCENA, 2009).

As células passam por técnicas de coloração de cromossomos ou processo de bandeamento que permite visualizar em cada cromossomo suas zonas ou bandas, brilhantes ou escuras (BURNS & BOTTINO, 1991). Bandeamentos com o corante Giemsa são significativos na citogenética humana, pois permitem a identificação positiva e a construção de um cariótipo, assim como permitem constatar pequenas variações estruturais como duplicações, inversões, deleções e etc. (GUERRA, 1988; BURNS & BOTTINO, 1991). Esses bandeamentos, além de permitir a localização exata da anomalia no cromossomo nos permite uma melhor compreensão das alterações cromossômicas nos cariótipos (GUERRA, 1988).

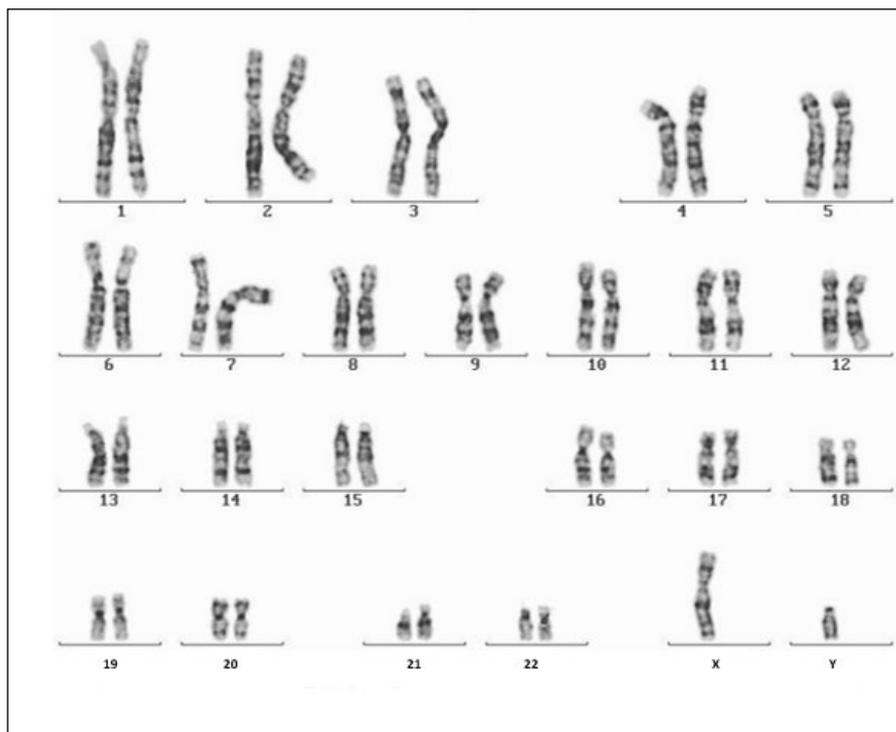
A técnica de bandeamento com Giemsa combinado com tripsina, uma enzima que catalisa a degradação de proteínas através da hidrólise das ligações peptídicas, é utilizada para que ocorra a desnaturação das proteínas cromossômicas como as histonas, é a mais usada em laboratórios de citogenética. A Giemsa cora os pares de cromossomos de modo característico de bandas claras e escuras (bandas G), as bandas claras possuem as bases nitrogenadas guanina e citosina e são pouco condensadas. As bandas escuras

possuem adenina e timina e são mais condensadas. Essa técnica diferencia individualmente cada cromossomo e auxilia na identificação de anomalias estruturais ou numéricas (BURNS & BOTTINO, 1991; THOMPSON & THOMPSON, 2002).

1.4. Cariótipo

Cariótipo descreve o conjunto cromossômico normal ou anormal de um indivíduo definido por número e morfologia cromossômica característico de uma espécie. O cariótipo é uma fotomicrografia de cromossomos, recortada e organizada visando o diagnóstico de anomalias genéticas relacionadas a morfologia e números cromossômicos (Figura 2) (ISCN, 2016).

Figura 2. Cariótipo de homem normal (46, XY) por meio da técnica de bandeamento G.



Fonte: Banco de dados do Departamento de Genética da FMRP - USP

Os pares de cromossomos autossômicos são organizados em ordem decrescente de tamanho e numerados de 1 a 22, os cromossomos sexuais

recebem a notação X e Y. Os pares cromossômicos são reunidos em sete grupos designados pelas primeiras letras do alfabeto de A à G (ISCN, 2016).

No grupo A estão os pares de cromossomos de 1 a 3, os maiores cromossomos metacêntricos e submetacêntricos, distinguíveis facilmente pelo tamanho e posição do centrômero. No grupo B estão os pares 4 e 5 que são cromossomos submetacêntricos grandes. O grupo C é representado pelos pares 6 a 12 que são os metacêntricos ou submetacêntricos de tamanho médio. O cromossomo sexual X se assemelha aos cromossomos mais longos desse grupo (ISCN, 2016).

No grupo D, encontram-se os pares de 13 a 15 que são os acrocêntricos, ou cromossomos de tamanho médio com satélite. O grupo E comporta os pares 16 a 18 que são metacêntricos ou submetacêntricos relativamente curtos. No grupo F se encontra os menores metacêntricos, representados pelos pares 19 e 20. E no grupo G encontram-se os acrocêntricos curtos com satélite, são os pares 21 a 22, este grupo também inclui o cromossomo sexual Y que não possui satélite (ISCN, 2016).

Utiliza-se o *International System for Human Cytogenetic Nomenclature* (ISCN) para nomenclatura e descrição do cariótipo que segue algumas regras básicas como: o número de cromossomo deve ser primeiro mencionado, seguido dos cromossomos sexuais separados por vírgula. Seguindo as regras mencionadas o cariótipo normal humano é descrito como 46, XX para o sexo feminino e 46, XY para o sexo masculino (ISCN, 2016).

