

## Treze anos de análises citogenéticas no Laboratório de Genética Médica do Hospital Universitário Professor Edgard Santos

*Thirteen years of cytogenetic analysis at Laboratory of Medical Genetics of University Hospital Professor Edgard Santos.*

Lucileide Gonçalves Carneiro<sup>1</sup>, Esmeralda Santos Alves<sup>2</sup>, Acácia Fernandes Lacerda de Carvalho<sup>3\*</sup>

<sup>1</sup>Bacharel em Ciências Biológicas da Universidade Federal da Bahia; <sup>2</sup>Bióloga, Mestre em Genética – Laboratório de Genética Médica do Hospital Universitário Professor Edgar Santos da Universidade Federal da Bahia; <sup>3</sup>Professora Associada da Universidade Federal da Bahia – UFBA

### Resumo

**Introdução:** as anormalidades cromossômicas constituem uma das maiores categorias de doenças genéticas e são causa significativa de deficiência intelectual, déficit pênodo-estatural, malformações congênitas e dismorfismos faciais. Este trabalho é um estudo retrospectivo longitudinal de análises cromossômicas realizadas no Laboratório de Genética Médica do Complexo Hospitalar Universitário Professor Edgard Santos (UFBA). **Objetivos:** identificar os motivos de encaminhamento, os resultados citogenéticos do público atendido entre 2005 e 2017, e a taxa de diagnóstico etiológico obtido pelo cariótipo e pela FISH. **Metodologia:** foram encaminhados 3.863 pacientes, com suspeita clínica de cromossomopatias. As análises genéticas foram realizadas a partir de cultura de linfócitos e posterior bandamento G e/ou Hibridação in situ por fluorescência (FISH). Os dados dos pacientes foram obtidos através das fichas de encaminhamento e das análises cromossômicas. **Resultados:** o principal motivo de encaminhamento foi dismorfologias e/ou deficiência intelectual seguida de suspeita da Síndrome de Down e Síndrome de Turner, confirmadas em 14% e 4% da amostra, respectivamente. Foi possível concluir o diagnóstico etiológico em 904 casos (24,5%). **Discussão:** a confirmação etiológica das anomalias congênitas é extremamente importante para o prognóstico do paciente, sendo necessário investimentos em testes citomoleculares, como a FISH e o microarray, visando ampliar a taxa de diagnóstico. **Conclusão:** o cariótipo Banda G concluiu o diagnóstico clínico em 23,3% dos pacientes, compatível com a frequência das síndromes mais comumente diagnosticadas por esse teste, enquanto que a FISH conseguiu adicionar diagnóstico etiológico em mais 1,2% dos casos, esses envolvidos com as síndromes de microdeleções.

**Palavras-chave:** Cromossomopatias. Defeitos congênitos. FISH. Síndrome de Down. Síndrome de Turner.

### Abstract

**Introduction:** chromosomal abnormalities constitute one of the major categories of genetic diseases and are a significant cause of intellectual deficiency, weight deficit, congenital malformations and facial dysmorphism. This work is a retrospective longitudinal study of chromosomal analysis performed at the Laboratory of Medical Genetics of the University Hospital Complex Professor Edgard Santos (UFBA). **Objectives:** to identify the referral motives, the cytogenetic results of the public served between 2005 and 2017, and the etiological diagnosis rate obtained by the karyotype and FISH. **Methodology:** 3,863 patients were referred, with clinical suspicion of chromosomal disorders. Genetic analyzes were performed from lymphocyte culture and subsequent G banding and / or fluorescence in situ hybridization (FISH). Patient data were obtained through referral forms and chromosome analysis. **Results:** the main reason for referral was dysmorphologies and / or intellectual disability followed by Down Syndrome and Turner Syndrome, confirmed in 14% and 4% of the sample, respectively. It was possible to conclude the etiological diagnosis in 904 cases (24.5%). **Discussion:** the etiologic confirmation of congenital anomalies is extremely important for the prognosis of the patient, and investments in cyto-molecular tests, such as FISH and microarray, are necessary to increase the diagnostic rate. **Conclusion:** the G-band karyotype concluded the clinical diagnosis in 23.3% of the patients, compatible with the frequency of syndromes most commonly diagnosed by this test, while FISH was able to add an etiological diagnosis in another 1.2% of cases, those involved with microdeletion syndromes.

**Keywords:** Chromosome diseases. Congenital defects. FISH. Down's syndrome. Turner's syndrome.

### INTRODUÇÃO

As anormalidades cromossômicas constituem uma das maiores categorias de doenças genéticas e são causa significativa de deficiência intelectual, *deficit* pênodo-

-estatural, malformações congênitas, dismorfismos faciais e insucessos reprodutivos<sup>1,2</sup>.

Estima-se que essas anormalidades afetam aproximadamente 7,5% das concepções, mas a maioria delas é perdida em abortamentos espontâneos no primeiro trimestre. Em nascidos vivos, a frequência dessas alterações é de 0,6%<sup>2</sup>, sendo que, muitos desses nascimentos estão associados a alguma desordem genética ou malformação congênita<sup>3</sup>.

**Correspondente/Corresponding:** \* Acácia Fernandes Lacerda de Carvalho – Instituto de Biologia UFBA, Rua Barão de Jeremoabo, s/n, Campus Universitário de Ondina Salvador – Bahia – Brasil, CEP: 40.170-020. – E-mail: [acaciaflc@uol.com.br](mailto:acaciaflc@uol.com.br)

Essas alterações decorrem de qualquer mudança na estrutura ou no número de cromossomos durante os processos mitóticos ou meióticos, levando a uma modificação na expressão gênica, produzindo um indivíduo fenotipicamente anormal<sup>4</sup>.

