

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA - UFSC  
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS - CCB  
HOSPITAL UNIVERSITÁRIO POLYDORO ERNANI DE SÃO THIAGO - FILIAL  
EBSERH  
LABORATÓRIO DE GENÉTICA  
CURSO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS - LICENCIATURA

Kerolin Damiani Ferreira

**Análise e caracterização de alterações cromossômicas encontradas em pacientes com suspeita de neoplasias hematológicas atendidos no Hospital Universitário Polydoro Ernani de São Thiago da Universidade Federal de Santa Catarina**

Florianópolis/SC  
2020  
Kerolin Damiani Ferreira

**Análise e caracterização de alterações cromossômicas encontradas em pacientes com suspeita de neoplasias hematológicas atendidos no Hospital Universitário Polydoro Ernani de São Thiago da Universidade Federal de Santa Catarina**

Trabalho Conclusão do Curso de Graduação em Ciências Biológicas do Centro de Ciências Biológicas da Universidade Federal de Santa Catarina como requisito para a obtenção do título de Licenciado em Ciências Biológicas.

Orientador: Dra. Ludmila Serafim de Abreu

Coorientador: Prof. Dr. Sharbel Weidner Maluf

Florianópolis/SC  
2020



Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor,  
através do Programa de Geração Automática da Biblioteca Universitária da UFSC.

FERREIRA, KEROLIN DAMIANI

Análise e caracterização de alterações cromossômicas encontradas em pacientes com suspeita de neoplasias hematológicas atendidos no Hospital Universitário Polydoro Ernani de São Thiago da Universidade Federal de Santa Catarina / KEROLIN DAMIANI FERREIRA ; orientador, LUDMILA SERAFIM DE ABREU, coorientador, SHARBEL WEIDNER MALUF, 2020.

46 p.

Trabalho de Conclusão de Curso (graduação) -  
Universidade Federal de Santa Catarina, Centro de Ciências Biológicas, Graduação em Ciências Biológicas, Florianópolis, 2020.

Inclui referências.

1. Ciências Biológicas. 2. LEUCEMIAS. 3. LINFOMAS. 4. CÂNCER . 5. CITOGENÉTICA. I. SERAFIM DE ABREU, LUDMILA . II. WEIDNER MALUF, SHARBEL . III. Universidade Federal de Santa Catarina. Graduação em Ciências Biológicas. IV. Título.

Kerolin Damiani Ferreira

**Análise e caracterização de alterações cromossômicas encontradas em pacientes com suspeita de neoplasias hematológicas atendidos no Hospital Universitário Polydoro Ernani de São Thiago da Universidade Federal de Santa Catarina**

Este Trabalho de Conclusão de Curso foi julgado adequado para obtenção do Título de licenciada em Ciências Biológicas e aprovado em sua forma final pela Banca Examinadora;

**Florianópolis, 13 de janeiro de 2020.**

---

Prof. Carlos Roberto Zanetti, Dr.  
Coordenador do Curso

**Banca Examinadora:**

---

Ludmila Serafim Abreu, Dra.  
Orientadora  
Universidade Federal de Santa Catarina

---

Profa. Maria Cláudia Santos da Silva, Dra.  
Avaliadora  
Universidade Federal de Santa Catarina

---

Camila Matiollo, Ma.  
Avaliadora  
Universidade Federal de Santa Catarina

*“Este trabalho é dedicado à minha família, e a todos que estiveram presente nas minhas muitas fases durante este percurso, com muito amor e gratidão a todos.*

*Obrigada por tudo que fizeram por mim durante esta longa jornada”*



## AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus, por me permitir estar viva para completar essa etapa complicada e turbulenta da minha vida.

À minha família, por todo apoio que me deram durante estes muitos anos, minha mãe e meu pai por me darem a vida e se sacrificarem inúmeras vezes para me dar o melhor, me apoiando nas escolhas que fiz, mesmo não sendo o que eles desejaram a mim.

Aos meus irmãos, Kevin e Emily, por serem os amores da minha vida.

Agradeço imensamente ao Erick, por ter feito parte da minha vida durante esse período, me apoiado em inúmeras escolhas, mesmo não concordando com elas.

Ao Bê, que entrou na minha vida em uma fase turbulenta, porém esteve presente e me apoiando em todas minhas escolhas.

Agradeço às amigas que fiz durante esse período, que serão levadas por toda minha vida, Maria Luiza, Carlos, Luana, Renan, Joice, Maria Paula entre tantas outras que são de extrema importância para mim.

Aos amigos, Jéssica, Fernando e Tamires por me auxiliarem nessa empreitada chamada TCC.

Aos meus orientadores, Ludmila e Sharbel, por terem paciência e não desistirem de mim, mesmo sendo complicado trabalhar comigo.

A todos os colegas de laboratório do Hospital Universitário Polydoro Ernani de São Thiago.

A todos os amigos que passaram na minha vida no decorrer destes muitos anos, me aguentando em mil fases.

Aos amigos que estavam antes e permanecem até hoje em minha vida, que estiveram comigo em momentos difíceis.

E por último, e não menos importante, à minha filha de quatro patas Valquíria por me acompanhar noites a dentro para finalizar o TCC.

Amo a todos, serei eternamente grata a todos que passaram e deixaram seus registros em minha vida.



*“A felicidade pode ser encontrada inclusive nos momentos  
mais escuros; só é preciso se lembrar de acender a luz.”  
-Harry Potter e o prisioneiro de Azkaban*



## RESUMO

O termo câncer é utilizado para referir-se a um conjunto de doenças que possuem algumas características em comum, como a proliferação anormal de determinadas células do corpo. Esta doença muitas vezes é assintomática, pois em cada tipo de câncer, e pessoa, pode variar seu grau de proliferação, podendo possuir uma velocidade lenta ou mais rápida. O câncer pode se desenvolver em vários tecidos do corpo humano. Quando essa alteração ocorre na corrente sanguínea e medula óssea (MO) são consideradas leucemias e/ou linfomas, que são caracterizadas por proliferação descontrolada em células do sistema imunológico. Uma das ferramentas utilizadas para um maior esclarecimento diagnóstico das leucemias e linfomas é a análise citogenética, que permite a detecção de alterações cromossômicas nas células. Neste trabalho foi realizada a análise citogenética e o levantamento de dados de pacientes com suspeitas de linfomas e/ou leucemias que foram encaminhados ao Laboratório de Genética do Hospital Universitário Polydoro Ernani de São Thiago - UFSC durante o período de janeiro de 2017 a julho de 2019 para a realização de exame citogenético. Neste período foram recebidas 164 amostras, das quais 88 (53,4%) apresentaram cariótipo normal, 56 (34,1%) apresentaram cariótipo alterado e 20 (12,2%) amostras não obtiveram resultados devido a ausência de crescimento celular. Dos 56 cariótipos alterados, 32 (57%) foram relacionados à leucemia mieloide aguda (LMA), 15 (27%) à leucemia mieloide crônica (LMC), 6 (11%) casos à leucemia linfóide aguda (LLA), 2 (3%) casos à síndrome mielodisplásica (SMD) e um (2%) caso neoplasia mieloproliferativa Crônica (NMP). Nestes casos a análise citogenética contribuiu para o prognóstico da doença, além de possibilitar o acompanhamento da evolução da mesma e também das formas de tratamento propostas a partir do resultado.

**Palavras-chave:** leucemia; linfoma; câncer; citogenética.

## ABSTRACT

The term Cancer is used to refer to a set of diseases that have some features in common, such as abnormal proliferation of certain body cells. This disease may be asymptomatic because, for each type of cancer and person, its degree of proliferation may vary or may have a slower or faster increase. Cancer can develop in various tissues of the human body. When this condition occurs in the bloodstream and bone marrow, it is considered leukemia and/or lymphomas, characterized by uncontrolled proliferation in cells of the immune system. Cytogenetic Analysis is one of the tools used to clarify the diagnosis of leukemias and lymphomas is, which allows the detection of chromosomal changes in the cells. In this work we performed cytogenetic analysis and data collection of patients with suspected lymphoma and / or leukemia who were referred to the Genetic Laboratory of Polydoro Ernani University at the Hospital of São Thiago - UFSC from January 2017 to July 2019. During this period, 164 samples from patients entered the laboratory, in which 88 (53.4%) presented normal karyotype, 56 (34.1%) presented altered karyotype and 20 (12.2%) of the samples did not obtain results due to the absence of the cellular growth. However, of the 56 altered karyotypes, 32 (57%) were related to acute myeloid leukemia (AML), 15 (27%) to chronic myeloid leukemia (CML), 6 (11%) cases to acute lymphoid leukemia (ALL), 2 (3%) cases to myelodysplastic syndrome (MDS) and one (2%) case to myeloproliferative syndrome (MPS). In these cases the cytogenetic analysis is extremely important for the accurate prognosis of the disease, so its evolution can be monitored and also for its proposed treatment forms based on the result.

**Keywords:** leukemia; lymphoma; cancer; cytogenetics.

## LISTA DE FIGURAS

- Figura 1 – Frequência dos diagnósticos entre os pacientes com alterações cromossômicas detectadas em 2017 26
- Figura 2 – Frequência dos diagnósticos entre os pacientes com alterações cromossômicas detectadas em 2018 28
- Figura 3 – Frequência dos diagnósticos entre os pacientes com alterações cromossômicas detectadas de janeiro a julho 2019 29
- Figura 4 – Frequência de amostras com cariótipos normais, alterados e sem crescimento em 2017, 2018 e janeiro a julho de 2019 30
- Figura 5 – Frequência dos diagnósticos entre os pacientes com alterações cromossômicas detectadas de 2017 a julho de 2019 31

## **LISTA DE TABELAS**

Tabela 1 – Alterações cromossômicas encontradas em pacientes com doenças hematológicas atendidos em 2017	25
Tabela 2 – Alterações cromossômicas encontradas em pacientes com doenças hematológicas atendidos em 2018	26
Tabela 3 – Alterações cromossômicas encontradas em pacientes com doenças hematológicas atendidos de janeiro a julho de 2019	28



## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

<b>add</b>	Material adicional;
<b>del</b>	Deleção;
<b>der</b>	Cromossoma derivado;
<b>dic</b>	Dicêntrico;
<b>HU</b>	Hospital Universitário;
<b>i</b>	Isocromossomo;
<b>inv</b>	Inversão;
<b>LLA</b>	Leucemia linfóide aguda;
<b>LLA-B</b>	Leucemia linfóide aguda de células B;
<b>LMA</b>	Leucemia mielóide aguda;
<b>LMC</b>	Leucemia mielóide crônica;
<b>LPA</b>	Leucemia promielocítica aguda;
<b>mar</b>	Cromossomo marcador;
<b>MO</b>	Medula óssea;
<b>NH</b>	Neoplasias hematológicas;
<b>or</b>	ou;
<b>p</b>	Braço curto;
<b>Ph</b>	Cromossomo Philadelphia;
<b>pter</b>	Braço curto terminal;
<b>q</b>	longo;
<b>qter</b>	Braço longo terminal;
<b>r</b>	Anel cromossômico;
<b>SMD</b>	Síndrome mielodisplásica;
<b>SMP</b>	Síndrome mieloproliferativa;
<b>t</b>	Translocação;
<b>trp</b>	Triplicação do segmento de um cromossomo;
<b>XX</b>	Feminino;
<b>XY</b>	Masculino.