Quando alterações cromossômicas estão presentes são descritas após a designação dos cromossomos sexuais separado por vírgula e usado o símbolo que caracteriza a anomalia, os sinais + ou – seguido autossomo em causa, exemplo 47,XX,+18 (trissomia do cromossomo 18); 45,XY,-7 (monossomia do cromossomo 7) (ROSSETTO, 2015; ISCN, 2016).

As alterações estruturais são descritas utilizando abreviações de letras minúsculas que descrevem as alterações seguida de parênteses com os dois cromossomos envolvidos separados por ponto e vírgula e entre parênteses o braço e a banda dos cromossomo envolvidos, exemplo 46, XY,t(8;21)(q22;q22), que representa uma translocação entre o cromossomo 8 e 21) (ROSSETTO, 2015; ISCN, 2016).

1.5 Alterações cromossômicas

Um dos fatores levados em consideração para que um organismo tenha um desenvolvimento harmonioso, físico e psicologicamente normal é a estabilidade do número e da morfologia dos cromossomos e a citogenética é uma preciosa ferramenta nos estudos de alterações cromossômicas que complementam as análises clínicas, através de exames de cariótipo, quando se faz necessárias confirmações no diagnóstico de alterações cromossômicas (MASCENA, 2009).

Alterações no número de cromossomos ocorrem quando as irregularidades na divisão celular ou quando ocorrem “acidentes”, como nas radiações, que atinge os cromossomos interfásicos, alterando o número característico de cada espécie (BURNS & BOTTINO, 1991). As quebras de cromossomos, que podem ocorrer naturalmente ou por meio de agentes externos como drogas químicas, resultam nas alterações estruturais dos cromossomos (BURNS & BOTTINO, 1991).

As alterações nos números dos cromossomos são representadas por dois tipos básicos, quando há alterações em conjuntos completos de cromossomos e alterações em pares dos conjuntos dos cromossomos (GRIFFITHS *et al.*, 2013). Alterações nos conjuntos completos dos cromossomos resultam em condição denominada euploidias aberrante quando um organismo apresenta um número maior ou menor do conjunto de cromossomos (GRIFFITHS *et al.*, 2013). Quando um organismo apresenta mais de dois conjuntos de cromossomos são denominados poliploides e são apresentados por $3n$ (triploide), $4n$ (tetraploide) e assim por diante. Quando um organismo normalmente diploide apresenta apenas um conjunto (n) de cromossomos é denominado monoploide (GRIFFITHS *et al.*, 2013).

Alterações em pares de conjuntos de cromossomos são denominadas aneuploidia. Os organismos aneuploides são na maioria das vezes resultado da não disjunção na mitose ou na meiose dos cromossomos homólogos ou cromátides. Neste processo os dois cromossomos ou cromátides vão para um polo e nenhum vai para o outro polo (GRIFFITHS *et al.*, 2013). Constituem as

Em casos de segmentos de cromossomos invertidos diz-se que ocorreu uma inversão cromossômica (Figura 5) (GRIFFITHS *et al.*, 2013).

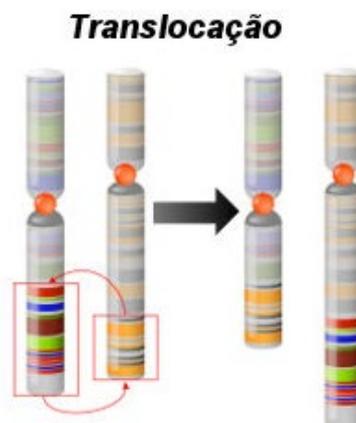
Figura 5. Representação de inversão cromossômica



Fonte: Portal Mundo Educação

Nos casos em que se observa um segmento cromossômico em outro cromossomo diz-se que ocorreu uma translocação cromossômica (Figura 6) (GRIFFITHS *et al.*, 2013).

Figura 6. Representação de translocação cromossômica



Fonte: Portal Mundo Educação

Essas alterações nas estruturas dos cromossomos ocorrem devido erros de reparação de quebras cromossômicas e/ou do funcionamento do sistema de recombinação defeituoso (MASCENA, 2009).

1.6. Cromossomopatias

Estima-se que 25% das malformações congênitas estão relacionadas à genética, seguido de 10% de procedência ambiental e 65% ainda de causas desconhecidas (FANTIN et al., 2017). As malformações congênitas são distúrbios de origem embrionária responsáveis por alto índice de morbidade e mortalidade infantil (COSME et al., 2017).

As cromossomopatias mais comuns em humanos são as aneuploidias (monossomias e trissomias) e alterações estruturais que produzem malformações congênitas graves, esterilidade e retardo mental (ROBERTIS & HIB, 2006). Dentre as cromossomopatias mais frequentes destacam-se a monossomia do X, as trissomias dos cromossomos 13, 18 e 21, síndrome de Klinefelter, síndrome Cri-du-chat e Leucemia mieloide crônica.

1.6.1. Síndrome de Turner

A monossomia do X, também conhecida e diagnosticada clinicamente como Síndrome de Turner (ST), decorrente da presença de um cromossomo X e perda total ou parcial do segundo cromossomo sexual. É a única monossomia compatível com a vida e incidência global de 1:2500 nascidas vivas (ROBERTIS & HIB, 2006; MASCENA, 2009; BONIFÁCIO, 2011).

Os sinais clínicos mais ocorrentes são a baixa estatura, disgenesia gonadal, levando a amenorreia primária, atraso no desenvolvimento púbere, esterilidade. São observados também anomalias congênitas e adquiridas, como problemas cardiovasculares e renais, deficiência auditiva, doenças tireoidianas, osteoporose, hipertensão e obesidade (SUZIGAN et al, 2004).