Há cerca de mil distúrbios cromossômicos descritos na literatura<sup>5</sup>. Esta diversidade de alterações cromossômicas, responsáveis por doenças, representa um desafio para a citogenética humana, que permite avaliar a morfologia e a estrutura de cromossomos. Assim, o estudo do cariótipo é recomendado para avaliação etiológica da deficiência intelectual, perdas fetais, infertilidade, malformações congênitas, bem como para investigações somáticas em casos de câncer<sup>2,4,5</sup>.

Neste contexto, o Laboratório de Genética Médica (LGM) foi criado juntamente com o Serviço de Genética Médica do Hospital Universitário Professor Edgard Santos (HUPES), da Universidade Federal da Bahia (UFBA), em 1969, tendo se tornado um serviço de referência no diagnóstico e monitoramento de doenças genéticas na Bahia<sup>6</sup>.

O LGM serve de apoio para o Ambulatório de Genética Médica, desempenhando um papel relevante no diagnóstico genético das malformações congênitas, mediante a realização dos testes de citogenética clássica e citogenética molecular, além de análises bioquímicas. O LGM é o único serviço público da Bahia que realiza esses exames citogenéticos pelo Sistema Único de Saúde (SUS).

Devido à crescente demanda recebida pelo LGM ao longo dos anos, além da diversidade de alterações cromossômicas envolvidas nos defeitos congênitos, os objetivos deste estudo foram: (1) identificar os motivos de encaminhamento dos pacientes; (2) conhecer os resultados citogenéticos encontrados na população atendida no LGM, entre os anos de 2005 a 2017; (3) e a taxa de diagnóstico etiológico obtido pelo cariótipo e pela FISH. A genética humana, na última década, tem sido marcada por grande desenvolvimento tecnológico, o que tem propiciado grandes avanços no diagnóstico de doenças genéticas.

## CASUÍSTICA E METODOLOGIA

Procedeu-se a um estudo retrospectivo longitudinal dos pacientes avaliados cromossomicamente no LGM, no período de abril de 2005 a dezembro de 2017, considerando os dados clínicos, os exames realizados e os resultados citogenéticos. Trata-se de estudo descritivo, sem identificação dos sujeitos, de acordo com as normas estabelecidas na Resolução 196/96 do Conselho Nacional de Saúde (CNS).

As amostras dos pacientes foram encaminhadas pelo Ambulatório de Genética Médica do HUPES, além de outros serviços como a Maternidade Climério de Oliveira (MCO), o Hospital Roberto Santos, o Centro de Referência Estadual para Assistência ao Diabetes e Endocrinologia (CEDEBA), o Centro Estadual de Prevenção e Reabilitação de Deficiências (CEPRED) e da Maternidade José Maria

de Magalhães.

Os dados dos pacientes e os resultados genéticos foram obtidos do banco de dados do LGM, preenchido a partir das fichas de encaminhamento e de análise dos cariótipos.

O cariótipo para análise de alterações constitucionais é realizado principalmente a partir de cultura de linfócitos de sangue periférico, podendo também ser realizado a partir da cultura de tecidos fetais, como líquido amniótico, vilosidades coriônicas e sangue do cordão umbilical, com posterior bandamento GTG, com resolução de cerca de 450-550 regiões cromossômicas<sup>7,8</sup>.

O LGM realiza os testes de citogenética clássica (Banda GTG) e hibridação *in situ* por fluorescência (FISH) para análises constitucionais e somáticas, a partir de protocolos já estabelecidos em laboratório. Para realização da FISH, foram utilizadas sondas *locus*-específicas, a depender das suspeitas clínicas para as síndromes (Sd.) de microdeleção: Sd. Smith-Magenis, Sd. de Sotos, Sd. Langer-Giedion, Sd. de DiGeorgi, Sd. Wolf-Hirschhorn, Sd. Prader-Willi/Angelman, Sd. Williams-Beuren, Sd. Rubinstein-Taybi, Sd. Cri-du-chat.

Rotineiramente, para análise citogenética clássica, são estudadas 20 células metafásicas para cada indivíduo, sendo ampliada a análise para 30 ou 50 metáfases quando se suspeita de mosaicismos celulares. Para análise da FISH, são estudadas de 30 a 50 células.

A descrição do cariótipo clássico e citomolecular seguiu as normas do *International System for Human Cytogenetic Nomenclature* (ISCN2016)<sup>9</sup>.

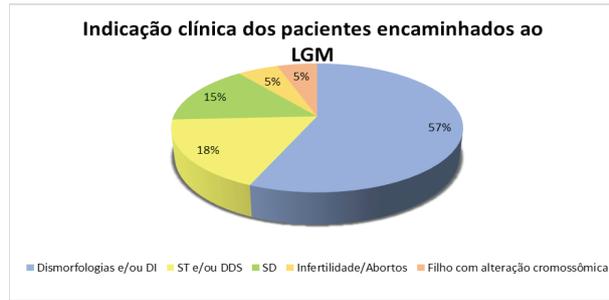
Foram excluídos do estudo os casos sem resultado citogenético, em virtude de falha no crescimento celular. Os dados obtidos foram tabulados, analisados e apresentados em gráficos e tabelas.

## RESULTADOS

Durante o período estudado, foram encaminhadas amostras de sangue periférico de 3.857 indivíduos para análise cromossômica clássica, sendo que não foi possível obter resultado do cariótipo em 179 casos. Nesse período, foram encaminhadas amostras fetais de 6 pacientes, dos quais dois não obtiveram resultados. O grupo amostral deste estudo compreende as análises cromossômicas de 3.682 pacientes.