## SUMÁRIO

<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO</b>	<b>15</b>
<b>2</b>	<b>JUSTIFICATIVA</b>	<b>18</b>
<b>3</b>	<b>OBJETIVO</b>	<b>18</b>
3.1	OBJETIVO GERAL	18
3.2	OBJETIVO ESPECÍFICO	18
<b>4</b>	<b>METODOLOGIA</b>	<b>19</b>
4.1	LEVANTAMENTO E ANÁLISE DA DADOS	19
4.2	OBTENÇÃO DAS AMOSTRAS	19
4.3	ANÁLISE CITOGENÉTICA	20
4.3.1	<i>Implantação das amostras</i>	20
4.3.2	<i>Processo de retirada celular</i>	21
4.3.3	<i>Processo de preparação de lâminas e bandeamento GTG</i>	23
4.3.4	<i>Processo de análise de cariótipo</i>	24
<b>5</b>	<b>RESULTADOS</b>	<b>25</b>
<b>6</b>	<b>DISCUSSÃO</b>	<b>32</b>
<b>7</b>	<b>CONSIDERAÇÕES FINAIS</b>	<b>36</b>
	<b>REFERÊNCIAS</b>	<b>37</b>
	<b>ANEXO A – Parecer do comitê de ética</b>	<b>42</b>

### 1 INTRODUÇÃO

Câncer é o nome dado a um conjunto de mais de 100 doenças que têm em comum o crescimento desordenado de células capazes de invadir tecidos e órgãos (INCA, 2016). Cada vez que uma nova célula é formada pelo complexo processo de crescimento e divisão celular,

existem diferentes meios desses eventos ocorrerem de maneira incorreta. Deste modo, a probabilidade de ocorrer um erro que pode levar ao início do processo de desenvolvimento de células cancerosas é considerável (WEINBERG, 2008). Estas alterações no DNA podem ser por fatores internos, como defeitos nos mecanismos de replicação ou reparo, ou por motivos externos, como mutagênicos biológicos, químicos ou radiação ionizante (VOGEL; MOTULSKY, 1997). Evidências sugerem que grande parte das neoplasias são de natureza clonal, que surgem da expansão de uma alteração celular inicial (FETT-CONTE *et al.* 2000). Quando estas células sofrem multiplicação celular completamente descontroladas, os clones derivados são chamados de tumor (MONTENEGRO *et al.* 2008).

Em 2017, foram relatados 1.312.663 casos de óbitos por câncer no Brasil (SUS, 2019), enquanto que no estado de Santa Catarina o número de casos de óbitos por câncer foi de 39.772 (SUS, 2019). As estimativas para 2018, válidas também para 2019, estimam a ocorrência de 600 mil novos casos para cada ano (INCA, 2017). As neoplasias podem se manifestar em vários tecidos do corpo humano. Conforme Jorde e colaboradores (2010), os principais tipos de tumores são de tecido epitelial (Carcinomas, os tumores mais comuns), de tecido conjuntivo (Sarcomas), de tecido linfático (Linfomas), células glia do sistema nervoso central (Gliomas) e de órgãos hematopoiéticos (Leucemias).

As neoplasias hematológicas (NH) estabelecem uma classe de cânceres que possuem início em células hematopoiéticas (BATISTA *et al.* 2016), sendo clinicamente classificadas como linfomas, leucemias, mieloma múltiplo, neoplasias de plasmócitos (MM) e síndromes mielodisplásicas (BATISTA *et al.* 2016; RODRIGUES-ABREU *et al.* 2007). Entretanto a principal classificação baseia-se nos tipos celulares que são afetados inicialmente em cada grupo, neoplasias que se originam de células de medula óssea (MO) são intituladas neoplasias mieloides, onde são encontradas a leucemia mieloide aguda (LMA), leucemia mieloide crônica (LMC) e as síndromes mielodisplásicas (SMD). As derivadas do sistema linfático são intituladas neoplasias linfoides que incluem a leucemia linfocítica aguda (LLA), leucemia linfocítica crônica (LLC), Linfoma de Hodgkin (LH) e Linfoma não-Hodgkin (LNH) além de neoplasias de plasmócitos (MM) (SWERDLOW *et al.* 2008).

Linfomas e leucemias ocorrem devido a uma proliferação descontrolada de glóbulos brancos em suas determinadas correntes. O linfoma é encontrado no sistema linfático, e as leucemias na MO e circulação sanguínea que afetam os leucócitos ou glóbulos brancos, responsáveis pela defesa do organismo (MONTENEGRO *et al.* 2008). Dados da OMS

mostram que o número de casos novos de leucemia corresponde a 2,5% de todos os casos novos de câncer (FERLAY *et al.* 2015). No cenário nacional, o número de novos casos de leucemia estimado para 2018 foi de 10.800 (INCA/MS. 2018; PRADA-ARISMENDY *et al.* 2017).

Uma das ferramentas utilizadas para um maior esclarecimento diagnóstico das neoplasias hematopoiéticas é a análise citogenética, que permite a detecção de alterações cromossômicas nas células (VOGEL; MOTULSKY, 1997). As alterações cromossômicas encontradas em leucemias e linfomas podem ser estruturais e/ou numéricas, sendo que a primeira envolve alterações estruturais como inversões, deleções, duplicações, translocações, entre outros rearranjos cromossômicos, podendo ser equilibradas ou não equilibradas, e as numéricas com o número de cromossomos (MONTENEGRO *et al.* 2008). Essas alterações podem afetar e comprometer um ou mais cromossomos autossomos, sexuais ou ambos simultaneamente (CARAKUSHANSKY, 2001; THOMPSON & THOMPSON, 2002).

Os estudos de citogenética clínica iniciaram-se em 1960 com os estudos de leucemias, com a descoberta de que o cromossomo Philadelphia (Ph) marcador de LMC, oriundo da translocação entre os braços longos dos cromossomos 9 e 22, devido a um erro durante a divisão celular (ALBERTS *et al.* 1997; BERGANTINIL *et al.* 2005; GRIFFITHS *et al.* 2006; SEEBACH *et al.*, 1992). Este erro tem como consequência a expressão da proteína híbrida BCR/ABL1 (MARTINEZ-SERRA *et al.* 2014). A alteração cromossômica justapõe o gene *ABL1*, localizado no cromossomo 9, com a região do gene *BCR*, localizado no cromossomo 22, gerando o oncogene *BCR-ABL1* (BERDEL *et al.* 2014). Aproximadamente 95% de pacientes com LMC apresentam a t(9;22)(q34;q11) (CHAUFFAILLE *et al.*, 2011; PASKULIN G.A. *et al.*, 1998). O melhor tecido para a análise citogenética de LMC é a MO, pois está em completo processo de divisão celular, contendo um maior número de material para análise e revelam maior índice de alterações cromossômicas (FETT-CONTE *et al.*, 2000; MALUF *et al.*, 2011; NUSSBAUM *et al.*, 2002).

Segundo a Organização Mundial da Saúde (OMS), a LMA possui fatores prognósticos determinados pela citogenética, que podem ser associados, de acordo com o cariótipo, em favorável, intermediário ou desfavorável (SWERDLOW *et al.* 2008). Portanto, na LMA o estudo de alterações citogenéticas é um marcador de prognóstico bem definido, promovendo uma melhor classificação de LMA e escolhas terapêuticas (CHAUFFAILLE *et al.*, 2011;

GRIMWADE *et al.*, 1998; MRÓZEK *et al.*, 1997). Nos casos diagnosticados com LMA cerca de 75% apresentam alterações cromossômicas, podendo ser estruturais ou numéricas (CHAUFFAILLE *et al.*, 2011), sendo que a translocação 8;21 [t(8;21)(q22;q22)] e a inversão do cromossomo 16 [inv(16)(p13q22)] estão relacionadas a um bom prognóstico, enquanto que o rearranjo envolvendo o gene MLL na região 11q23 do cromossoma 11 está associado a um prognóstico desfavorável e menor sobrevida (BACHER *et al.* 2009). Outra alteração frequente na LMA e com o prognóstico favorável é a translocação 15;17 [t(15;17)(q22;q12)], que caracteriza a leucemia promielocítica aguda (LPA) (CHAUFFAILLE *et al.*, 2011).

Nesse contexto, a pesquisa demonstra a importância da citogenética clínica nas neoplasias hematológicas, pois seu uso auxilia na confirmação de determinadas suspeitas e também a complementar diagnósticos médicos (GUS *et al.*, 2011). A análise citogenética tem permitido a detecção de alterações cromossômicas como fator diagnóstico, classificando as neoplasias hematológicas em seus diferentes estágios de desenvolvimento (MRÓZEK *et al.* 1997, PASKULIN *et al.* 1998; PERKINS *et al.* 1997). O prognóstico é dado com base nas alterações cromossômicas encontradas, o que conferirá um bom ou mau prognóstico ao paciente, auxiliando desta forma na escolha dos tratamentos (MONTENEGRO *et al.* 2008).

O presente trabalho tem como justificativa evidenciar a importância dos estudos citogenéticos como ferramenta para auxiliar, ou mesmo elucidar, o diagnóstico de neoplasias hematológicas. Além disso, com este estudo, pretendeu-se fazer uma primeira caracterização do perfil citogenético dos pacientes com suspeitas de neoplasias hematológicas atendidos no Hospital Universitário Polydoro Ernani de São Thiago, da Universidade Federal de Santa Catarina (HU-UFSC) e levantar dados para um trabalho mais recente sobre citogenética clássica aplicada a citogenética clínica em diagnósticos de neoplasias hematológicas.

### **3 OBJETIVOS**

#### **3.1 OBJETIVO GERAL**

Investigar a presença de alterações cromossômicas nas amostras de sangue e/ou medula óssea coletadas de indivíduos com suspeita de neoplasias hematológicas atendidos no Hospital Universitário Polydoro Ernani de São Thiago (HU-UFSC) e encaminhadas para o Laboratório de Genética do HU-UFSC para realização de cariótipo.