1.6.2. Síndrome de Klinefelter

A Síndrome de Klinefelter ou cariótipo XXY é restrita ao sexo masculino e ocorre devido a não disjunção meiótica. Afeta aproximadamente 1:500

meninos nascidos vivos (ROBERTIS & HIB, 2006; MASCENA, 2009; BONIFÁCIO, 2011). As características fenotípicas consistem em azoospermia, hipogonadismo hipergonadotrófico, atrofia testicular de consistência firme, hipodesenvolvimento dos caracteres sexuais secundários associado a ginecomastia e desproporção morfológica entre o tronco e os membros (CARRASQUINHO, 2006)

1.6.3. Síndrome de Patau

A trissomia do cromossomo 13, ou Síndrome de Patau, pode ser causada por trissomia livre, mosaicismo e translocação Robertsoniana. Possui uma incidência de aproximadamente 1:7000 nascidos vivos. É a trissomia menos comum devido a alta taxa de mortalidade na fase de embrião e sobrevida curta dentre os nascidos vivos de 7-10 dias (ROBERTIS & HIB, 2006; BONIFÁCIO, 2011).

As características fenotípicas apresentadas são malformações congênitas, incluindo comprometimento do sistema nervoso central, cardíaco, circulatório e urogenital, apresenta de defeitos estruturais faciais e déficit intelectual (SPOLADORI, 2017).

1.6.4. Síndrome de Edwards

A trissomia do cromossomo 18, ou Síndrome de Edwards, ocorre principalmente devido a não disjunção meiótica, mas também pode ocorrer devido a translocação ou masaicismo. Possui uma incidência de aproximadamente 1:5000 e sobrevida muito curta entre os nascidos vivos. (ROBERTIS & HIB, 2006; MASCENA, 2009; BONIFÁCIO, 2011). É a segunda trissomia mais frequente de cromossomos autossômicos (ZEN, 2008). As malformações gastrointestinais são frequentes como atresia esofágico presente em 16 a 18% dos casos e hérnia diafragmática (ROSA, 2013).

1.6.5. Síndrome de Down

A trissomia do cromossomo 21, ou Síndrome de Down, pode ocorrer devido a trissomia livre do cromossomo 21, por translocação Robertsoniana e mosaicismos, é a síndrome genética mais frequente com incidência de aproximadamente 1:800 nascidos vivos (ROBERTIS & HIB, 2006; MASCENA, 2009; BONIFÁCIO, 2011). Apresentam atraso no desenvolvimento, cardiopatia congênita, hipotonia, problemas de audição, de visão, alterações na coluna cervical, distúrbios da tireoide, problemas neurológicos, obesidade e envelhecimento precoce (MOREIRA, 2000).

1.6.6. Síndrome de Cri-du-chat

A síndrome de Cri-du-chat, ou síndrome do miado do gato, é uma alteração cromossômica estrutural que ocorre devido a deleção do braço curto do cromossomo 5 (ROBERTIS & HIB, 2006). As crianças apresentam um choro característico parecido com um gato em sofrimento, característica associada há uma malformação da laringe. Apresenta incidência de 1:50000 de nascido no mundo (ROBERTIS & HIB, 2006; SANTOS, 2010).

1.6.7. Leucemia mieloide crônica

A Leucemia mieloide crônica descrita em 1960 como cromossomo Filadélfia (Ph) é caracterizada por uma translocação entre o cromossomo 9 e 22 (ROBERTIS & HIB, 2006). Em alguns casos o cromossomo Filadélfia não pode ser identificado e a confirmação depende de métodos moleculares. A maioria dos diagnósticos é feita na fase crônica. Apresenta curso clínico típico em três fases: fase crônica, fase acelerada e fase blástica (FUNKE, 2010).

2. JUSTIFICATIVA

Pesquisas que envolvem citogenética humana ainda são pouco realizadas na capital amazonense, apesar do número de doenças que tem fundamento genético. Laboratórios que proporcionem atendimento específico em cariótipo nos setores públicos e privados ainda são limitados e esse tipo de exame não é amplamente oferecido na rede de saúde básica SUS restringindo o acesso das camadas populares ao diagnóstico clínico para indivíduos acometidos com algum tipo de condição hereditária genética.

A elaboração de projetos que envolvam análise de cariótipo contribui para obtenção de informações de pais e pacientes que, com confirmação de diagnósticos de alterações cromossômicas, podem tomar medidas preventivas e paliativas que para os sintomas das doenças.

3. OBJETIVOS

3.1 Geral

Avaliar as alterações cromossômicas que ocorrem nos linfócitos do sangue periférico de pacientes com suspeita de distúrbios genéticos.

3.2 Específicos

- Realizar a montagem do cariótipo de todas as amostras.
- Identificar e quantificar as alterações cromossômicas que ocorrem nos linfócitos por meio do bandejamento G.

4. MATERIAIS E MÉTODOS

4.1. Aspectos éticos

Essa pesquisa foi desenvolvida no Laboratório de Citogenética Humana da Escola Superior de Saúde e aprovada pelo Comitê de Ética e Pesquisa (CEP) da Universidade do Estado do Amazonas. Com intermédio da médica geneticista Dra. Vania Mesquita Gadelha, obtivemos permissão do Instituto de Saúde da Criança do Amazonas (ICAM) para selecionar voluntários.

Foram encaminhados o total de 10 voluntários para esta pesquisa. Os responsáveis foram informados a respeito do estudo e assinaram o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (Anexo)

4.2. Caracterização da amostra

Os pacientes encaminhados são crianças de colo, desde recém-nascidos de 6 dias e bebês de 1 ano e 9 meses. Foram encaminhados 5 pacientes do sexo masculino, 4 pacientes do sexo feminino e um paciente com malformação nas genitálias.

Todos os encaminhados apresentaram suspeita de alteração genética e apresentaram em seus exames clínicos malformações congênitas, atrasos no desenvolvimento neuropsicomotor, atresia, cardiopatia e suspeitas de alterações numéricas. Para cada voluntário foi destinado um código que corresponde a ordem de encaminhamento (Tabela 1).

Tabela 1. Caracterização dos pacientes participantes da pesquisa.

