

# CIÊNCIAS DA SAÚDE

# INVESTIGAÇÃO DOS PADRÕES DE HERDABILIDADE DE DOENÇAS HUMANAS: MUTAÇÕES GÊNICAS E CROMOSSÔMICAS

**GOUVEIA, Jhonathan Luiz.**

Estudante do Curso de Medicina- ILACVN – UNILA;

E-mail: [jhonathan.gouveia@aluno.unila.edu.br](mailto:jhonathan.gouveia@aluno.unila.edu.br);

**TERENCIO, Maria Leandra**

Docente/pesquisador do curso de Medicina– ILACVN – UNILA.

E-mail: [maria.terencio@unila.edu.br](mailto:maria.terencio@unila.edu.br).

## 1 Introdução

A citogenética clínica é o estudo dos cromossomos, relacionado tanto com a sua estrutura quanto com o padrão de herdabilidade por ela estabelecida, além da sua aplicação na prática médica. Alterações cromossômicas estão relacionadas com atraso no desenvolvimento físico e mental, bem como anomalias fisiológicas e anatômicas em diversos sistemas e órgãos (MALUG; RIEGEL, 2009). As cromossomopatias, segundo estimativas recentes, são, no mundo, a causa de 50% dos abortos espontâneos, 6% dos natimortos e 1% dos nascidos vivos Também se apresentam como uma das mais representativas anomalias no grupo das doenças genéticas, podendo gerar transtornos como cardiopatias congênitas e outras alterações em órgãos internos (BASTOS *et al*, 2014). Dessa maneira, considerando a relevância apresentada pelas doenças genéticas, em 2009, o Ministério da Saúde implanta a Política Nacional de Atenção Integral em Genética Clínica no âmbito do Sistema Único de Saúde (SUS), com ações tanto na Atenção Básica como na especializada. Entretanto, a falta de profissionais especializados na área, que conta com cerca de 200 médicos, impossibilitou o avanço do projeto, de maneira que os serviços ficaram restritos apenas aos grandes centros (FONSECA, 2014).

Nesse contexto, o presente projeto busca investigar os padrões de herdabilidade das doenças genéticas humanas e a sua relação com alterações cromossômicas por meio de exames de cariótipos, implantando a interiorização dos serviços de genética clínica.

## 2 Metodologia

A metodologia do presente projeto baseia-se na oferta de cariótipos para população assistida pelo SUS. O público alvo é composto por portadores sintomáticos e assintomáticos suspeitos para cromossomopatias, atendidos pelo Hospital Ministro Costa Cavalcanti (HMCC), bem como seus familiares, casais acometidos por abortos espontâneos e gestantes com fetos suspeitos de cromossomopatias.

Os usuários que se adequam ao critério acima, são apresentados ao Termo de Consentimento Livre e Esclarecido e, após concordância, são submetidos a coleta de sangue. São coletados 3 a 5 ml de sangue periférico em frasco vacuneteiner heparinizado. Após sedimentação, cerca de 1ml do plasma sobrenadante ao hematócrito é recolhido e transferido ao meio de cultura próprio para linfócitos. O meio de cultura é submetido a incubação em estufa a 37°C por 71 hora. Após esse processo, é adicionado 100 microlitros de colchicina e o material é submetido novamente a estufa por mais 50 min. Finalizado o processo, o material é submetido a centrifugação a 800 rotações por minuto (rpm) durante 8 minutos. O conteúdo sobrenadante é descartado, sendo deixado aproximadamente 1,5 ml no frasco. A ele, são adicionados 7 ml de solução hipotônica de KCl (0,075M). O material é levado novamente a estufa a 37 °C por 35 minutos. Em seguida, o material é novamente centrifugado a 800 rpm por 8 minutos. O sobrenadante é descartado e adiciona-se 6ml de fixador Carnoy (metanol: ácido acético, 3:1) ao frasco. Após homogeneização submete-se a mistura a centrifugação com os parâmetros já citados. Esse processo é repetido mais duas vezes. Após os três processos de fixação, o sobrenadante é descartado, restando no frasco cerca de 0,5ml. Adiciona-se 1,5 ml de fixador Carnoy e homogeniza-se o conteúdo. O material deve ser transferido para um tubo eppendorf e submetido a refrigeração a -10°C. Esse material é utilizado para observação microscópica através da coloração por Giemsa.