#### **3.2 OBJETIVO ESPECÍFICO**

- Fazer um levantamento dos casos com suspeita de neoplasias hematológicas que, após realização de cariótipo no Laboratório de Genética do HU-UFSC, apresentaram alteração cromossômica;
- Analisar a frequências das alterações cromossômicas encontradas nas amostras de sangue e/ou medula recebidas no período de janeiro de 2017 a julho de 2019 e correlacionar o resultado do cariótipo com o diagnóstico;
- Analisar, comparativamente, a frequência de alterações cromossômicas encontradas em 2017 e 2018;
- Caracterizar um primeiro perfil citogenético dos pacientes com suspeita de neoplasias hematológicas que apresentaram alterações cromossômicas no exame citogenético realizado no Laboratório de Genética do HU-UFSC.

## 4 METODOLOGIA

### 4.1 LEVANTAMENTO E ANÁLISE DE DADOS

Neste estudo foi realizado o levantamento dos casos com suspeita de neoplasia hematológica que tiveram amostras de medula óssea ou sangue periférico encaminhados para o Laboratório de Genética do HU-UFSC, para a realização de cariótipo. Foram incluídos os resultados citogenéticos registrados no banco de dados do Laboratório de Genética do HU-UFSC, durante os anos de 2017 e 2018, e também os resultados obtidos das análises citogenéticas realizadas até julho de 2019.

Em seguida, foram relacionados os casos que apresentaram cariótipos alterados, onde foi feita a análise das alterações cromossômicas encontradas. O diagnóstico foi estabelecido pelos hematologistas responsáveis através de exame clínico completo e demais exames laboratoriais. Com base nessas informações, foi caracterizado um perfil citogenético dos pacientes com diagnóstico de neoplasias hematológicas atendido no HU-UFSC. As variáveis foram descritas como médias seguidas  $\pm$  desvio padrão.

Para a formação deste perfil, os resultados foram expostos de forma quantitativa, onde os dados tabulados foram separados entre os tipos de neoplasias hematológicas, realizando um estudo transversal.

### 4.2 OBTENÇÃO DAS AMOSTRAS

Esta pesquisa utilizou amostras de sangue e/ou medula óssea, de pacientes com suspeita de neoplasias hematológicas atendidos no Hospital Universitário Polydoro Ernani de São Thiago da Universidade Federal de Santa Catarina (HU-UFSC), que foram encaminhadas para o Laboratório de Genética do HU-UFSC, no período de janeiro de 2017 a julho de 2019, para exame citogenético.

As amostras de sangue periférico foram coletadas no Setor de Coleta Laboratorial do HU-UFSC, enquanto que as amostras de medula óssea foram coletadas por médicos, no Setor de Cirurgia Ambulatorial do mesmo hospital. Depois de coletadas, as amostras foram encaminhadas ao Laboratório de Genética do HU-UFSC, onde foram registradas no banco de dados pelos responsáveis. Durante o registro, cada amostra foi identificada com um código

específico utilizado para todos os processos de análise citogenética. Os códigos são compostos pela letra L, referente a linfoma ou leucemia, seguida dos dois últimos números do ano em que o material foi coletado e, por último, a ordem de chegada do material no laboratório, exemplo: L19001, L19050, L19100. Após registro, as amostras contendo apenas o código do Laboratório de Genética do HU-UFSC e o tipo de material coletado foram disponibilizadas à aluna responsável por esta pesquisa.

Este trabalho faz parte de um projeto maior intitulado “Investigação de alterações citogenéticas e moleculares em pacientes com suspeita de doença genética e neoplasias hematológicas no Hospital Universitário da Universidade Federal de Santa Catarina”, aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa com Seres Humanos da Universidade Federal de Santa Catarina (CEPSH-UFSC), com parecer de número 1.694.063. (ANEXO 1)

#### 4.3 ANALISE CITOGENÉTICA

Para a análise citogenética de pacientes foram utilizados protocolos específicos para cada amostra, os protocolos contêm informações sobre a implantação de amostras/cultura celular, retirada celular, produção de lâminas e coloração em banda G das mesmas.

As análises citogenética de pacientes com suspeita de neoplasia hematológica foram feitas com amostras de medula óssea. Nos casos que apresentaram um aumento na quantidade de blastos, pôde-se utilizar o sangue periférico para a realização do cariótipo. As técnicas de cultura foram realizadas conforme Verma e Babu (1995).

##### 4.3.1 Implantação das amostras

As amostras de sangue periférico foram coletadas no Setor de Coleta Laboratorial HU-UFSC e encaminhadas em tubo de heparina ou seringa para o Laboratório de Genética do HU-UFSC, onde foram registradas com o código do laboratório. Após o registro, a amostra de sangue foi levada ao fluxo laminar para a implantação do material.

Para a implantação celular, foi utilizado meio de cultura específico, MarrowMax ou MarrowGrow. Foram aliqüotados 5 ml do meio específico em frasco de cultura estéril que permitem a entrada de CO<sub>2</sub>. Esses frascos foram identificados com o código do paciente



estabelecido pelo laboratório e, em seguida, foram aliqüotados 0,5 ml de sangue previamente homogeneizado. No caso da amostra ser recebida em seringa, as primeiras gotas foram descartadas e, em seguida, foram pingadas de 7 a 11 gotas de sangue no frasco. Após realizar a implantação, o frasco foi colocado na estufa de cultura a 37°C, com 5% de CO<sub>2</sub>, sendo a amostra incubada durante um período de 24 horas, 48 horas ou algumas horas em casos excepcionais.

As amostras de medula foram coletadas por médicos no Setor de Cirurgia Ambulatorial e encaminhadas em tubo de heparina ou seringa para o Laboratório de Genética do HU-UFSC, onde foram registradas com o código do laboratório. Após o registro, a amostra de medula óssea foi levada ao fluxo laminar para a implantação do material.

A amostra de medula óssea foi colocada em um tubo *falcon* estéril contendo de 3 a 4 ml de meio RPMI, devidamente identificado com o código do laboratório. No caso da amostra ser recebida em seringa, as primeiras gotas do material foram descartadas. Após o material ser colocado no tubo com RPMI, o mesmo foi homogeneizado cuidadosamente e centrifugado por 8 min a 2500 rpm.

Ao fim do tempo de centrifuga, a gordura presente no material foi descartada utilizando-se uma pipeta *pasteur* estéril. Nas amostras que permaneceram com muita gordura, adicionou-se novamente o RPMI e centrifugou-se o material. Após o descarte da gordura, utilizou-se uma nova pipeta *pasteur* estéril para retirar aproximadamente 1 ml da camada de cima do *pellet*. A seguir, foram pingadas de 6 a 11 gotas desse material em um frasco de cultura estéril que permite a entrada de CO<sub>2</sub> contendo 5 ml de meio específico para medula descritos acima. Após realizar a implantação, o frasco foi colocado na estufa de cultura a 37°C com 5% de CO<sub>2</sub>, sendo a amostra incubada durante um período de 24 horas, 48 horas ou algumas horas em casos excepcionais.

#### **4.3.2 Processo de retirada da cultura celular**

A retirada de cultura celular de sangue foi iniciada 45 min. antes de completar o período de incubação, quando foram adicionados à cultura 60µl de Colchicina para bloquear as metáfases. Depois de 45 minutos, a amostra foi colocada em um tubo *falcon* não-estéril, devidamente identificado e, em seguida, centrifugada por 7 min. a 1500rpm. Após a centrifugação, retirou-se o sobrenadante, que foi devidamente descartado, e colocou-se

cuidadosamente 7 ml de KCl 0,075M para o tratamento hipotônico, homogeneizando cuidadosamente para não haver a formação de grumos, deixando o KCl agir por 15 minutos.

Após 15 minutos de tratamento hipotônico com KCl, foi adicionado à amostra 0,7 ml de fixador para interromper o tratamento hipotônico e, em seguida, o material foi centrifugado por 7 min. a 1500 rpm. O fixador utilizado foi o Carnoy (Metanol 3:1 Ácido Acético), feito sempre no tempo de espera do processo com KCl, ou antes de começar o processo de retirada celular. Após o tempo de centrifuga, retirou-se o sobrenadante da amostra, descartando-o corretamente, passando o restante da amostra no *vortex* e então acrescentou-se até 7 ml de fixador, homogeneizando a amostra para impedir a formação de grumos. Depois, para fixação da amostra, a mesma foi deixada na geladeira por no mínimo 15 minutos.

Passados os 15 minutos de fixação, a amostra foi centrifugada por 7 min. a 1500 rpm. Repetindo o processo de retirada de sobrenadante, com o descarte correto do mesmo e, em seguida, acrescentou-se até 7 ml de fixador, homogeneizando a amostra, repetindo este passo por no mínimo mais duas vezes, ou até a amostra ficar limpa. Muitas vezes pela quantidade de material existente não é possível fazer mais de duas vezes este processo.

A retirada de cultura celular de medula foi iniciada 45 minutos antes de completar o período de incubação, quando foram adicionados à cultura 60µl de Colchicina para bloquear as metáfases. Depois de 45 minutos, a amostra foi colocada em um tubo *falcon* não-estéril, devidamente identificado e, em seguida, centrifugada por 7 min. a 1500rpm. Após a centrifugação, retirou-se o sobrenadante, que foi devidamente descartado, e colocou-se cuidadosamente 8 ml de KCl para o tratamento hipotônico, homogeneizando cuidadosamente para não haver a formação de grumos e deixando agir por 16 minutos.

Após 16 minutos de tratamento hipotônico com KCl, foi adicionado à amostra 0,8 ml de fixador, o mesmo descrito acima, para interromper o tratamento hipotônico e, em seguida, o material foi centrifugado por 7 min. a 1500 rpm. Após o tempo de centrifuga, retirou-se o sobrenadante da amostra, descartando-o corretamente, passando o restante da amostra no *vortex* e então acrescentou-se até 8 ml de fixador, homogeneizando a amostra para impedir a formação de grumos. Depois, para fixação da amostra, a mesma foi deixada na geladeira por no mínimo 15 minutos.

Passados os 15 minutos de fixação, a amostra foi centrifugada por 7 min. a 1500 rpm. Repetindo o processo de retirada de sobrenadante, com o descarte correto do mesmo e, em

seguida, acrescentou-se até 8 ml de fixador, homogeneizando a amostra, repetindo este passo por no mínimo mais duas vezes, ou até a amostra ficar limpa. Muitas vezes pela quantidade de material existente não é possível fazer mais de duas vezes este processo.

Em ambos os casos, o processo de retirada de cultura celular pode ser estagnado, se necessário, na etapa de espera da geladeira, ou no fim das etapas de fixação, podendo ser retomado em algumas horas ou até mesmo no dia seguinte.

#### **4.3.3 Processo de preparação de lâminas e bandeamento GTC**

As lâminas, assim que retiradas das caixas, foram lavadas com água e detergente e armazenadas em um recipiente contendo etanol absoluto. No momento da utilização, as lâminas foram retiradas do recipiente com etanol, secas com papel toalha e colocadas no congelador, para uma melhor distribuição da amostra na superfície da lâmina. Se o material se encontrava na geladeira, o mesmo foi centrifugado por 7 minutos a 1500 rpm, depois foi retirado o sobrenadante e adicionado fixador proporcionalmente a quantidade de amostra existente no pellet.