Código do voluntário	Idade	Sexo	Indicação do exame
001	26 dias	Intersexo	Malformação nas genitálias
002	4 meses	Feminino	Defeito físico de nascimento/Dimorfismo
003	6 meses	Masculino	Suspeita de trissomia do cromossomo 21: Síndrome de Down
004	3 meses	Masculino	Tumoração abdominal
005	5 meses	Masculino	Defeito físico de nascimento/Dimorfismo
006	2 meses	Masculino	Atraso no desenvolvimento Neuropsicomotor. Defeito físico de nascimento/Dimorfismo
007	3 meses	Feminino	Suspeita de trissomia do cromossomo 21: Síndrome de Down
008	1 mês	Feminino	Malformações múltiplas. Atresia de esôfago. Cardiopatia congênita
009	1 ano 9 meses	Feminino	Malformação congênitas
010	6 dias	Masculino	Malformações congênitas.

4.3. Coleta das amostras

Com auxílio de um profissional da saúde foram coletados de cada paciente 4mL de sangue periférico por punção venosa em tubo com heparina. Foi utilizado 1 mL de sangue total em cada cultura, sendo realizadas quatro repetições.

4.4. Cultura de linfócitos

A cultura de linfócitos foi realizada no mesmo dia da coleta e utilizado o método descrito por Moorhead et al. (1960) com alterações, foram preparados 4 meios de cultura com o material de cada voluntário em um tubo falcon de 15mL que continha meio completo (meio RPMI 1640 da Sigma), 0,2 mL de fitohemaglutinina, 2mL de soro bovino fetal.

Foram adicionados os antibióticos: Penicilina (10.000U/mL), Estreptomicina (10 mg/mL) e Glutamina-A (29 mg/mL) e 1mL do plasma sanguíneo contendo os linfócitos. Os frascos foram armazenados em uma estufa a 37 °C.

4.4.1. Incubação com colchicina

Após 71 horas de cultivo, foi adicionado 3 gotas de colchicina 0,0016% para interrupção o fuso mitótico. Os frascos foram fechados novamente e homogeneizados suavemente. Depois foram incubados na estufa a 37°C por uma hora.

4.4.2. Solução Hipotônica

O material foi centrifugado a 1500rpm durante 10 minutos. O sobrenadante foi descartado e em seguida foi adicionado 5 mL de solução hipotônica (KCl 0,075M), para fragilizar a membrana plasmática da célula, homogeneizando a solução que ficou na estufa a 37 °C por 30 minutos.

4.4.3. Fixação

Para remoção da solução hipotônica material foi centrifugado a 1500 rpm por 10 minutos, o sobrenadante foi descartado e colocado 10mL de fixador

(metanol-ácido acético, 3:1) foi levada a centrifuga novamente a 1500 rpm por mais 10 minutos. Esse procedimento foi repetido duas a três vezes até que obtivemos um material translucido e um sedimento opaco. O sedimento foi ressuspensionado em 4mL de fixador fresco.

4.5. Preparação das lâminas

Para verificar a qualidade do meio de cultura o material foi gotejado em lâminas lavadas e adormecidas em álcool 95%, as lâminas foram aquecidas em água destiladas a 60°C e utilizadas as que formavam lâminas de água na superfície.

Foram pingadas duas gotas do material em cada lâmina a uma distância de mais ou menos 30 cm. As lâminas foram coradas com Giemsa a 10% durante no máximo 5 minutos e em seguida visualizadas no microscópio óptico, para verificar a qualidade do meio e quantidade das metáfases.

Foi selecionado o meio de cultura com as metáfases de melhor qualidade e gotejada novas lâminas. As lâminas foram postas para envelhecer na estufa a 37°C por 5 dias para posteriormente realizar o bandamento GTG.

4.6. Bandamento GTG

O bandamento GTG (Bandamento G combinado com Tripsina e Giemsa), com resolução de banda de 400 a 550, descrito por Seabright em 1971, foi realizado para auxiliar na identificação dos cromossomos e das possíveis anomalias que vieram existir.

As lâminas já preparadas com o material citológico que foram postas para envelhecer na estufa à 37°C por cinco dias foram retiradas cada uma a sua vez e colocadas dentro de uma solução de Tripsina 0,032%, previamente preparada com temperatura de 37°C, por aproximadamente 13 segundos, em seguida foram colocadas dentro de uma solução de tampão fosfato com pH 6,8 para interromper a ação da Tripsina. A coloração foi feita com Giemsa 5% por

aproximadamente 3 minutos. Em seguida, foram lavadas com água destilada e postas para secar.

As análises foram feitas com auxílio do microscópio Óptico Olympus e contadas cem metáfases de cada voluntário, imagens foram capturadas para posteriormente ser realizada a montagem dos cariótipos.

4.7. Montagem do Cariótipo

A montagem do cariótipo de cada voluntário foi realizada com auxílio do programa GeneALL e montadas pelo menos 10 metáfases de cada. As metáfases foram selecionadas pela qualidade do bandeamento e distribuição dos cromossomos na lâmina. E as alterações encontradas foram investigadas segundo o *International System for Human Cytogenetic Nomenclature* (ISCN). Para cada voluntário foi elaborado um laudo e entregue a médica geneticista Dra. Vania Mesquita Gadelha.

5 - RESULTADO

Nas preparações do paciente 001 não foi possível analisar metáfases devido a coagulação do sangue antes do processo de meio de cultura, o que resultou em poucas metáfases e cromossomos embolados e muito sobrepostos. As preparações dos demais pacientes apresentaram um bom quantitativo de metáfases com poucas sobreposições de cromossomos e foram consideradas boas metáfases. Foram contadas um total de 900 metáfases das quais 300 apresentaram alteração cromossômica numérica e 600 apresentaram número normal de cromossomos (n=46) (Tabela 2).