Quanto às suspeitas clínicas que motivaram o encaminhamento dos 3.862 pacientes ao laboratório, em 167 casos o campo "indicação clínica" não havia sido preenchido, de forma que a amostra restante (3.696) foi dividida em cinco grupos: dismorfologias e/ou deficiência intelectual (DI); suspeita de síndrome de Down (SD); suspeita de síndrome de Turner (ST) ou distúrbios do desenvolvimento sexual (DDS); infertilidade ou aborto recorrente; e pesquisa de alterações em pais com filhos portadores de alterações cromossômicas.

**Gráfico 1 – Indicação clínica dos pacientes encaminhados ao LGM/HUPES/UFBA entre os anos de 2005 e 2017 para realizar exame citogenético.**



Fonte: Dados da pesquisa.

O grupo das dismorfologias e/ou DI compreende a maior razão dos encaminhamentos, representado por 57% da amostra (2.084 casos), seguida do grupo das suspeitas de ST e/ou DDS, em 18% da amostra (659 casos), e SD, em 15% da amostra (559 casos). Os casos de aborto recorrente ou infertilidade e pesquisa de alterações em pais com filhos portadores de alterações cromossômicas correspondem, em cada grupo, a 5% da amostra (199 e 195 casos, respectivamente).

Analisando conjuntamente os cariótipos de amostras de sangue periférico e tecido fetal, observamos que 860 (23,35%) casos apresentaram cariótipo alterado.

De todas as alterações, as numéricas autossômicas foram as mais frequentes com 553 casos (64,30%), seguidas das alterações dos cromossomos sexuais, 193 casos (22,44%) e as alterações estruturais, 114 casos (13,26%), sendo 35 alterações estruturais equilibradas e 79 casos com alterações estruturais desequilibradas (Tabela 1).

**Tabela 1 – Total de alterações cromossômicas observadas na população em estudo.**

Alterações	Síndromes	N	%
<b>Trissomias Autossômicas</b>	Down	518	60,23
	Edwards	22	2,56
	Patau	12	1,39
	Trissomia do 9 em mosaico	1	0,12
	<b>Total</b>	<b>553</b>	<b>64,30</b>
<b>Sexuais</b>	Turner	160	18,60
	Klinefelter	17	1,98
	XXX	04	0,47
	XXXX	02	0,23
	YYY	02	0,23
	XXYY	03	0,35
	XXXXY	02	0,23
	DDS XY*	03	0,35
	<b>Total</b>	<b>193</b>	<b>22,44</b>
	<b>Estruturais</b>	Equilibradas	35
Desequilibradas		79	9,19
<b>Total</b>		<b>114</b>	<b>13,26</b>
<b>Total Geral</b>		<b>860</b>	<b>100%</b>

Fonte: Dados da pesquisa.

Legenda: \*DDS = Distúrbio do Desenvolvimento Sexual. Casos em que o paciente se apresentou como indivíduo do sexo feminino e o cariótipo apresentou constituição cromossômica XY.

Na amostra estudada, identificaram-se cariótipos alterados que justificavam as malformações em 825 casos (excluindo as alterações equilibradas), correspondentes a 22,4% dos pacientes.

As principais alterações foram a SD, em 14% da amostra, e ST, em 4% da amostra total analisada.

A SD foi a trissomia autossômica mais frequente, envolvendo 518 casos (93,67%). Destes, a trissomia livre do cromossomo 21 ocorreu em 498 casos (96,13%); a translocação robertsoniana, em 14 casos (2,71%), incluindo um paciente com síndrome de Klinefelter concomitante com a SD e em 6 casos (1,16%) houve presença de mosaicismos celulares (Tabela 2).

**Tabela 2 – Cariótipos observados em pacientes com Síndrome de Down.**

Síndrome	Alteração Cromossômica	Cariótipo	Nº de casos	%
Down	Trissomia livre	47,XX,+21	217	96,13%
		47,XY,+21	281	
			498	
Mosaicos		47,XX,+21/46,XX	04	1,16%
		47,XY,+21/46,XY	02	
			06	
			06	
Estrutural		46,XX,+21,rob(14;21)	02	2,71%
		46,XY,+21,rob(14;21)	01	
		46,XX,+21,der(21;21)(q10;q10)	05	
		46,XY,+21,der(21;21)(q10;q10)	05	
		47,XXY,+21,der(3)t(3;21)(p26;q11)mat*	01	
			14	
<b>Total</b>			<b>518</b>	<b>100,00</b>

Fonte: Dados da pesquisa.

Legenda: \*Paciente com SD e síndrome de Klinefelter.

A síndrome de Edwards (trissomia do cromossomo 18), foi a segunda trissomia autossômica mais frequente em nosso estudo (22 casos), seguida da síndrome de Patau (trissomia do 13) que ocorreu em 12 casos. Observou-se um caso com trissomia do cromossomo 9 em mosaico, cariótipo 47,XX,+9[11]/46,XX[19] (Tabela 1).

Quanto aos 193 casos de alterações envolvendo os cromossomos sexuais (Tabela 1), a mais frequente foi a ST, observada em 160 casos (82,90%). Os cariótipos variaram entre monossomia completa do cromossomo X, com 82 casos (51,25%); mosaicismos em 64 casos (40%); e alterações estruturais em X ou Y, em 8,75% dos casos.

A síndrome de Klinefelter ocorreu em 17 casos, sendo 15 (82,24%) cariótipos clássicos 47,XXY e 2 (11,76%) mosaicos 47,XXY/46,XY.