Depois, as lâminas foram retiradas do congelador uma a uma, sendo pingadas em cada uma delas duas a três gotas do material a uma distância de aproximadamente quinze centímetros. As lâminas foram então identificadas, de forma clara e padronizada com o código do laboratório, e deixadas secar de um dia para o outro em temperatura ambiente. Quando necessário, as lâminas já pingadas com o material foram colocadas em estufa a 37°C, durante algumas horas, para um envelhecimento precoce das mesmas

Para o processo de bandeamento GTG, utilizou-se a tripsina para desproteíntizar os cromossomos e posteriormente corar com giemsa para que assim as bandas cromossômicas ficassem visíveis no microscópio. Primeiramente a tripsina foi retirada do congelador e colocada em banho-maria a 37°C. Enquanto isso, foram preparados dois frascos contendo 50% de água e 50% de solução tampão fosfato ph 6,8. Os frascos foram identificados como 1 e 2, no frasco 1 foram adicionadas algumas gotas de SBF (soro bovino fetal), para interromper a tripsinização dos cromossomos. Também foi feito o Giemsa 10% (preparados com corante e tampão ph 6,8) em uma seringa.

Quando a tripsina atingiu 37°C, as lâminas foram uma a uma mergulhadas na tripsina, inicialmente por 3 segundos, ajustando o tempo conforme necessário para aquisição de bandas. Em seguida, as lâminas foram mergulhadas no frasco 1, com SBF para a

estagnação da tripsina, e, na sequência, no frasco 2, para uma melhor lavagem e retirada da tripsina. Feito esse processo, as lâminas foram coradas com o corante Giemsa, pelo tempo de 3 a 4 minutos. Depois de coradas, as lâminas foram lavadas em água corrente e deixadas secar em temperatura ambiente.

#### **4.3.4 Processo de análise de cariótipo**

O processo de análise de cariótipo foi realizado através de um microscópio óptico de luz acoplado a uma câmera interligada a um computador contendo o programa GeneAll. GeneAll é um software específico para análise cromossômica que tem a função de auxiliar na captura das imagens das melhores metáfases encontrados nas lâminas. Inicialmente foram capturadas 15 imagens de metáfases, se houve alguma alteração ou dúvida o número aumenta para 20 imagens ou mais, até se obter um resultado mais preciso.

Após a captura, com o auxílio do programa, foi feito o melhoramento da imagem, deixando-a mais nítida e melhorando a visualização das bandas. Em seguida, realizou-se a separação dos cromossomos e a transferência dos mesmos para uma nova página. Nessa etapa, os cromossomos foram pareados, havendo assim a contagem dos mesmos, e as melhores metáfases foram impressas e guardadas junto à pasta com os dados do paciente.

Existem muitas alterações cromossômicas que podem ser vistas em mais de um caso, como por exemplo a  $t(9;22)$  que pode ser encontrada em muitos tipos de leucemias e neoplasias. De acordo com a alteração encontrada e com o auxílio das informações vindas nas requisições médicas é possível confirmar ou não a suspeita médica de neoplasia, e dessa forma prover um diagnóstico mais próximo do correto. Para se ter certeza de que realmente possui uma alteração cromossômica um clone deve ter pelo menos duas células com a mesma alteração, nos casos de a alteração ser um cromossomo adicional ou um rearranjo estrutural. Caso a alteração tratar-se da perda de um cromossomo, a mesma perda deve ocorrer em pelo menos três células para ser considerado como clonal.

## 5 RESULTADOS

No ano de 2017 foram encaminhadas ao laboratório 55 amostras de pacientes com suspeita de neoplasias hematológicas, sendo 24 do sexo masculino e 31 do sexo feminino. A idade variou de 16 a 82 anos, com média de 38 anos. Das 55 amostras, 29 (52,8%) apresentaram cariótipo normal, 19 (34,5%) apresentaram cariótipo alterado e 7 (12,7%) amostras não apresentaram crescimento celular suficiente para a realização do exame (Tabela 1).

Tabela 1- Alterações cromossômicas encontradas em pacientes com doenças hematológicas atendidos em 2017.

Amostra	Diagnóstico	Resultado
1	LMA	46,XY,t(15;17)(q24;q21)
2	LMA	46,XX,inv(16)(p13q22)/47,XX,+8,inv(16)(p13q22)
3	LMA	46,XX,t(15;17)(q24;q21)
4 <sup>1</sup>	LMC	46,XX,t(9;22)(q34;q11)
5 <sup>1</sup>	LMC	46,XX,t(9;22)(q34;q11),t(15;17)(q24;q21)
6 <sup>2</sup>	LMA	47,XY,inv(16)(p13q22),+22/46,XY,inv(16)(p13q22)
7	LMA	46,XY,t(8;21)(q22;q22)
8	SMP	46,XY,trp(1)(q21q32)/46,XY
9 <sup>3</sup>	LMA	46,XY,inv(16)(p13q22)
10	LMA	46,XY,t(8;21)(q22;q22)
11	LMA	46,XX,der(16)t(16;?)(q24;?)
12	LMA	46,XY,der(11)t(11;?)(q23;?) or del(11)(q23)/46,XY

13	LMA	49,XY,del(11)(q23),+3,+4,+8,+9,+20,+21[cp31]
14	LMA	46,XX,inv(16)(p13;q22)
15	LMA	46,XY,t(9;22)(q34;q11)/46,XY
16	LMC	46,XY,t(9;22)(q34;q11)/46,XY
17	LMA	46,XY,t(15;17)(q24;q21)
18	LMA	46,XX,del(9)(q22q32)/46,XX
19	LMC	46,XX,t(9;22)(q34;q11)

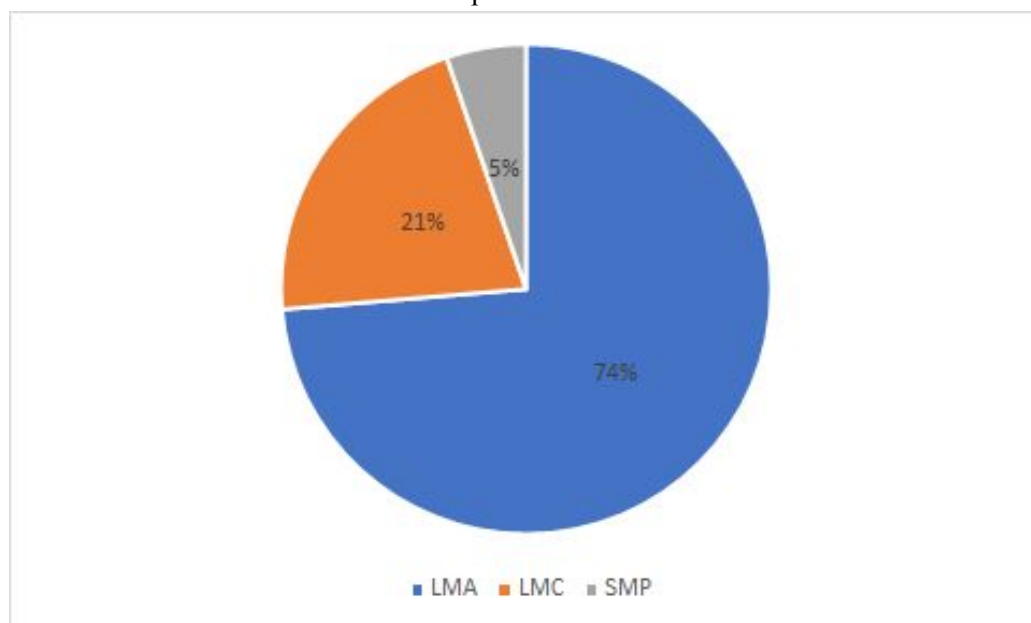
Fonte: Elaborado pela autora (2019)

1- Amostras 4 e 5 provenientes da paciente EJ. 2- Amostras 6 e 27 provenientes do paciente VS. 3- Amostras 9 e 30 provenientes do paciente OS.

Dos 19 cariótipos alterados, 14 (74%) foram relacionados à leucemia mieloide aguda (LMA), 4 (21%) casos à leucemia mieloide crônica (LMC), e um (5%) caso de síndrome mieloproliferativa (SMP) (Figura 1).

Figura 1 - Frequência dos diagnósticos entre os pacientes com alterações cromossômicas detectadas em 2017.

LMA: Leucemia mieloide aguda; LMC: Leucemia mieloide crônica; SMP: Síndrome mieloproliferativa.



Fonte: Elaborado pela autora (2019)

Em 2018, o laboratório recebeu 66 amostras de pacientes com suspeita de neoplasias hematológicas, correspondendo a 39 do sexo masculino e 27 do sexo feminino. A idade variou de 17 a 77 anos, com média de 36,5 anos. Das 66 amostras, 34 (51,5%) apresentaram cariótipo normal, 22 (33,3%) apresentaram cariótipo alterado e 10 (15,2%) amostras não puderam ser analisadas devido a ausência de crescimento celular (Tabela 2).

Tabela 2- Alterações cromossômicas encontradas em pacientes com doenças hematológicas atendidos em 2018.

Amostra	Diagnóstico	Resultado
20	LMC	46,XY,t(9;22)(q34;q11)
21	LMA	46,XY,t(15;17)(q24;q21)/47,XY,t(15;17),+10
22	LMA	46,XY,inv(16)(p13q22)
23	LMA	45,XY,dic(5;11)(pter;q23),del(15)(q21?)/46,XY,del(2)(q31),del(4)(p15),t(9;22)(q34;q11),del(15)(q22?)
24	LMA	46,XX,t(15;17)(q24;q21)
25	LMA	45,XY,-7/45,XY,-7, outras alterações estruturais/45,XY,-7,t(9;22)(q34;q11)
26 <sup>a</sup>	LMA	45,X,-Y,t(8;21)(q22;q22),del(7q) com outras anormalidades não clonais
27 <sup>2</sup>	LMA	46,XY,inv(16)(p13q22)
28	LMA	46,XX,t(8;21)(q22;q22),inv(9)(p11q12)
29	LLA	Hiperploidia (51-52 cromossomos)/46,XY
30 <sup>3</sup>	LMA	46,XY,inv(16)(p13q22)
31	LLA	48,XXY,i(9)(q10),add(11)(p15),i(17)(q10),+mar/46,XY
32	LLA	46,XY,t(9;22)(q34;q11)/46,XY
33	LLA	46,XX,t(9;22)(q34;q11)
34	SMD	46,XY,del(5)(q22q35?)/46,XY
35	LLA	46,XX,t(6;19)(q21;q13)
36	LMA	46,XY,t(8;21)(q22;q22)
37 <sup>5</sup>	LMC	46,XY,t(9;22)(q34;q11)
38	LMC	46,XY,t(1;9)(q23;p13)/46,XY