Tabela 2 - Resultados de análise por bandeamento G e meio de cultura

Voluntário	Resultado da cultura	n° de cromossomo	Cariótipo
001	Metáfases sem qualidade	-	-
002	Boas metáfases	46	46, XX
003	Boas metáfases	47	47, XY + 21
004	Boas metáfases	46	46, XY
005	Boas metáfases	46	46, XY
006	Boas metáfases	47	47, XY + 21
007	Boas metáfases	47	47, XX + 21
008	Boas metáfases	46	46, XX
009	Boas metáfases	46	46, XX
010	Boas metáfases	46	46, XY

As metáfases que melhor apresentaram padrões de banda foram selecionadas para montagem de cariótipo. Foram montados 10 cariótipos de cada paciente, contabilizando o total de 90 cariótipos montados. Três pacientes apresentaram cariótipos alterados. Os pacientes do sexo masculino 003 e 006 apresentaram cariótipo 47, XY + 21 (Figura 7), assim como a paciente do sexo

feminino 007 que apresentou cariótipo 47, XX + 21 (Figura 8), caracterizando trissomia do cromossomo 21

Figura 7. Cariótipo masculino alterado do paciente 003 47, XY + 21

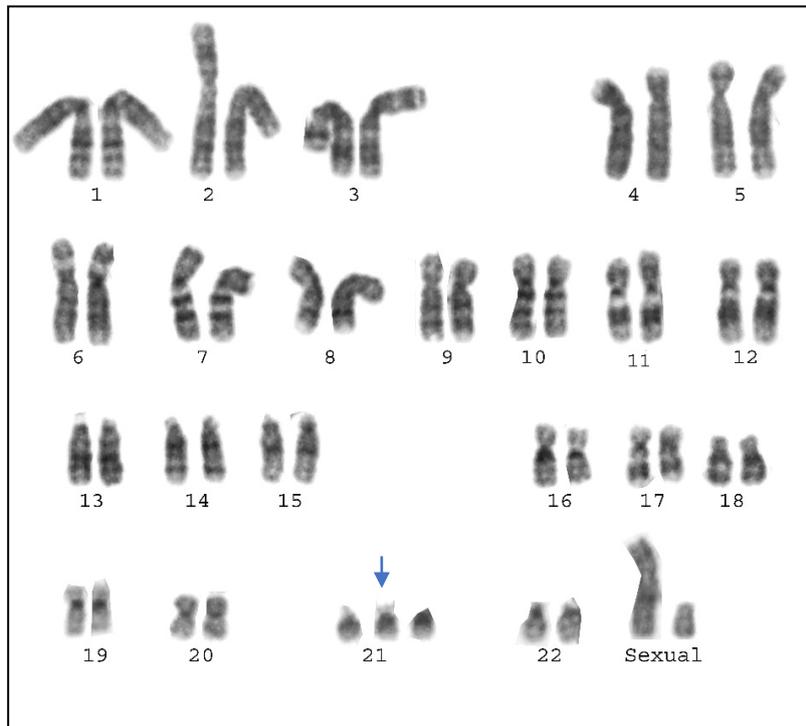
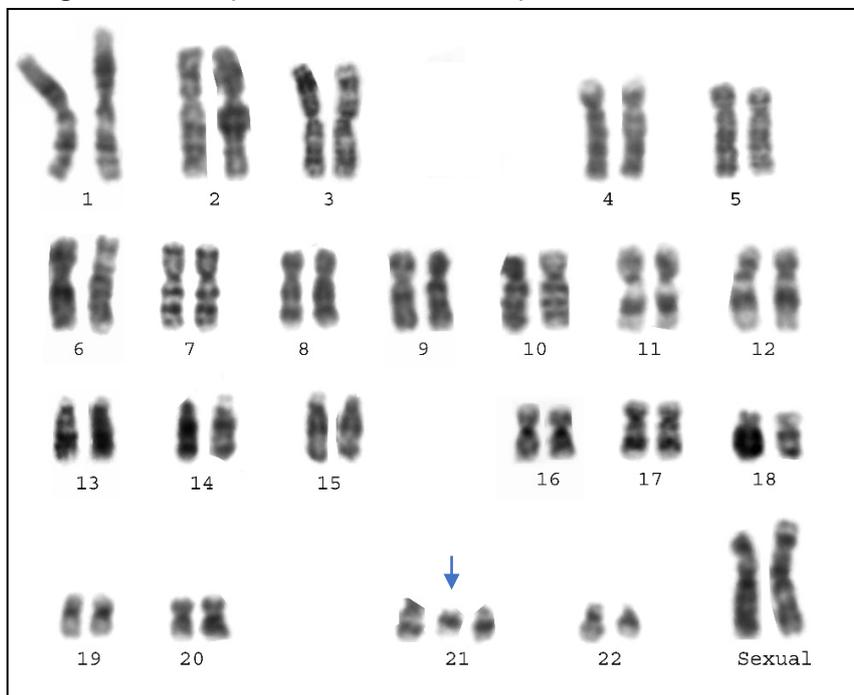


Figura 8. Cariótipo feminino alterado da paciente 007 47,XX + 21



Dos pacientes encaminhados, 6 apresentaram número normal de cromossomos ($n=46$) e nenhuma alteração estrutural que pudesse ter sido

identificada por meio do protocolo adotado neste trabalho. Desses pacientes, 3 são do sexo feminino e apresentaram cariótipo 46, XX (Figura 9). Os outros 3 pacientes são do sexo masculino e apresentaram cariótipo 46, XY (Figura 10).