A ST e outras alterações envolvendo os cromossomos sexuais estavam presentes em 193 pacientes (5,24%) da amostra estudada e correspondem a 22,44% dos casos alterados.

**Tabela 3 – Cariótipos observados em pacientes com Síndrome de Turner.**

Tipo de Alteração	Cariótipo	N	%	
Monossomia de X	45,X	82	51,25%	
Mosaicos	45,X/46,XX	18		
	45,X/46,XY	03		
	45,X/46,X, + mar	14		
	45,X/47,XY,+mar/46,XY	01		
	45,X/47,XXX/46,XX	02		
	45,X/47,XXX/48,XXXX/46,XX	01		
	45,X/47,XXX	01		
	45,X/46,X,i(X)(q10)	13		
	45,X/46,X,r(X)(p22.3;q28)	04		
	45,X/46,X,r(X?)/46,X,t(1;10)(q21;q11.2),r(X?)	01		
	45,X/46,X,idic(X)(q26)	01		
	45,X/46,X,idic(X)(p22.1)	01		
	45,X/46,X,del(X)(q13)	01		
	45,X/46,X,del(X)(p11→pter)	01		
	46,XX/46,X,idic(X)(q22)	02		
		64	40%	
	Estruturais	46,X,i(X)(q10)	08	
		46,X,del(X)(p10)	01	
		46,X,del(X)(q26)	01	
46,X,idic(X)(pter→q22::q22→pter)		01		
46,X,+mar		03		
	14	8,75%		
Total		160	100%	

Fonte Dados da pesquisa.

As alterações estruturais equilibradas estavam presentes em 35 pacientes, o correspondente a 0,9% da amostra total.

**Tabela 4 – Cariótipos com alterações cromossômicas estruturais.**

Equilibradas Translocações(34 casos)	Alterações estruturais Deleções(28 casos)	Desequilibradas Adições (21 casos)
46,XX,t(1;13)(q32;q32)	46,XX,del(4)(p15.2)	46,XX,add(18)(qter)
46,XX,t(2;3)(q21;q25)	46,XX,del(4)(p15.3)	46,XX,add(20)(q13.3)
46,XY,t(2;5)(q33;p15)pat	46,XY,del(4)(p16)	46,XY,add(X)(p22.3)
46,XY,t(2;5)(p33;p15)pat,ins(8;9)(q24.1;q32q34.1)	46,XX,del(5)(p13)	46,XX,add(Xq)
46,XY,t(2;5)(q33;p15)	46,XY,del(5)(p14→pter) (03 casos)	46,XX,add(X)(q23)
46,XX,t(2;12)(q31;q13)	46,XX,del(5)(p15)	
46,XY,t(3;4)(p25;q21)	46,XX,del(5)(p15→pter)	<b>Marcador (11 casos)</b>
46,XY,t(3;4)(q26;q21)	46,XX,del(5)(q14;q22)	47,XY,+mar (05 casos)
46,XY,t(3;11)(p21;p15)	46,XX,del(5)(q33)	47,XX,+mar (02 casos)
46,XX,t(3;X)(q26;q22.3)	46,XY,del(8)(p21)	47,XX,+mar/46,XX (03 casos)
46,XX,t(4;7)(q25;q32)	46,XY,del(9)(p21) (02 casos)	47,XY,+mar/46,XY
46,XX,t(4;12)(q21;q24.1)	46,XY,del(9)(p22→pter)	
46,XX,t(4;15)(q28;q25)	46,XY,del(9)(q22)/46,XY	<b>Cromossomo derivado (10 casos)</b>
46,XX,t(5;6)(q33;q13)	46,XX,del(11)(q23)	46,XX,der(1)t(1;13)(q32;q32)mat*
46,XY,t(5;6)(q33;q15)	46,XY,del(13)(q12)/46,XY	46,XX,der(1)t(1;13)(q32;q32)mat
46,XY,t(6;9)(q22;q27)	46,XX,del(13)(q22)	46,XY,der(3)t(3;4)(p25;q21)pat
46,XX,t(7;16)(q36;q12-13)	46,XX,del(13)(q31)	45,XX,der(3)t(3;21)(p26;q11) -21
46,XY,t(9;11)(p24;q23)	46,XX,del(18)(q12→qter)	46,XY,der(3)t(3;4)(p26;q21)pat
46,XX,t(9;18)(9pter→9q34::18q23→18pter;18pter→18q23::9q34→9qter)	46,XX,del(18)(q21.3)	46,XY,der(9)t(9;11)(p24;q23)pat
46,XY,t(10;11)(q22;q21)	46,XY,del(18)(q21.3)	46,XY,der(13)
46,XX,t(10;18)(q24;p11.2)	46,XX,del(18)(q22)	46,XX,der(15),t(4;15)(q28;q25)mat
46,XX,t(11;12)(q22;q24.1)	46,XX,del(X)(q13→qter)	46,XY,der(18),t(10;18)(q24;p11.2)
46,XY,t(11;22)(q23;q11.2)	46,XY,del(Y)(q11)	47,XX,der(22),t(11;22)(q23;p11.2)mat
46,XY,t(12;16)(q15;q24)		
45,XY,rob(13;14)(q10;q10)	<b>Adições (21 casos)</b>	<b>Anel (06 casos)</b>
45,XX,rob(13;14)(q10;q10) (3casos)	46,XX,add(2)(p25)	46,XY,r(13)(p13;q14)
45,XX,rob(14;15)(qter→q10::q11→qter)	46,XX,add(2)(q37)	46,XX,r(13)(p11.2;q32)/45,XX,-13
45,XY,rob(14;21)(q10;q10) (2casos)	46,XX,add(4)(p16)	46,XY,r(18)(p11.3;q23)
45,XX,rob(21;22)(q10;q10)	46,XX,add(4)(q35) (02 casos)	46,XY,r(21)
46,XX,t(X;11)(q22;q23)	46,XY,add(4)(pter)	46,XY,r(22)(p11;q13)
46,XY,t(X;20)(q22;q11.2)	46,XY,add(5)(p15) (02 casos)	46,XY,r(22)(p11;q13)/45,XY,-22
	46,XX,add(9)(p24)	
<b>Inversões(01 caso)</b>	46,XY,add(9)(q34)	<b>Duplicação (02 casos)</b>
46,XY,inv(12)(q15;q24.1)	46,XX,add(9)(q34)	46,XX,dup(9p) (02 casos)
	46,XX,add(10)(qter)	
	46,XY,add(11)(p15)	<b>Isocromossomo (01 caso)</b>
	46,XX,add(14)(p13)	46,X,i(Y)(p11)/46,XY
	46,XY,add(15)(q26)	
	46,XY,add(15)(p13)	