39	LMA	46,XY,inv(16)(p13q22)/46,XY,inv(16)(p13q22) e alterações estruturais nos cromossomos 2,4,9,10,13,17/46,XY,inv(16)(p13q22) com hiperploídia (+8,+14,+15,+21,+22)
40 <sup>s</sup>	LMC	46,XY,t(9;22)(q34;q11)
41	LMC	46,XY,t(9;22)(q34;q11)

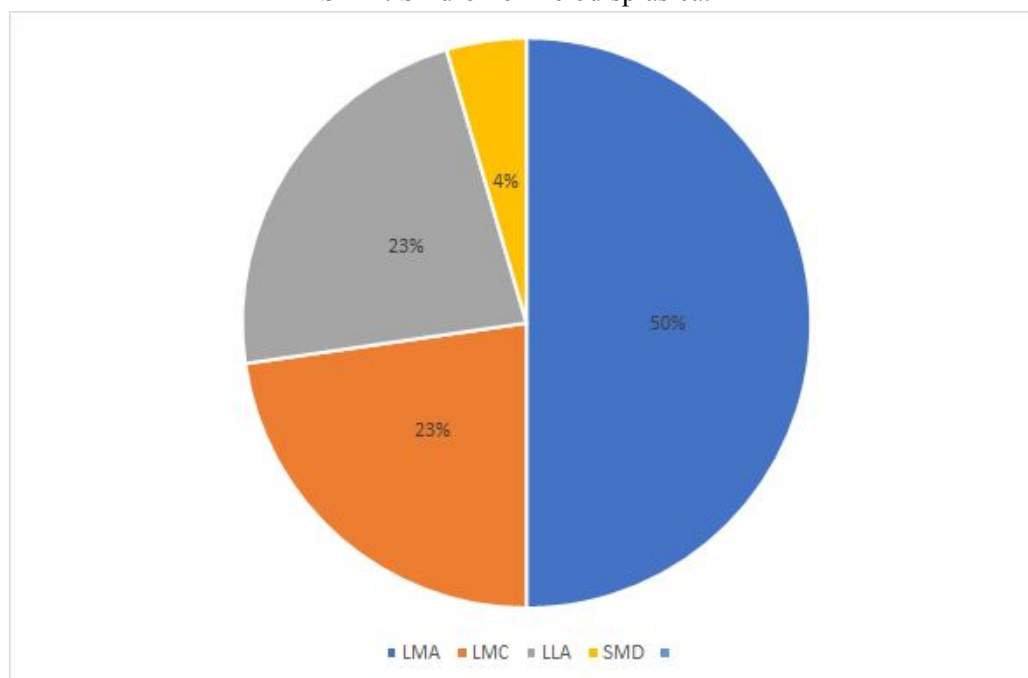
Fonte: Elaborado pela autora (2019)

2- Amostras 6 e 27 provenientes do paciente VS. 3- Amostras 9 e 30 provenientes do paciente OS. 4- Amostras 26 e 55 provenientes do paciente FC. 5- Amostras 37, 45 e 52 provenientes do paciente MS. 6- Amostras 40 e 48 provenientes do paciente VA.

Dos 22 cariótipos alterados, 11 foram relacionados à LMA (50%), 5 casos à LMC (23%), 5 casos à LLA (23%) e um caso à síndrome mielodisplásica (SMD) (4%) (Figura 2).

Figura 2 - Frequência dos diagnósticos entre os pacientes com alterações cromossômicas detectadas em 2018.

LMA: Leucemia mieloide aguda; LMC: Leucemia mieloide crônica; LLA: Leucemia linfóide aguda; SMD: Síndrome mielodisplásica.



Fonte: Elaborado pela autora (2019).

No período de janeiro a julho de 2019, o Laboratório de Genética do HU-UFSC recebeu 43 amostras de pacientes com suspeita de doenças hematológicas, sendo 23 do sexo masculino e 20 do sexo feminino. A idade variou de 17 a 81 anos, com média de 48,7 anos. Das 43 amostras, 25 (58,1%) apresentaram cariótipo normal, 15 (34,9%) apresentaram



cariótipo alterado e em 3 (7%) amostras o exame não pode ser realizado devido a ausência de crescimento celular (Tabela 3).

Tabela 3- Alterações cromossômicas encontradas em pacientes com doenças hematológicas atendidos de janeiro a julho de 2019.

Amostra	Diagnóstico	Resultado
42	LLA	46,XY,del(6)(q22)/46,XY
43	LMA	45,XY,-7/46,XY
44	LMC	46,XX,t(9;22)(q34;q11)/46,XX
45 <sup>5</sup>	LMC	46,XY,t(9;22)(q34;q11)/46,XY
46	LMA	46,XX,del(11)(q23)/47,XX,del(11)(q23),+21/46,XX
47	LMC	46,XY,t(9;22)(q34;q11)
48 <sup>6</sup>	LMC	49,XY,t(9;22)(q34;q11)del(11)(q23),i(17)(q10),+8 or +Ph/46,XY,t(9;22)(q34;q11),i(17)(q10)/46,XY[9]
49	SMD	47,XY,+mar/48,XY,+mar,+mar/46,XY
50	LMA	46,XX,t(15;17)(q22;q21)/46,XX
51	LMA	46,XY/46,XY,add(3)(p26)/46,XY,inv(17)(p11.2q21)/46,XY,add(3)(p26),inv(17)(p11.2q21)
52 <sup>5</sup>	LMC	46,XY,t(9;22)(q34;q11)/46,XY
53	LMC	48,XY,t(9;22)(q34;q11),+8,+Ph/47,XY,t(9;22)(q34;q11),+Ph/46,XY
54	LMA	46,XY,del(5)(q13q34)/46,XY,r(5)(q13q34)
55 <sup>4</sup>	LMA	45,X,-Y,t(8;21)(q22,q22),del(9q)
56	LMA	46,XX,t(15;17)(q24;q21)

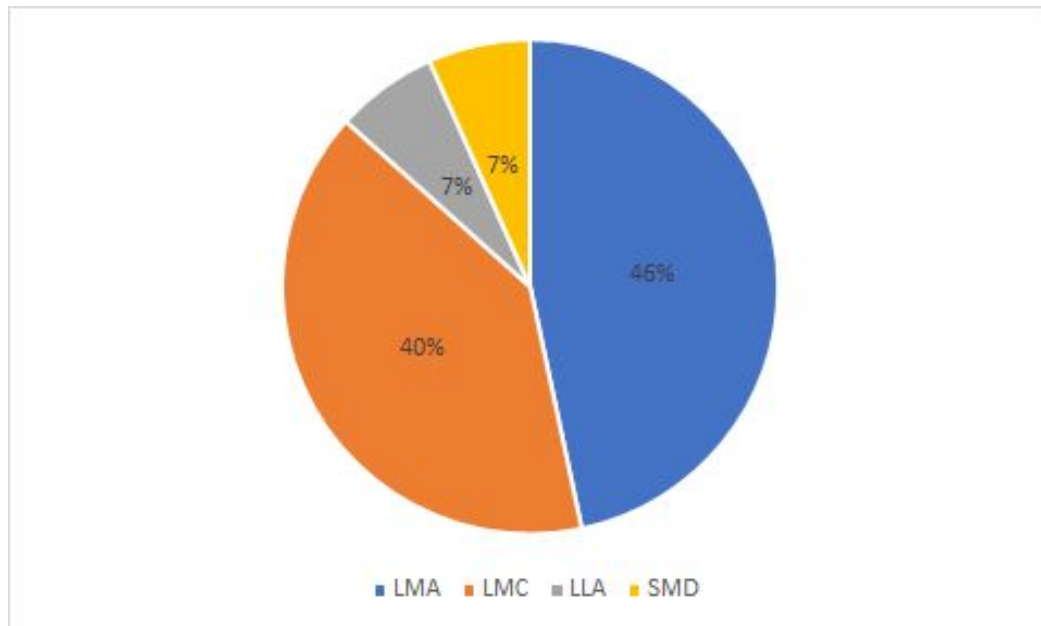
Fonte: Elaborado pela autora (2019).

4- Amostras 26 e 55 provenientes do paciente FC. 5- Amostras 37, 45 e 52 provenientes do paciente MS. 6- Amostras 40 e 48 provenientes do paciente VA.

Dos 15 cariótipos alterados, 7 casos foram relacionados à LMA (46%), 6 à LMC (40%), um caso à LLA (7%) e um caso à SMD (7%) (Figura 3).

Figura 3 - Frequência dos diagnósticos entre os pacientes com alterações cromossômicas detectadas de janeiro a julho de 2019.

LMA: Leucemia mielóide aguda; LMC: Leucemia mielóide crônica; LLA: Leucemia linfóide aguda; SMD: Síndrome mielodisplásica.



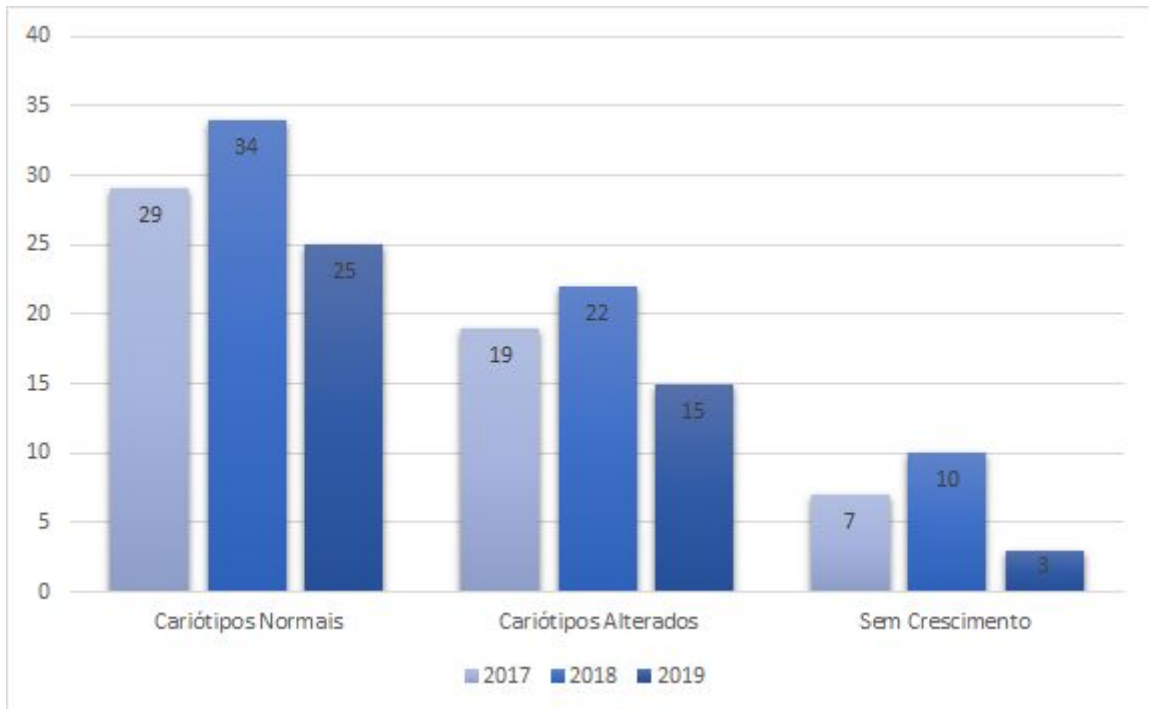
Fonte: Elaborado pela autora (2019).