Figura 9. Cariótipo feminino normal da paciente 002 46,XX

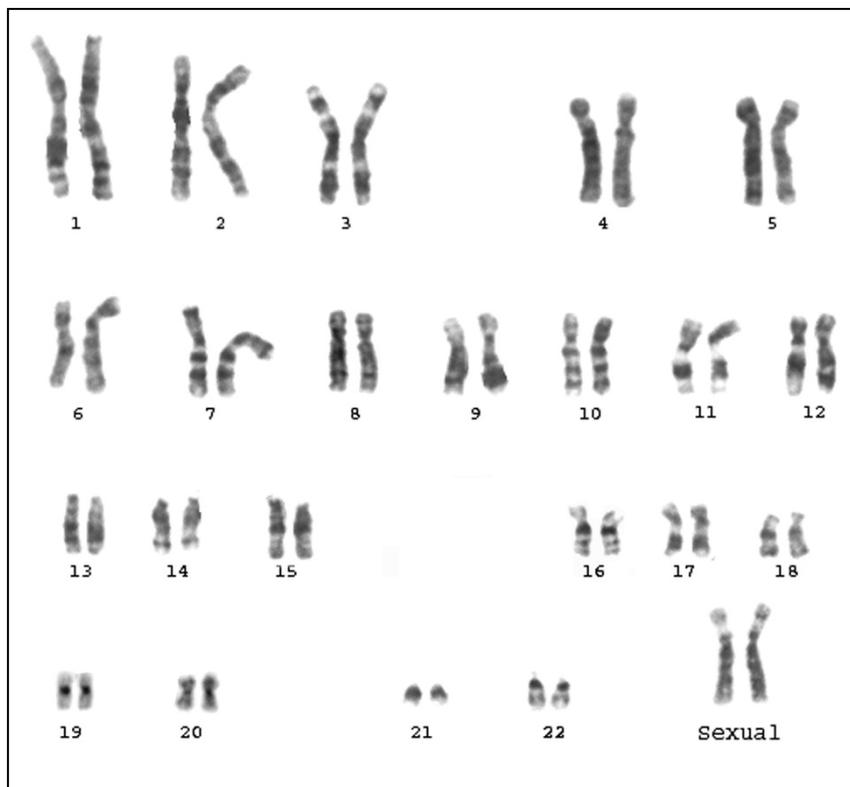
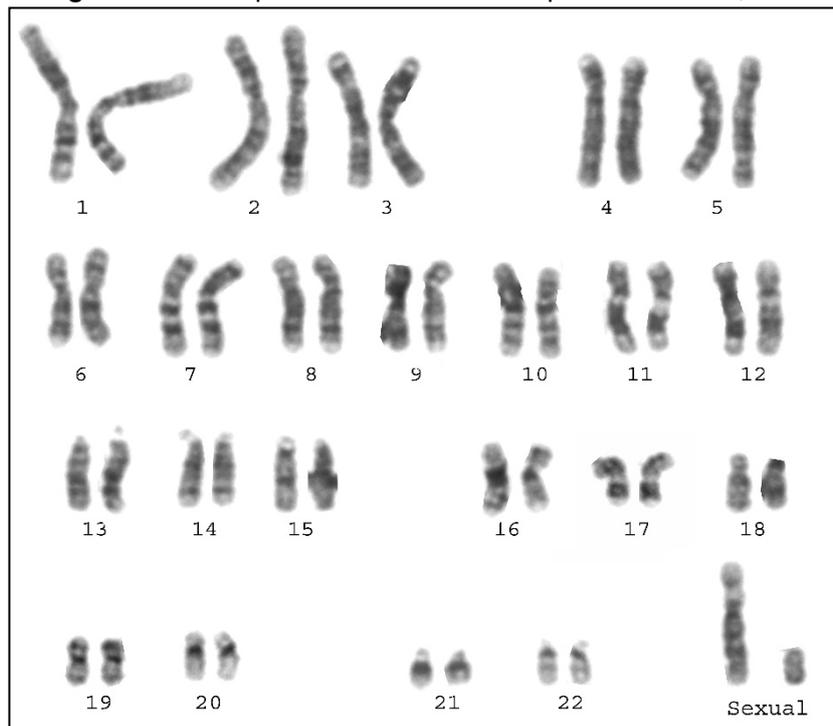


Figura 10. Cariótipo masculino normal do paciente 004 46,XY



6- DISCUSSÃO

Em relação a falha na obtenção de cromossomos metafásicos devido a coagulação de sangue antes do meio de cultura, Fonseca (2017) relata que isso pode vir a ocorrer devido diversos fatores como utilização de anticoagulante inadequado, coleta inapropriada, quantidade insuficiente de amostra e manuseio em temperaturas inapropriadas.

A alteração numérica identificada em nossas amostras foi a trissomia livre do cromossomo 21 estando presente em 3 dos pacientes encaminhados. Essa trissomia, também conhecida por Síndrome de Down, caracterizada pela presença de um cromossomo 21 extra que pode apresentar-se citogeneticamente de três formas: trissomia simples, causada pela não disjunção cromossômica de origem meiótica, representa 95% dos casos de Síndrome de Down; translocação, também chamadas de translocações Robertsonianas, neste caso a trissomia do 21 é identificada como uma translocação com outro cromossomo, não como um cromossomo 21 extra, envolve geralmente o cromossomo 21 e o cromossomo 14. Ocorre em 3 a 4% dos casos; e mosaico, caracteriza-se pela presença de duas linhagens celulares, uma normal com 46 cromossomos e outra com 47 cromossomo sendo o cromossomo 21 extra livre, é detectada em de 1 a 2% dos casos de Síndrome de Down. Na classificação Internacional de Doenças (CID-10) a Síndrome de Down recebe o código Q-90 e está inserida no grupo Q90 – Q99 das anomalias cromossômicas (BRASIL, 2013).

Das trissomias mais frequentes, a trissomia livre do cromossomo 21 é a mais encontrada como relatam estudos semelhantes de Vasconcelos (2007) que também identificou em seus trabalhos maior frequência da trissomia 21 estando presentes em 47,4% dos casos analisados de pacientes atendidos na Unidade de Genética do Instituto da Criança em São Paulo nos anos de 1993 a 2002. Kessler (2008) também identificou a trissomia do 21 como a mais frequente (3,2%) seguido da trissomia do cromossomo 18 (2,7%) dos casos

analisados de diagnóstico pré-Natal de anomalias cromossômicas. Abreu (2009) ao analisar as alterações cromossômicas mais frequentes em três APAEs de Ribeirão Preto identificou que dos 90,2% das alterações numéricas encontradas 77,2% correspondem a trissomia livre do cromossomo 21.