Total 35 casos = 4% das alterações

Total desequilibrada 79 casos = 9,2% das alterações

Fonte: Dados da pesquisa.

Legenda: \*tecido fetal

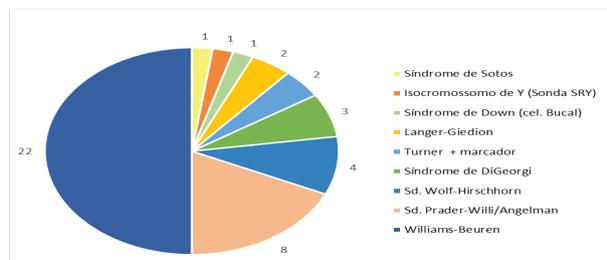
As alterações estruturais desequilibradas envolveram todos os cromossomos, exceto os cromossomos 17 e 19, sendo as deleções as mais frequentes (28 casos).

No presente estudo, foram detectados 11 casos com um cromossomo marcador.

Em 139 pacientes que apresentaram cariótipo normal, mas fenótipo suspeito para síndromes de microdeleção, foi realizada a FISH utilizando sondas específicas para as suspeitas clínicas.

A FISH detectou alteração em 44 casos de 139 avaliados (31,65%). As síndromes mais comuns detectadas foram as síndromes de Willians-Beuren (22 casos), de Prader-Willi/Angelman (8 casos) e Wolf-Hirschhorn (4 casos), conforme pode ser observado no Gráfico 2.

**Gráfico 2** – Resultados alterados na FISH em 44 pacientes atendidos no LGM.

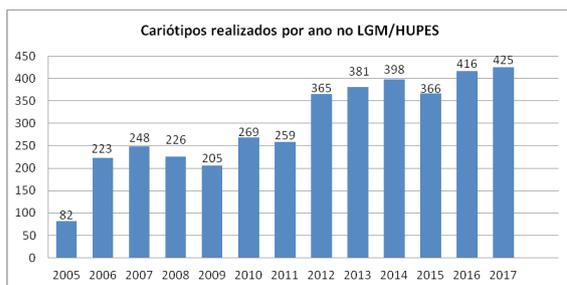


Fonte: Dados da pesquisa.

Somados os 860 casos alterados, detectados pela citogenética clássica, aos 44 casos alterados, detectados pela citogenética molecular (FISH), observou-se a ocorrência de 904 casos (24,56%) com alterações cromossômicas na população em estudo.

No Gráfico 3, pode ser observada a quantidade de pacientes atendidos por ano no LGM, desde que o serviço de citogenética começou a ser oferecido para a população baiana.

**Gráfico 3** – Quantidade de pacientes atendidos, por ano, no LGM, em 13 anos de análises citogenéticas.



Fonte: Dados da pesquisa.

## DISCUSSÃO

A frequência de alterações cromossômicas encontradas utilizando Banda G neste estudo (23,35%) está entre a média encontrada em outros estudos, em Serviços de Genética no Brasil, nos quais Almeida, no Paraná<sup>4</sup>,

encontrou 15,8%, e Moreira, na Bahia<sup>5</sup>, encontrou 33%.

O predomínio de alterações numéricas em relação às estruturais, encontrado neste estudo, reforça o fato das aneuploidias numéricas serem o distúrbio cromossômico mais frequente na espécie humana, fato bastante relatado na literatura<sup>2,4,10</sup>.

Sabe-se que de 3-15% dos pacientes com malformações congênitas e de 10-15% dos pacientes com deficiência intelectual grave apresentam alterações cromossômicas detectáveis pela citogenética convencional<sup>11</sup>. Isso reforça a importância desse tipo de avaliação nesses pacientes.

Neste estudo, a SD foi a trissomia autossômica mais frequente, representada em sua maior parte pela trissomia livre do cromossomo 21; em menores proporções, ocorreram translocação robertsoniana e presença de mosaïcismo celular. As proporções encontradas neste estudo estão muito próximas aos achados em estudo realizado por Hamid em portadores de SD, que encontrou trissomia livre do cromossomo 21 em 96,4%, seguida de translocação em 2,6% e mosaïcismo celular em 1,3% dos pacientes<sup>12</sup>.

A síndrome de Edwards (trissomia do cromossomo 18), foi a segunda trissomia autossômica mais frequente em nosso estudo, seguida da Síndrome de Patau (trissomia do 13) e um caso com trissomia do cromossomo 9 em mosaico. Dados na literatura relatam que 2 a 4% das trissomias correspondem à trissomia do cromossomo 9, porém a maioria dos fetos evolui para abortamento espontâneo. Casos raros que podem chegar a termo, geralmente ocorrem em mosaïcismo<sup>13</sup>.