Durante o período referente a janeiro de 2017 até julho de 2019, foram encaminhadas ao Laboratório de Genética do HU-UFSC um total de 164 amostras de sangue ou MO de pacientes com suspeita de neoplasias hematológicas, sendo 86 do sexo masculino e 78 do sexo feminino. A idade variou de 16 a 82 anos, com média de 47,8 anos.

Das 164 amostras, 88 (56,4%) apresentaram cariótipo normal, 56 (35,9%) apresentaram cariótipo alterado, 20 (7,7%) amostras não obtiveram resultado devido a ausência de crescimento celular (Figura 4).

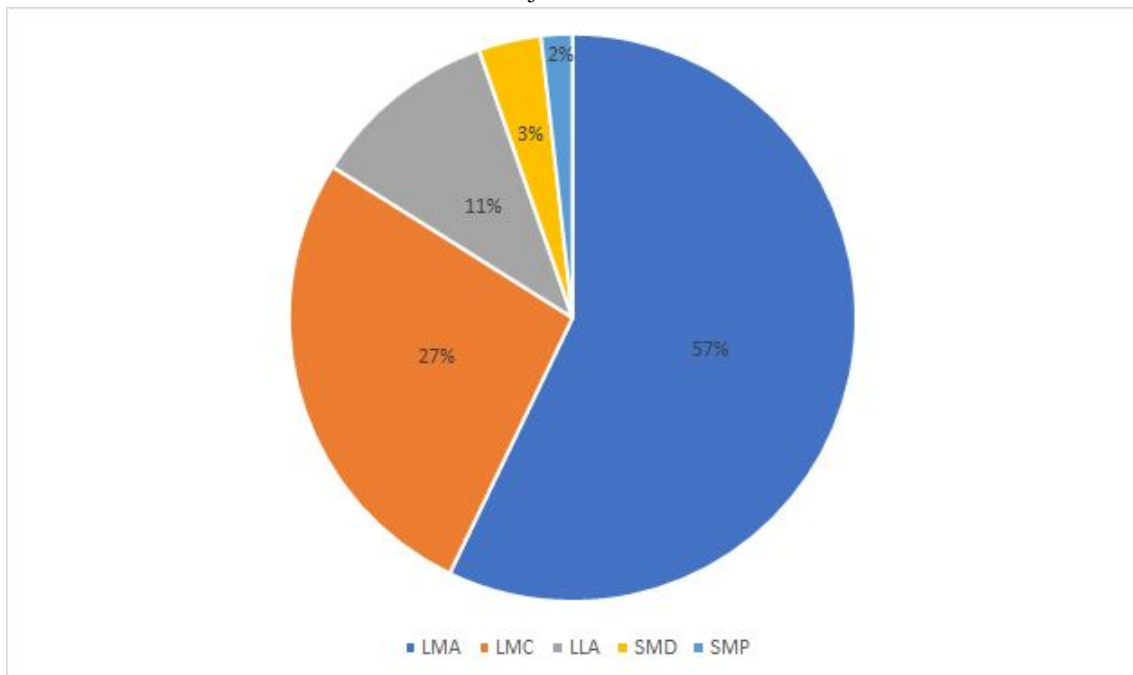
Dos 56 cariótipos alterados, 32 (57%) foram relacionados à LMA, 15 (27%) à LMC, 6 (11%) casos à LLA, 2 (3%) casos à SMD e um (2%) caso à SMP (Figura 5).

Figura 4 - Frequência de amostras com cariótipos normais, alterados e sem crescimento em 2017, 2018, e janeiro a julho de 2019.



Fonte: Elaborado pela autora (2019).

Figura 5 - Frequência dos diagnósticos entre os pacientes com alterações cromossômicas detectadas de 2017 a julho de 2019.



Fonte: Elaborado pela autora (2019)

## 6 DISCUÇÃO

A alteração cromossômica mais frequente encontrada nos casos diagnosticados com LMA foi a inversão do cromossomo 16 [inv(16)], presente em 8 (32%) casos, 5 deles como única alteração cromossômica e em 3 casos, além da inv(16), foram identificadas outras alterações cromossômicas adicionais. Esses achados corroboram com a literatura, que afirma que a inv(16) é uma das principais alterações cromossômicas identificadas em casos de LMA juntamente com a t(8;21) e t(15;17) que estão classificadas na OMS (CHAUFFAILLE *et al.*, 2011).

A segunda alteração mais encontrada nos casos diagnosticados com LMA foi a translocação entre os cromossomos 8 e 21 [t(8;21)] observada em 5 casos (5/25=20%), 3 deles como única alteração e em 2 casos associada a outras alterações cromossômicas adicionais, a t(8;21) é detectada em 5 a 12% dos casos de LMA. (CHAUFFAILLE *et al.*, 2011). A translocação dos cromossomos 9 e 22 [t(9;22)] foi encontrada em 3 casos (3/25=12%) diagnosticados com LMA, sendo que um caso apresentou somente a t(9;22) e dois apresentaram outras alterações cromossômicas adicionais, que se encaixa na classificação

desfavorável, juntamente com t(6;9), deleção dos cromossomos 5 e 7, inv(3) e cariótipos com uma complexibilidade maior (VELLOSO *et al.*, 2011) Os 7 casos de LMA com suspeita de LPA apresentaram a translocação dos cromossomos 15 e 17 [t(15;17)], confirmando a hipótese diagnóstica, uma vez que a t(15;17) está consistentemente associada a LPA, e representa cerca de 10 a 15% de todas as LMA's, e é identificada por sua anormalidade cromossômica específica a t(15;17) (UNDURRAGA *et al.*, 2013).

As alterações t(8;21), t(15;17), inv(16), identificadas nos casos de LMA, estão caracterizadas como alterações balanceadas e são correlacionadas a um prognóstico favorável (CHAUFFAILLE *et al.* 2011; GRIMWADE *et al.*, 1998). Enquanto que o cariótipo 46,XY/46,XY,add(3)(p26)/46,XY,inv(17)(p11.2q21)/46,XY,add(3)(p26),inv(17)(p11.2q21)/46,XY, composto por quatro linhagens celulares, apresentou alteração no cromossomo 3, o que pode estar relacionado a um prognóstico desfavorável em LMA (CHAUFFAILLE *et al.* 2011; GRIMWADE *et al.*, 1998).

A alteração cromossômica mais frequente nos casos de LMC foi a translocação entre os cromossomos 9 e 22 [t(9;22)], presente em 14 casos (14/15=93,3%), 11 deles como única alteração cromossômica e em 3 casos associada a outras alterações cromossômicas adicionais. Cerca de 90-95% de pacientes com LMC apresentam a t(9;22), que tem como resultado o cromossomo Ph (CHAUFFAILLE. 2011; NUSSBAUM *et al.* 2002; ROWLEY, 1973). A presença do cromossomo Ph está relacionada a um prognóstico favorável e sobrevida maior a seus portadores, diferentemente dos casos encontrados sem a presença do cromossomo Ph, que revelam um prognóstico desfavorável a LMC (AURICH *et al.* 1997; ROWLEY. 1988; WYNGAARDEN; SMITH. 1990).

Na LLA a alteração mais frequente foi a translocação dos cromossomos 9 e 22 [t(9;22)] com 2 casos, seguida de mais 4 casos com diferentes alterações, como hiperploídia, translocação envolvendo os cromossomos 6 e 19 entre outras alterações. Segundo estudos a t(9;22) que resulta no cromossomo Ph que é um marcador bem definido de LMC, pode ser encontrado também em casos de LLA e corresponde a aproximadamente 20% dos casos em adultos e 50% dos casos em pacientes com idade superior a 50 anos, indicando neste caso um prognóstico ruim (KEEN-KIM *et al.* 2008; PUI *et al.* 2004; PUI; EVANS. 2006; SETTIN. 2007; ZEN *et al.* 2011). A hiperploídia com mais de 50 cromossomos nos casos de LLA é a anomalia mais comum em inúmeros estudos e corresponde a aproximadamente 10% em

adultos, possuindo um bom prognóstico (FETT- CONTE *et al.* 2000; NORDGREN *et al.* 1997; PASZEK-VIGIER, 1997; PUI *et al.* 2006; ZEN *et al.* 2011 ).

No caso de SMP foi encontrado a triplicação do segmento q21q32 do cromossomo 1 [trp(1)]. Em SMP é encontrada alterações cromossômicas em apenas 10 a 30% dos casos onde as mais comuns são as alterações +8, +9 e del(20q). Com o avançar da doença a porcentagem de anormalidade indefinidas fica em torno de 80%, desta forma as alteração encontrada na pesquisa são diferente das encontradas em literaturas (CHAUFFAILLE *et al.*, 2011; SWERDLOW *et al.*; 2008). No caso de SMD foi encontrada uma deleção parcial do braço longo do cromossomo 5 [del(5q22q35?)], onde segundo a literatura cariótipos normais, -Y, del(20q) e del(5q) são consideradas prognósticos favoráveis de baixo risco, e os prognósticos descritos como desfavoráveis ou de alto risco possuem alterações do cromossomo 7 e cariótipos mais complexos (CHAUFFAILLE *et al.*, 2011; SWERDLOW *et al.*; 2008).

Durante 2017 a julho de 2019 seis pacientes que apresentaram alterações cromossômicas realizaram novos cariótipos com o objetivo de acompanhar a evolução do tratamento ao qual os mesmos foram submetidos. O exame do paciente VS realizado em 2017 apresentou o resultado 47,XY,inv(16),+22/46,XY,inv(16) (amostra 6), sendo identificadas duas linhagens celulares e em ambas a presença da inv(16), caracterizando um caso de LMA. Conforme a literatura, a inv(16) possui um prognóstico favorável, apresentando ou não alterações secundárias (CHAUFFAILLE *et al.*, 2011; GRIMWADE *et al.*, 1998). O paciente retornou em 2018 onde o novo cariótipo revelou apenas uma linhagem celular 46,XY,inv(16)(p13q22) (amostra 27) possuindo o mesmo prognóstico favorável, e não possuindo um retorno até a data em que os dados foram colhidos em 2019.