Os pacientes que apresentaram número e estrutura normal de cromossomos não estão ao todo isentos de apresentarem alterações cromossômicas visto que a técnica utilizada nesse trabalho permite uma resolução de 400 a 550 banda. Linhares e colaboradores (2012) afirmam que alterações cromossômicas que afetam segmentos menores de 5Mb não são identificadas nesse nível de resolução sendo necessário a utilização de técnicas de alta resolução, com padrões de banda 650 a 850, que possibilitam a detecção de anomalias menores.

7 – CONCLUSÃO

Não foi possível realizar a montagem de cariótipo de uma das amostras devido a má qualidade e escasso número de metáfases. As demais amostras apresentaram quantitativo e qualidade ótima de metáfases para montagem de cariótipo.

Três pacientes, um do sexo feminino e dois do sexo masculino, apresentaram alteração no cariótipo, sendo a alteração numérica do tipo trissomia livre do cromossomo 21 identificada em todos os cariótipos alterados.

Assim, técnica de bandeamento GTG mostrou-se eficaz para auxiliar na identificação de alterações cromossômicas de pacientes com suspeita de distúrbios genéticos.

8 – REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABREU, L. S. de., *Estudo Citogenético de Indivíduos Afetados por Deficiência Mental em três APAEs da Região de Ribeirão Preto*. Ribeirão Preto, 2009. 107p. Dissertação de mestrado (Mestre em Ciências/Genética) – Departamento de Genética da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo [Orientador: Prof. Dr. João Monteiro de Pina Neto].

AGUIAR, R. A. L. *Alterações citogenéticas em crianças portadoras de leucemia linfóide aguda b no Amazonas*. Manaus, 2015. 87p. Dissertação (Mestrado em Ciências aplicadas à Hematologia) - Universidade do Estado do Amazonas em Convênio com a Fundação Hospitalar de Hematologia e Hemoterapia do Amazonas. [Orientadora: Prof^o Dra. Cristina Motta Ferreira].

BONIFÁCIO, Carolina Martins. *Distribuição e Prevalência das Principais Cromossomopatias em Humanos e Análise do Procedimento de Aconselhamento Genético: Estudo Retrospectivo Dos Pacientes Atendidos no Ambulatório de Genética do Conjunto Hospitalar de Sorocaba entre os anos de 2000 e 2010*. Trabalho de conclusão de curso. Faculdade Ciências Médicas e da Saúde da Pontifícia Universidade Católica de São Paulo. Sorocaba, 2011.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Atenção à Saúde. Departamento de Ações Programáticas Estratégicas. *Diretrizes de atenção à pessoa com Síndrome de Down / Ministério da Saúde, Secretaria de Atenção à Saúde, Departamento de Ações Programáticas Estratégicas*. – 1. ed., 1. reimp. – Brasília : Ministério da Saúde, 2013.

BURNS, G. W; BOTTINO, P. J. *Genética*. 6^o edição. Editora Guanabara Koogan. Rio de Janeiro – RJ. 1991.

CARRASQUINHO, J. E., et al. *Síndrome de Klinefelter – Caso Clínico e Revisão da Literatura*. Acta Urológica, 2006.

CHAVES, T. F.; NICOLAU, L. S. Citogenética e cariotipagem. *Revista Saúde e Desenvolvimento*. Vol. 4. N^o 2. jul/dez 2013.

CREMASCO, S. A. Caderno Pedagógico sobre Material Genético. *Programa de desenvolvimento educacional (PDE) da secretaria de Estado da Educação*. Londrina – Paraná, 2008.

COSME, Henrique Willian; LIMA, Laura Silva; BARBOSA, Lene Garcia. Prevalência de Anomalias Congênitas e Fatores Associados em Recém-Nascidos do Município de São Paulo no Período de 2010 a 2014. *Rev. paul. pediatr.*, São Paulo, v. 35, n. 1, p. 33-38, Mar. 2017.

FANTIN, C. et al. Estudo das Anomalias Cromossômicas Ocorridas em uma Maternidade nos Anos de 2010 a 2014. *Cogitare Enferm*, 2017.

FONSECA, L. L. C. G. Caracterização citogenética clássica e molecular (FISH) em pacientes com suspeita clínica de Síndrome de PRADER – WILLI. Trabalho de conclusão de curso. Laureate International Universities. Rio de Janeiro, 2017.

FUNKE, V. M., et al. Leucemia mieloide crônica e outras doenças mieloproliferativas crônicas. *Rev. Bras. Hematol. Hemoter*, 2010.

GUERRA, M. S., *Introdução à Citogenética Geral*. Guanabara Koogan. Rio de Janeiro, 1988.

GRIFFITHS, A. J. F; WESSLER, S. R; CARROLL, S. B; DOEBLEY, J. *Introdução à genética*. 10ª edição. Editora Guanabara Koogan. Rio de Janeiro – RJ. 2013.

ISCN 2016: *An International System for Human Cytogenomic Nomenclature*. Editora: S Karger Ag, 2016.

KESSLER, Rejane G.; SANSEVERINO, Maria Teresa V.; LEISTNER-SEGAL, Sandra; MAGALHÃES, José A.A.; GIUGLIANI, Roberto. *Prenatal diagnosis of fetal chromosomal abnormalities: report of an 18-year experience in a Brazilian public hospital*. *Genet. Mol. Biol.* vol.31 no.4 São Paulo Sept. /Dec. 2008.

LINHARES, Natália Duarte; SVARTMAN, Marta; VALADARES, Eugênia Ribeiro. Diagnóstico citogenético de pacientes com retardo mental idiopático. *J. Bras. Patol. Med. Lab.*, Rio de Janeiro, v. 48, n. 1, p. 33-39, Feb. 2012.

MALUF, S. W., et al. *Citogenética Humana*. Artmed. Porto Alegre, 2011.