Quanto às alterações envolvendo os cromossomos sexuais, a síndrome mais frequente foi a ST, cujos cariótipos variaram entre monossomia completa do cromossomo X, mosaïcismo celular e alterações estruturais em X ou Y.

A caracterização dos cromossomos sexuais é clinicamente significativa, pois o fenótipo depende da região onde ocorre perda do material genético, sendo a infertilidade e a malformação das gônadas as principais complicações<sup>4</sup>.

A síndrome de Klinefelter, determinada geneticamente pela duplicação do cromossomo X em indivíduos do sexo masculino, está entre as alterações cromossômicas mais comuns em homens inférteis<sup>14</sup>, dentre as quais o cariótipo clássico foi mais comum que o mosaïcismo somático<sup>10</sup>.

A ST e outras alterações envolvendo os cromossomos sexuais estavam presentes em 5,24% da amostra estudada e correspondem a 22,44% dos casos alterados. O Serviço de Genética Médica do HUPES tem um ambulatório para pacientes com alterações no desenvolvimento sexual, o que gera uma grande demanda desses pacientes.

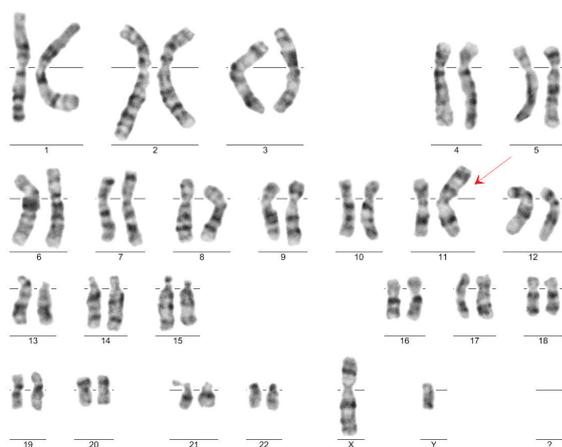
Em 2015, foi realizada uma pesquisa envolvendo 31 pacientes dessa amostra com cariótipo 45,X, utilizando a FISH em células bucais e os resultados demonstraram haver uma segunda linhagem cromossômica em 18 pacientes (58%)<sup>15</sup>.

Neste estudo, as alterações estruturais equilibradas estavam presentes em 0,9% da amostra total. Na população geral as alterações cromossômicas equilibradas estão numa frequência de 0,2%<sup>16</sup>. Na amostra estudada, a taxa aumentada dessas alterações se deve ao fato de que, muitos desses cariótipos foram identificados em pais de crianças com malformações que apresentavam cariótipo desequilibrado (Tabela 4). A realização do cariótipo nos pais desses pacientes é importante para aconselhamento genético, devido ao risco aumentado de recorrência quando as alterações cromossômicas nos filhos são herdadas. O resultado da análise citogenética nos pais auxiliará os geneticistas a estabelecer o risco de outras perdas gestacionais ou malformações fetais em gestações futuras, e pode também orientar uma investigação para outras causas genéticas ou não genéticas, em caso de pais com cariótipo normal e filhos com cariótipo alterado<sup>3</sup>.

Das alterações estruturais desequilibradas encontradas, as deleções foram as mais frequentes, principalmente a do braço curto do cromossomo 5 (5p), as quais estão associadas à síndrome de “Cri-du-chat”, e estes casos apresentaram características clássicas descritas na literatura<sup>17</sup>.

Em todos os pacientes cujos cariótipos demonstraram alterações estruturais desequilibradas é importante posterior análise citomolecular por *microarray* para identificar a região exata envolvida na alteração, devido às limitações da citogenética clássica, como o caso demonstrado na Figura 1, onde não se sabe a origem do material extra no cromossomo 11.

**Figura 1** – 46,XY,add(11)(p15). Cariótipo masculino com alteração estrutural desequilibrada. A seta mostra presença de material adicional de origem desconhecida no braço curto do cromossomo 11.



Fonte: Dados da pesquisa.

Pacientes com cariótipo normal também necessitam de análise por *microarray* para detecção de alterações menores que 5MB, não detectadas por bandamento GTG. Em 2015, foi possível realizar análise de *microarray* em

27 desses pacientes com cariótipo normal, o que levou ao diagnóstico de 11 pacientes com variações no número de cópias (CNVs) patogênicas (41% dos casos)<sup>18</sup>.

Cromossomos marcadores são definidos como cromossomos anormais que não podem ser caracterizados com base na análise citogenética padrão<sup>9</sup>. No presente estudo, foram detectados 11 casos com um cromossomo marcador. Verificar a origem desse material genético só é possível a partir da realização de *microarray* cromossômico.

Alguns pacientes que apresentaram cariótipo normal, mas apresentavam fenótipo suspeito para síndromes de microdeleção, foram encaminhados para realização da FISH utilizando sondas específicas para as suspeitas clínicas. No período a partir de 2015, foi realizada a FISH em 139 pacientes, uma vez que a citogenética clássica, com a microscopia de luz, só permite detectar deleções de tamanho acima de 5 Mb. Deleções de tamanho inferior a esse valor são definidas como microdeleções e não são detectadas pela citogenética convencional. Com o avanço tecnológico da última década, as técnicas citomoleculares foram desenvolvidas para auxiliar na identificação dessas microdeleções<sup>1</sup>.