Em 2017 o paciente OS apresentou alterações no seu exame e teve como resultado o cariótipo 46,XY,inv(16)(p13q22) (amostra 9) correspondendo ao diagnóstico de LMA. Em 2018, após tratamento, foi realizado novo cariótipo, sendo constatada em todas as células analisadas a inv(16)(p13q22) (amostra 30). Apesar da inversão do cromossomo 16 estar relacionada a um prognóstico favorável, essa alteração também está associada a uma probabilidade maior de recidiva (CHAUFFAILLE *et al.*, 2011; GRIMWADE *et al.*, 1998), o que pode explicar o resultado do segundo cariótipo. Até a data de levantamento dos dados, julho de 2019, o paciente não retornou para novo exame citogenético.

No ano de 2018, o cariótipo do paciente MS foi 46,XY,t(9;22)(q34;q11) (amostra 37), sendo o mesmo diagnosticado com LMC. Em 2019, MS realizou novo cariótipo onde foram identificadas duas linhagens celulares 46,XY,t(9;22)(q34;q11.2)/46,XY (amostra 45), uma com a alteração detectada anteriormente e a outra linhagem normal, caracterizando um prognóstico favorável e uma resposta positiva ao tratamento (AURICH *et al.* 1997; ROWLEY. 1988; WYNGAARDEN; SMITH. 1990). Em 2018, o paciente VA apresentou cariótipo 46,XY,t(9;22)(q34;q11) (amostra 40), sendo diagnosticado com LMC. No ano de 2019, um novo exame apresentou as seguintes linhagens cromossômicas 49,XY,t(9;22)(q34;q11)del(11)(q23),i(17)(q10),+8or+Ph/46,XY,t(9;22),i(17)(q10)/46,XY (amostra 48 ). A presença da trissomia do 8, do isocromossomo 17 e a aquisição de um segundo cromossomo Ph caracterizam a evolução da LMA para uma fase acelerada, onde a evolução clonal se dá pela progressão da doença (CHAUFFAILLE *et al.*, 2011; HEIM, MITELMAN. 1995).

O paciente FC realizou cariótipo no ano de 2018, apresentando resultado 45,X,-Y,t(8;21)(q22;q22),del(7q) com outras anormalidades não clonais (amostra 26), relacionado à LMA e a um prognóstico desfavorável devido a deleção do braço longo do cromossomo 7 (CHAUFFAILLE *et al.* 2011;GRIMWADE *et al.*, 1998), enquanto a nulissomia do cromossomo Y está relacionada a malignidade da doença categorizado com risco intermediário (BHOTHMAN *et al.* 1989; CHAUFFAILLE *et al.* 2011; PERKINS *et al.* 1997; TAJARA *et al.* 1992). Em 2019, o paciente FC realizou novo exame que mostrou resultado 45,X,-Y,t(8;22)(q22,q22),del(9q) (amostra 55), constatando-se com o auxílio da análise cariotípica e informações médicas fornecidas na requisição médica uma não resposta ao tratamento.

Entre os anos de 2017 e 2018 tivemos um aumento de 20% em relação a quantidades de amostras recebidas para realização de cariótipo no Laboratório de Genética do HU. Parte desse crescimento se deve a importância cada vez mais consolidada da análise citogenética no diagnóstico e prognóstico de pacientes com neoplasias hematológicas, bem como do aumento do número de pacientes sob terapia oncológica (FETT- CONTE *et al.* 2000). Inclusive, esse último pode ser um dos fatores para a diminuição de 3,2% de cariótipos alterados de 2017 para 2018.

Em relação aos cariótipos alterados em 2017 obtivemos 3 resultados que apareceram com maior frequência, que foram, LMA com 14 casos, LMC com 4 casos e SMP com 1 caso,

no ano de 2018, foram obtidas 5 casos de LLA, e um caso de SMD, sendo então dois resultado de cariótipo alterado diferentes em comparação aos encontrados em 2017. Quanto às outras alterações também encontradas, em 2018, está LMA com 11 casos e LMC com 5 casos. Comparando os resultados encontrados em ambos os anos é possível afirmar que LMA teve uma diminuição de 21,4% do ano de 2017 para o ano de 2018 e LMC obteve um aumento de 25% do ano de 2017 para o ano de 2018.

## **7 CONSIDERAÇÕES FINAIS**

O presente trabalho obteve informações similares a estudos já realizados e também utilizados para a elaboração desta pesquisa, sendo assim, a importância da análise citogenética clássica para a atualidade foi evidenciada no atual trabalho, favorecendo a obtenção de diagnósticos e prognósticos sobre neoplasias hematológicas, tornando-os mais precisos e adequados para cada doença neoplásica.

Dentre as importâncias deste estudo pode-se evidenciar que o mesmo apresentou dados mais recentes sobre a pesquisa de citogenética clássica em neoplasias hematológicas, demonstrando assim sua relevância para a atualidade.



Ainda que evidenciada a grande importância da citogenética clássica para a observação e diagnóstico de alterações cromossômicas, pode-se ressaltar que a utilização desse método juntamente com a técnica de citogenética molecular FISH, sigla em inglês para *Fluorescent in situ hybridization*, é capaz de ampliar e aprimorar a detecção dessas alterações, desta forma levando a um prognóstico mais preciso.

Em relação às alterações apresentadas nesta pesquisa, a maior parte já encontra-se descrita em demais estudos publicados, inclusive as alterações mais complexas citadas aqui se enquadram em prognósticos já existentes e abordados em outros estudos.

A pesquisa correlacionou os resultados dos cariótipos alterados de pacientes com neoplasias hematológicas com os prognósticos já descritos, classificando-os como favoráveis ou desfavoráveis, e se obter conclusões mais precisas sobre as doenças.

Deste modo, futuras pesquisas em citogenética clássica deverão contribuir para uma ampliação do conhecimento e descoberta de novos prognósticos para doenças neoplásicas.

## REFERÊNCIAS

ALBERTS, B.; *et al.* **Biologia Molecular da célula**. 3<sup>a</sup> ed. Porto Alegre; Artmed; 1997.

AURICH J. *et al.* Location of the BCR-ABL fusion gene on the 9q34 band in two cases of ph-positive chronic myeloid. **Genes, Chromosomes & Cancer**. 1997; 20:148 - 154.

BACHER, U. *et al.* T. Molecular diagnostics in acute leukemias. **Clin Chem Lab Med**. v.47(11), p.1333-41, 2009.

BATISTA JL, *et al.* Epidemiology of Hematologic Malignances. In: M. Loda *et al.* (eds.). **Pathology and Epidemiology of Cancer**. Springer; 2016. p. 543-569. doi: 10.1007/978-3-319-35153-7\_29.

BERGANTINIL, A.P.F. *et al.* Leucemia mielóide crônica e o sistema Fas-FasL. **Rev. Bras Hematol Hemoter**. 2005; 27(2):120-5.

BHOTHMAN A.R. *et al.* Cytogenetic analysis of four primary prostatic culture. **Cancer, Genet. Cytogenet.**, 1989; 37: 241-248.

CARAKUSHANSKY G. **Doenças genéticas em pediatria**. Rio de Janeiro. Guanabara Koogan; 2001

CHAUFFAILLE, M.L.L.F. Diagnóstico Citogenético da Leucemia Mieloide Aguda. In: MALUF, S.W. *et al.* **Citogenética Humana**. Porto Alegre: Artmed, 2011.

DONNELL, M. R. O. *et al.* **Acute Myeloid Clinical Practice Guidelines in Oncology**. v. 15, n. 7, p. 926–957, 2017.

Estimativa 2018: incidência de câncer no Brasil / Instituto Nacional de Câncer José Alencar Gomes da Silva. **Coordenação de Prevenção e Vigilância**. – Rio de Janeiro: INCA, 2017.

FERLAY, J. *et al.* Cancer incidence and mortality worldwide: Sources, methods and major patterns in GLOBOCAN 2012. **International Journal of Cancer**. v. 136, n. 5, p. E359–E386, 2015.

FETT-CONTE *et al.* Estudo cromossômico no sangue periférico de pacientes com diferentes tipos de leucemia do Hospital de Base, São José do Rio Preto – SP. **Rev.bras.hematol.hemoter**. 22(3): 374-386, 2000.

GRIFFITHS, A. J. F. *et al.* **Introdução à Genética**. 8a edição. Editora Guanabara Koogan S.A. Rio de Janeiro – RJ. 2006. 743p.

GRIMWADE D. *et al.* **The importance of diagnostic cytogenetics on outcome in AML: analysis of 1612 patients entered into the MRC AML10 trial**. *Blood*. 1998; 92:2322-33.

GUS R. Técnicas de cultura de tecidos para análise citogenética. In: MALUF. S.W. *et al.* **Citogenética Humana**. Porto Alegre: Artmed, 2011.

HEIM S., MITELMAN F. **Cancer cytogenetics**, 2nd ed. New York: Wiley-Liss; 1995.

JORDE, L. B.; CAREY, J. C.; BAMSHAD, M. J. **Genética médica**. Tradução de Pedro Guimarães de Barros *et. al.*: 4º ed.:350 p.; Rio de Janeiro: Elsevier, 2010.

KEEN-KIM D. *et al.* **Cytogenetic biomarkers for human cancer**. *Front Biosci*. 2008 May 1; 13: 5928-49.

Look T. Oncogenic transcript factors in the human acute leukemias. **Science** 1997; 278: 1059-64.

MARTINEZ-SERRA, J. *et al.* **Chronic myeloid leukemia with an e1a3 BCR-ABL fusion protein: transformation to lymphoid blast crisis**. *Biomarker Research*. v. 2, n. 1, p. 14, 2014.

MELARAGNO M.I.S.A.; RIEGEL M. Citogenética molecular. In: MALUF. S.W. *et al.* **Citogenética Humana**. Porto Alegre: Artmed, 2011.

MERGENER, R.; LUDWIG, L.B.; MALUF, S.W. Alterações cromossômicas estruturais. In: MALUF. S.W. *et al.* **Citogenética Humana**. Porto Alegre: Artmed, 2011.

MONTENEGRO, V. S.; SANTOS, V. M. V. O.; VEITCH, M. Análise Citogenética na Leucemia Mielóide Crônica. **Revista da Faculdade de Ciências Médicas de Sorocaba**, São Paulo, v. 10, p.5-12, 2008.

MORTES POR CANCER AUMENTAM 31% NO BRASIL NOS ÚLTIMOS 15 ANOS, INCA, **Instituto nacional de câncer**, disponível em: <[http://www2.inca.gov.br/wps/wcm/connect/agencianoticias/site/home/noticias/2017/mortes\\_por\\_cancer\\_aumentaram\\_31\\_no\\_brasil\\_em\\_15\\_anos\\_diz\\_oms](http://www2.inca.gov.br/wps/wcm/connect/agencianoticias/site/home/noticias/2017/mortes_por_cancer_aumentaram_31_no_brasil_em_15_anos_diz_oms)>

MRÓZEK K *et al.*, **Clinical significance of cytogenetics in acute myeloid leukemia**. Sem. Oncol., 1997; 24 (1):17-31

NORDGREN A. *et al.* A case of acute lymphoblastic leukemia, near-triploidy, and poor outcome: Characterization by fluorescence in situ hybridization using chromosome-specific libraries from all human chromosomes. **Cancer, Genet. Cytogenet.** 1997; 99 (2): 93-96.