MASCENA, J. R. *Estudos citogenéticos realizados no Hospital Universitário da UFSC no período de 2003 a 2008*. Trabalho de conclusão de curso. Universidade Federal de Santa Catarina. Florianópolis, SC. 2009.

MARTINS, A. C. *Prevalência da síndrome de deleção 16p11.2 em uma coorte de pacientes com distúrbios do desenvolvimento: estudo de quatro casos e revisão da literatura*. Trabalho de conclusão de curso. Universidade Federal de Santa Catarina. Florianópolis, SC. 2017.

MOORE, J. A. Science as a Way of Knowing Genetics. *Amer. Zool.* v. 26: p. 583-747, 1986.

MOREIRA, L. M., et al. A síndrome de Down e sua patogênese: considerações sobre o determinismo genético. *Revista Bras Psiquiatr*, 2000.

OLIVEIRA, M. J. V. *Citogenética convencional e citogenética molecular na caracterização genética das síndromes mielodisplásicas – técnicas complementares ou alternativas?* Porto, 2009. 103p. Dissertação (Mestrado em Oncologia) - Instituto de Ciências Biomédicas de Abel Salazar da Universidade do Porto e à Thomas Jefferson University. [Orientador: Prof. Doutor Sérgio Castedo].

ROBERTIS, E. M. F.; HIB, J. *DE Robertis Bases da biologia celular e molecular*. 4º edição. Ed. Guanabara Koogan. Rio de Janeiro – RJ. 2006.

ROSA, Rafael Fabiano Machado et al. Trissomia do cromossomo 18 (síndrome de Edwards) e malformações gastrointestinais maiores. *Sao Paulo Med. J.*, São Paulo, v. 131, n. 2, p. 133-134, 2013.

ROSSETTO, A.F.R. - Avaliação do Bandeamento Cromossômico por Digestão Enzimática e Tratamento com Solução Tampão Citratado – 2015

SANTOS, K. M., et al. Manejo anestésico de paciente com síndrome de Cri Du Chat (miado do gato): relato de caso. *Revista brasileira Anesthesiol*, 2010.

SOUZA et al. *Síndromes cromossômicas: uma revisão*. Cadernos da Escola de Saúde, Curitiba, 03: 1-12, 2010.

SOUZA, C. A. de., et al. Leucemia mieloide crônica. *Rev. Assoc. Med. Bras.*, São Paulo, v. 59, n. 3, p. 220-232, 2013.

SPOLADORI, I.C., et al. Síndrome de Patau: Relato de um caso com trissomia completa do cromossomo 13. *Semina: Ciências Biológicas e da Saúde*, Londrina, v. 38, n. 1 - Supl 1, p.238, maio/jun. 2017.

SUZIGAN, Lígia Z. C., et al. A percepção da doença em portadoras da síndrome de Turner. *Jornal de Pediatria* - Vol. 80, Nº4, 2004.

VASCONCELOS, Beatriz. *Estudo da frequência de aberrações cromossômicas nos pacientes atendidos na Unidade de Genética do Instituto da criança entre 1993 a 2002*. São Paulo, 2007. 83p. Dissertação de mestrado (Mestre em Ciências) – Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo [Orientadora: Profa. Dra. Chong Ae Kim].

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

ZEN, P. R., et al. Apresentações clínicas não usuais de pacientes portadores de síndrome de Patau e Edwards: um desafio diagnóstico? *Revista Paul Pediatr*, 2008.

9 – ANEXOS

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Pelo presente instrumento que atende às exigências legais (Resolução CNS nº 196, de 10 de outubro de 1996) estamos desenvolvendo uma pesquisa intitulada: ANÁLISE DE ALTERAÇÕES CROMOSSOMICAS UTILIZANDO A TÉCNICA BANDEAMENTO G EM PACIENTES DO SISTEMA ÚNICO DE SAÚDE COM SUSPEITA DE DISTÚRBIOS GENÉTICOS.

Com a mesma pretendemos realizar a análise do sangue de indivíduos com distúrbio genético para avaliação das características do cariótipo. Assim, gostaríamos de convidá-lo a participar, permitindo que coletemos fotos, dados pessoais, histórico clínico e sangue seu(a) de acordo com as cláusulas descritas a seguir.

Cláusulas para participação no Projeto:

1. A natureza e o objetivo do projeto de pesquisa, foram explicadas a mim
2. Compreendo que eu poderei não ter benefício direto no estudo
3. Entendo que os possíveis riscos e/ou efeitos adversos, desconfortos e inconveniências, foram explicados a mim: dor e/ou tontura passageira na hora da coleta do sangue
4. Compreendo que, apesar das informações obtidas no estudo poderem ser publicadas, elas serão confidenciais e eu não serei identificado a partir delas
5. Compreendo que posso me retirar do estudo em qualquer etapa e que isto não irá afetar os cuidados médicos ou quaisquer outros aspectos da relação minha com esta Instituição
6. Compreendo que não haverá pagamento para mim
7. Tive a oportunidade de discutir a minha participação neste projeto de pesquisa com um membro da família ou amigo e/ou tive a oportunidade de ter um membro da família ou amigo presente enquanto o projeto de pesquisa estava sendo explicado pelo pesquisador
8. Estou ciente de que terei uma cópia deste Termo de Consentimento a qual deverei guardar
9. Concordo com a coleta de sangue e com sua utilização no projeto acima
10. Estou ciente que os resultados desta análise do sangue coletado (análise de cariótipo) podem demorar alguns meses para ficar pronto.

Se necessário, pode entrar em contato com o pesquisador responsável pelo projeto ou Comitê de Ética em Pesquisa: 36550100.

Assinatura do Pesquisador

Tendo sido informado sobre a pesquisa “Análise de alterações cromossômicas utilizando a técnica bandeamento G em pacientes do sistema único de saúde com suspeita de distúrbios genéticos”, concordo em participar da mesma.

Nome _____

Assinatura _____

Data: ____/____/2019.