Todo o processo é realizado preferencialmente no complexo de laboratórios da Universidade Federal da Integração Latino-Americana, campus Jardim Universitário, de maneira a utilizar seu espaço físico, equipamentos, recursos humanos, além de solventes químicos e meios de cultura adquiridos com recursos aprovados ao projeto.

### **3 Fundamentação teórica**

O cromossomo é uma estrutura complexa, formada de DNA, RNA, 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 cromossomo sexuais, totalizando 46 cromossomos. Na interfase os cromossomos apresentam-se na forma de cromatina, sendo que esta, ao microscópio, pode ser visualizada na forma de eucromatina ou heterocromatina. Para a visualização dos cromossomos, estabelece-se como momento ideal o da metáfase, segunda fase da mitose, em que os cromossomos estão em seu ápice de condensação, duplicados e individualizados com suas cromátides irmãs (MALUF; RIEGEL, 2009).

Os indivíduos com 46 cromossomos são considerados euploides. Em relação às alterações numéricas, os indivíduos podem ser poliploides (que possuem número de cromossomos múltiplos de 23, condição incompatível com a vida), aneuploides (que 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 as alterações numéricas, registra-se que aquelas relacionadas aos cromossomos autossômicos tendem a ser mais graves e, na maioria das vezes, incompatíveis com a vida. Sabe-se que a perda de algum cromossomo é mais grave do que o ganho de material. As alterações mais comuns e com condições de vida são a trissomia do cromossomo 21 (síndrome de Down), trissomia do 18 (síndrome de Edwards), trissomia do 13 (síndrome de Patau). Entretanto, o prognóstico de algumas delas é obscuro. As alterações relacionadas aos cromossomos sexuais tendem a ser menos deletérias, graças aos mecanismos de inativação do cromossomo X. As alterações numéricas sexuais mais comuns são a síndrome do triplo X, monossomia do cromossomo X (Síndrome de Turner), síndrome XXY (síndrome de Klinefelter) e síndrome XYY (síndrome de Jacobs) (THOMPSON; THOMPSON, 2002).

Além de alterações numéricas, os cromossomos também podem apresentar alterações estruturais, as quais podem ser causadas por deleção, duplicação, cromossomo em anel, translocações, isocromossomo ou inversão. Exemplo desse tipo de alteração é a síndrome do X frágil, que afeta principalmente homens, onde o paciente apresenta 46 cromossomos, entretanto o cromossomo X apresenta alterações na sua estrutura (MALUF; RIEGEL, 2009).

#### **4 Resultados**

Durante a realização do projeto, foram analisadas 7 pessoas de três casos distintos. O primeiro caso é um encaminhamento de um paciente com síndrome do X frágil já previamente diagnosticada. Foi realizado o cariótipo do paciente já diagnosticado, do seu pai e de sua mãe. O cariótipo dos três não demonstrou nenhuma alteração numérica em 10 células analisadas. Dada a característica desta síndrome, o material foi armazenado para análise de alterações estruturais. O segundo caso é um casal com abortos recorrentes. O homem analisado possui alterações em 14 dos 27 linfócitos analisados. Foram encontradas 13 células normais com 46 cromossomos, 9 células com 45, 4 células com 44 e 1 célula com 47 cromossomos. Dado esse resultado, essa é a possível causa dos abortos, tratando-se de um provável indivíduo mosaico. Na cultura da mulher não foram encontradas células para serem analisadas, provavelmente por intercorrências na preparação. O terceiro caso foi um casal encaminhado por verificação de uma ocorrência na prole de acondroplasia livre. Nas análises das células da mulher, foram analisadas 10 células, sendo todas com 46 cromossomos. Entretanto, a análise da cultura do homem foi impossibilitada pela falta de células viáveis. Estão sendo preparados os materiais de 6 pessoas, encaminhados de 3 casos diferentes. São eles: material de mãe e natimorto coletado após parto no HMCC; pais de aborto espontâneo ocorrido no Paraguai e encaminhado pelo serviço ao projeto; e caso com cariótipo prévio de mosaico com cromossomo 20 em anel, em que foram coletados materiais de indivíduo-índice e irmã.

## **5 Conclusões**

O projeto contemplou parcialmente os seus objetivos por explicar como as alterações cromossômicas dos pais podem inferir nos 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. Entretanto, o projeto não possibilitou a correlação dos genótipo-fenótipo para as diferentes alterações numéricas encontradas por ter uma demanda pouco ampla para tal fim, de maneira que sua manutenção futura possibilitará a busca ativa de casos. Os casos que estão sendo, no momento, analisados podem mudar tal panorama.

## **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.