Além de suspeita clínica para síndrome de microdeleção, houve um caso de pesquisa para isocromossomo de Y, utilizando sondas para o gene SRY e um paciente que apresentava suspeita clínica para SD, não confirmada no cariótipo. Nesse paciente, a análise em tecido de célula bucal foi realizada pela FISH que confirmou a síndrome. Recentemente, foi realizado o *microarray* nesse paciente, confirmando duplicações e deleções em cromossomo Y, além de uma microdeleção no cromossomo 7 não detectado pelo cariótipo Banda G.

Sempre foi grande a demanda pelo exame de cariótipo, desde que o LGM começou a oferecer esse serviço, em 2005. No entanto, a quantidade de exames realizados depende da disponibilidade de citogeneticistas no laboratório. Atualmente, o laboratório realiza 35 cariótipos em média por mês. Esses exames são custeados pelo SUS através do Hospital, enquanto os exames citomoleculares, no período, foram custeados com verbas de pesquisas (CNPq).

O SGM oferece uma ampla área de atuação, no que concerne a atendimento ambulatorial especializado, pois conta com os Ambulatórios de Anomalias do Desenvolvimento Sexual, Ambulatório de Genética Geral, Ambulatório de Osteogênese Imperfeita, Ambulatório de Neurogenética/Neuromuscular, Ambulatório de Erros Inatos de Metabolismo e Ambulatório de Oncogenética.

O SGM conta ainda com o Serviço de Informação sobre Agentes Teratogênicos (SIAT), composto por profissionais, estudantes de Medicina, bolsistas do PIBIC e alunos de pós-graduação, que realizam atendimento às consultas sobre agentes teratogênicos<sup>6</sup>.

A partir de 2013, o LGM iniciou a implantação de técnicas citogenéticas para o auxílio no diagnóstico e tratamento de leucemias, mediante análise cromossômica de células da medula óssea e, até o ano de 2017, já havia

realizado 168 dessas análises. Porém, atualmente elas não estão sendo realizadas. O cariótipo fetal, realizado em 6 pacientes neste estudo (4 amniocentese, 1 cordocentese e um de vilosidades coriônicas), é de extrema importância para casais cujos filhos apresentaram malformações congênitas detectadas pelo exame ultrassonográfico, uma vez que ajudará a equipe médica a decidir pelo melhor tratamento, como uma intervenção cirúrgica por exemplo, de forma precoce e segura, bem como encaminhar a família para o aconselhamento genético e reprodutivo<sup>3</sup>. No entanto, a baixa quantidade de cariótipo fetal realizado no LGM não reflete a demanda do serviço e sim as dificuldades do laboratório em realizar esse teste.

Em 2015, o LGM, em parceria com o Laboratório de Genética Humana e Mutagênese do Instituto de Biologia, iniciou, através de pesquisa científica, a triagem molecular no gene FMR1 em pacientes com suspeita da síndrome do X-frágil ou com deficiência intelectual (DI) de etiologia desconhecida. É imprescindível a realização de pesquisas envolvendo o estudo molecular do gene FMR1 para sua caracterização em pacientes com DI de causa desconhecida levando em consideração que a SXF é responsável por aproximadamente 5 a 10% de todos os DI idiopáticos no sexo masculino e por cerca de 50% de todos os DM ligados aos X<sup>19</sup>.

A limitação no número de cariótipos realizados tanto em medula óssea, pré-natal ou sangue periférico deve-se principalmente ao número reduzido de profissionais citogeneticistas no laboratório. Esses exames são agendados e os pacientes normalmente aguardam alguns meses até serem atendidos.

As análises de *microarray* e FISH em alguns desses pacientes, foram realizadas através de pesquisa científica, desenvolvida por alunos de mestrado e doutorado, e não estão disponíveis rotineiramente no LGM. Essas técnicas mais sofisticadas podem identificar rearranjos submicroscópicos não visíveis ao cariótipo Banda G. As análises de *microarray* são recomendadas em pacientes com autismo, deficiência intelectual ou dimorfismos<sup>20</sup>.

Em 6 de Junho de 2019, a Portaria nº 1.237 habilitou o Hospital Universitário Professor Edgard Santos como Serviço de Referência em Doenças Raras. Isso garante mais repasse de verbas do Sistema Único de Saúde para o Hospital, visando a assistência integral às pessoas com essas doenças. Desde então, toda a equipe do Serviço de Genética Médica do HUPES vem empreendendo esforços para atender aos requisitos da política nacional de atenção às pessoas com doenças raras.

É importante esclarecer que, mesmo que um cariótipo apresente resultado normal, isso não exclui a possibilidade de existirem alterações genéticas que não puderam ser detectadas pela tecnologia empregada. Exames mais sensíveis como o *microarray* precisam ser disponibilizados pelo SUS para essa população que necessita da rede pública de saúde.

A grande demanda de exames solicitados demonstra a necessidade de mais investimentos em políticas públicas

que culminem em planos de ação para a assistência às famílias e aos portadores de alterações cromossômicas em todo o estado da Bahia.

Este é o primeiro levantamento de ocorrências com descrição de alterações cromossômicas realizado nesse centro de referência, que atende a todo estado da Bahia, pelo SUS, há 13 anos. Acredita-se que os resultados apresentados possam aquecer as discussões sobre a importância do trabalho realizado pelo HUPES, assim como estimular o desenvolvimento de estratégias e políticas públicas que implementem melhorias na oferta do serviço, principalmente no que concerne à implantação de novas técnicas laboratoriais que aumentem a sensibilidade na detecção e no diagnóstico de doenças genéticas, bem como em melhorias em termos de infraestrutura e recursos humanos para atender as demandas do serviço.

## CONCLUSÃO

Neste estudo, o grupo das dismorfologias e/ou DI compreendeu a maior razão dos encaminhamentos, sendo que a síndrome de Down e a síndrome de Turner foram as cromossomopatias mais frequentes.

A investigação genética concluiu o diagnóstico clínico através do cariótipo Banda G em 23% dos pacientes; e a FISH realizada naqueles com suspeita de microdeleção e cariótipo normal possibilitou concluir o diagnóstico clínico em mais de 1,2% dos casos. Isso mostra que a realização do cariótipo foi extremamente útil no diagnóstico desses pacientes, porém a utilização de testes citomoleculares pode aumentar a capacidade de diagnóstico para os pacientes que utilizam o Serviço de Genética Médica do HUPES.

## REFERÊNCIAS

1. TOBIAS, E. S.; COONOR, M.; FERGUSON-SMITH, M. **Essential medical genetics**. 6th. London: Blackwell Scientific Publications, 1991.
2. PEREIRA, T. M. *et al.* Frequência de anormalidades cromossômicas para o diagnóstico citogenético. **Arq. Ciênc. Saúde**, Bauru, v. 16, n. 1, p. 31-33, jan./mar.2009.
3. FANTIN, C. *et al.* Estudo das anormalidades cromossômicas ocorridas em uma maternidade nos anos de 2010 a 2014. **Cogitare Enferm.**, Curitiba, v. 22, n. 1, p. e48599, 2017.
4. ALMEIDA, C. A.; MACENTE, S.; OLIVEIRA, K. B. Frequência de anormalidades cromossômicas em indivíduos atendidos em um laboratório de análises moleculares em Maringá – PR. **Revista Saúde e Pesquisa**, Maringá, v. 6, n. 3, p. 431-437, set./dez. 2013.
5. MOREIRA, L. M. A. *et al.* Alterações cromossômicas em 813 atendimentos em genética comunitária. **Rev. Ciênc. Méd. Biol.**, Salvador, v. 10, n. 1, p.26-28, jan./abr. 2011.
6. FERRARI, N.; AZEVÊDO, E. S. Relatos sobre a história da genética na Bahia. **Gazeta Médica da Bahia**. Salvador, v. 77, n. 2, p. 237-40, jul./dez. 2007.

7. MOORHEAD, P.S. *et al.* Chromosome preparations of leukocytes cultured from human peripheral blood. **Exp. Cell. Res.**, New York, v. 20, p.613-616, 1960.
8. JACKY, P. B. *et al.* Guidelines for the preparation and analysis of the fragile X chromosome in Lymphocytes. **Am. J. Med. Genet.**, Nova Jersey, v. 38, n. 2-3, p. 400-403, 1991.
9. MCGOWAN-JORDAN, J.; SIMONS, A.; SCHMID M. (Eds.). **ISCN An International System for Human Cytogenetic Nomenclature**. Basel: Karger, 2016.
10. BALKAN, M. *et al.* Cytogenetic analysis of 4216 patients referred for suspected chromosomal abnormalities in South east Turkey. **Genet. Mol. Res.**, Ribeirão Preto, v. 9, n. 2, p. 1094-1103, 2010.
11. VAN KARNEBEEK, C.D.M. *et al.* Diagnostic investigations in individuals with mental retardation: a systematic literature review of their usefulness. **Eur. J. Med. Genet.**, Paris, v. 13, p. 6-25, 2005.
12. HAMID, S. M; FADL-ELMULA, I. M. Clinical and karyotypic aspects of Down's syndrome in Sudanese patients. **Laboratory medicine journal**, v. 2, n. 2, p. 8-16, 2016.
13. MURTA, C. G. V; MERÇON-DE-VARGAS, P. R. Trissomia do cromossomo 9 associada com aumento da translucência nucal: correlação ultrasonográfica e anatomopatológica – relato de um caso. **Radiol. Bras.**, São Paulo, v. 34. n. 2, p. 105-108, 2001.
14. DEMIRHAN, O. *et al.* Chromosomal aberrations in turkish infertile couples with reproductive problems. **Glob. J. Fertil Res.**, Peertechz, v. 1, n. 1, p. 6-10, 2016.
15. SOARES, J. S. **Pesquisa de mosaicismo cromossômico em pacientes com síndrome de Turner de uma Instituição Pública da Bahia**. 2016. Dissertação (Mestrado em Genética e Biodiversidade) – Universidade Federal da Bahia, Salvador, 2016.
16. NUSSBAUM, R.L.; MCLNNES, R.R.; WILLARD. H.F. **Thompson & Thompson genética médica**. 8. ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2016.
17. SANTO, L. D. E.; MOREIRA, L. M. A.; RIEGEL, M. Cri-Du-Chat syndrome: clinical profile and chromosomal microarray analysis in six patients. **BioMed Research International**, New York, [online] Apr 7, 2016.
18. ALVES, E. S. **Alterações citogenômicas envolvidas na etiologia da deficiência mental**. 2015. Dissertação (Mestrado em Genética e Biodiversidade) – Universidade Federal da Bahia, Salvador, 2015.
19. VAN ESCH, H. The Fragile X permutation: new insights and clinical consequences. **Eur. J. Med. Genet.**, Paris, v. 49, n. 1, p. 1-8, 2006
20. MILLER, D.T. *et al.* Consensus statement: chromosomal microarray is a first-tier clinical diagnostic test for individuals with developmental disabilities or congenital anomalies. **Am. J. Hum. Genet.**, Chicago,, v. 86, n. 5, p. 749-64, May 14, 2010.

---

Submetido em: 23/01/2019

Aceiro em: 05/06/2019