NÚMERO DE ÓBITOS NO BRASIL NO ANO DE 2017, SUS, **Sistema nacional de saúde**, disponível em: <<http://tabnet.datasus.gov.br/cgi/tabcgi.exe?sim/cnv/obt10uf.def>>

NÚMERO DE ÓBITOS EM SANTA CATARINA NO ANO DE 2016, SUS, **Sistema nacional de saúde**, disponível em: <<http://tabnet.datasus.gov.br/cgi/tabcgi.exe?sim/cnv/obt10sc.def>>

NUSSBAUM, R.L.; MCINNES, R.R.; WILLARD, H.F.; THOMPSON & THOMPSON: **Genética Médica**. 6a ed., Rio de Janeiro, Guanabara Koogan, 2002.

PASKULIN G.A. *et al.* Pre-clinical evaluation of probes to detect t(8;21) AML minimal residual disease by fluorescence in situ hybridization. **Genes, Chromosome & Cancer**, 1998; 21 (2):70-85

PERKINS D. *et al.* Regional cancer cytogenetics: A report on 1.143 diagnostic cases. **Cancer, Genet. Cytogenet.** 1997; 96: 64-80

PRADA-ARISMENDY, Jeanette et al. Molecular biomarkers in acute myeloid leukemia. **Blood Reviews**, [s.l.], v. 31, n. 1, p.63-76, jan. 2017. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.blre.2016.08.005>.

PUI C.H. *et al.* Acute lymphoblastic leukemia. **N Engl. J. Med.** 2004 Apr 8; 350(15): 1535-48.

PUI C.H.; EVANS W. E. Treatment of acute lymphoblastic leukemia. **N Engl. J. Med.** 2006 Jan 12; 354(2): 166-78.

RODRIGUEZ-ABREU, D; A BORDONI; ZUCCA, e. Epidemiology of hematological malignancies. **Annals Of Oncology**, [s.l.], v. 18, n. 1, p.3-8, 1 fev. 2007. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1093/annonc/mdl443>.

ROWLEY J. D. Chromosome abnormalities in leukemia. **J. Clin. Oncol.** 1988; 6: 194-202.

ROWLEY J. D. A new consistent chromosomal abnormality in chronic myelogenous leukemia identified by quinacrine fluorescence and giemsa staining. **Nature.** 1973; 243: 290-293

SAGRILLO M.R. *et al.* Leucemia promielocítica aguda: Caracterização de alterações cromossômicas por citogenética tradicional e molecular (FISH). **Rev. bras. hemato. hemoter.** 27(2): 94-101, 2005

SEEBACH C., *et al.* Estudio citogenético de leucemias. **Bol. Hosp. Vinã de Mar**; 1992; 48 (3-4); 188- 194.

SETTIN *et al.* Prognostic cytogenetic markers in childhood acute lymphoblastic leukemia. **Indian J. Pediatr.** 2007 Mar; 74(3): 255-63.

SWERDLOW, S. H. *et al.* VARDIMAN, J. W. **WHO Classification of Tumours of Haematopoietic and Lymphoid Tissues.** 4. Geneva: WHO Press, 2008.

SWERDLOW, S. H. *et al.* The 2016 revision of the World Health Organization classification of lymphoid neoplasms. **Blood**, [s.l.], v. 127, n. 20, p.2375-2390, 19 maio 2016. American Society of Hematology. <http://dx.doi.org/10.1182/blood-2016-01-643569>.

TAJARA H.E. *et al.* Anomalias cromossômicas em tumores sólidos; aspectos biológicos e aplicações de diagnósticos. **Rev. Bras. Patol. Clin.**, 1992; 28 (1).

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

UNDURRAGA, María Soledad *et al.* Leucemia promielocítica aguda: Resultados del protocolo terapéutico LPA2000, Programa Nacional de Cáncer del Adulto (PANDA), Ministerio de Salud, Chile. **Revista Médica de Chile**, [s.l.], v. 141, n. 10, p.1231-1239, out. 2013. SciELO Comision Nacional de Investigacion Cientifica Y Tecnologica (CONICYT). <http://dx.doi.org/10.4067/s0034-98872013001000001>.

VELLOSO, Elvira Deolinda Rodrigues Pereira *et al.* Molecular and cytogenetic abnormalities in acute myeloid leukemia: review and case studies. **Einstein (São Paulo)**, [s.l.], v. 9, n. 2, p.184-189, jun. 2011. FapUNIFESP (SciELO). <http://dx.doi.org/10.1590/s1679-45082011ao2041>.

VOGEL F., MOTULSKY B.E. **Human Genetics Problems and approaches**. Ed Springer. 1997

WEINBERG, R. A. **A biologia do câncer**. Tradução de Bruna Selbach:864 p.; Porto Alegre: Artmed: 2008.

WYNGAARDEN J. B.; SMITH Jr. L. H. **Cecil: Tratado de medicina interna**. 18 ed. Rio de Janeiro: Guanabara. 1990; 1: 585-886.

## ANEXO A – Parecer do comitê de ética

UNIVERSIDADE FEDERAL DE  
SANTA CATARINA - UFSC



### PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

#### DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

**Título da Pesquisa:** Investigação de alterações citogenéticas e moleculares em pacientes com suspeita de doença genética e neoplasias hematológicas no Hospital Universitário da Universidade Federal de Santa Catarina

**Pesquisador:** Sharbel Weidner Maluf

**Área Temática:** Genética Humana:

(Trata-se de pesquisa envolvendo Genética Humana que não necessita de análise ética por parte da CONEP.);

**Versão:** 3

**CAAE:** 53880516.8.0000.0121

**Instituição Proponente:** UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA

**Patrocinador Principal:** Universidade Federal de Santa Catarina

#### DADOS DO PARECER

**Número do Parecer:** 1.694.063

#### Apresentação do Projeto:

A proposta coordenada pelo Prof Dr. Sharbel Weidner Maluf, envolve a participação de dois graduandos, dois mestrandos e uma doutorando.

No Brasil, os serviços de genética médica concentram-se principalmente nas universidades. Em Santa Catarina, ainda não existe um serviço de genética, apenas pequenos laboratórios, sendo que a maioria dos diagnósticos genéticos é realizada em outros estados, pelo envio do material coletado.

No Hospital Universitário da Universidade Federal de Santa Catarina, o Laboratório de Citogenética vem fazendo o exame de cariótipo de forma bastante artesanal e apenas em sangue periférico. O Ministério da Saúde publicou em abril de 2013 a consulta pública do documento que estabelece diretrizes para a atenção integral e acolhimento às pessoas com doenças raras na rede pública.

Estima-se que existam entre seis mil e oito mil dessas doenças raras, sendo que 80% têm causa genética.

No SUS, o atendimento dos pacientes deverá ser organizado em serviços de atenção especializada e centros de referências, que serão componentes da Política de Atenção às Pessoas com Doenças

**Endereço:** Universidade Federal de Santa Catarina, Prédio Reitoria II, R: Desembargador Vitor Lima, nº 222, sala 401  
**Bairro:** Trindade **CEP:** 88.040-400  
**UF:** SC **Município:** FLORIANOPOLIS  
**Telefone:** (48)3721-6094 **E-mail:** cep.propesq@contato.ufsc.br

Continuação do Parecer: 1.694.063

Raras, que deverá promover ações preventivas, de diagnóstico e assistência completa (Portal do SUS, 2013).

Dentre os casos de câncer diagnosticados, as leucemias e os linfomas encontram-se entre os dez tipos mais frequentes. A investigação genética constitui parte importante do diagnóstico diferencial do câncer. O Ministério da Saúde por meio da Portaria nº 2.048, de setembro de 2009, define, para o país, um abrangente controle do câncer, com ações voltadas à assistência de alta complexidade, integradas em redes de atenção oncológica, com o objetivo de reduzir a incidência e a mortalidade por câncer (INCA, 2009). Santa Catarina carece de registro dos tipos e frequências de alterações genéticas, tanto para pacientes com neoplasias hematológicas, quanto para pacientes com doenças genéticas.

Numero esperado de participantes: 300

Período - de agosto de 2016 a maio de 2018.

#### Objetivo da Pesquisa:

O objetivo geral deste projeto é investigar os tipos e as frequências das alterações genéticas encontradas em pacientes atendidos no Hospital Universitário da Universidade Federal de Santa Catarina, com suspeita de doença genética, leucemia ou linfoma, incluindo o diagnóstico pré-natal.

#### Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Foram alterados de acordo com as solicitações realizadas nos pareceres 1.473.970 e 1.629.013:

#### Riscos:

Coleta de sangue periférico será realizada uma coleta de 5 ml de sangue periférico, quantidade suficiente para a aplicação das técnicas que serão utilizadas neste trabalho. Para a realização deste estudo observaremos todos os métodos de biossegurança para que não ocorram acidentes biológicos.

A coleta pode gerar algum desconforto na área da punção. Coleta de Medula Óssea A aspiração da medula será realizada em consultório ou leito hospitalar (sob sedação ou anestesia). Para a punção da crista ilíaca (osso da bacia situado abaixo da cintura), o paciente fica em decúbito lateral e a área a ser puncionada é limpa com solução antisséptica e anestesiada com anestésico local. A

Endereço: Universidade Federal de Santa Catarina, Prédio Reitoria II, R: Desembargador Vitor Lima, nº 222, sala 401  
Bairro: Trindade CEP: 88.040-400  
UF: SC Município: FLORIANOPOLIS  
Telefone: (48)3721-6094 E-mail: cep.propesq@contato.ufsc.br



Continuação do Parecer: 1.094.063

agulha de aspiração é inserida, através da pele, na cavidade medular removendo a parte líquida da medula óssea. Após o procedimento, o paciente fica deitado de costas e monitorado durante 5-10 minutos.

**Riscos:** Embora incomuns, podem ocorrer sangramento e infecção no local da punção. **Alternativas:** não há alternativas senão a não realização do exame. Não realizar a aspiração da medula óssea pode impossibilitar o diagnóstico de uma doença subjacente, com potencial progressão e piora da condição médica. O paciente, após o exame, é avaliado para saber se há necessidade ou não de repouso imediato com gelo no local. Caso não seja necessário, como a anestesia é local, o paciente é liberado para casa.

**Coleta de líquido amniótico** A amniocentese transabdominal é uma técnica usual e largamente empregada com riscos considerados extremamente pequenos de acordo com as citações da literatura pertinente. Dentre eles, destacam-se punção placentária, punção fetal, punção do cordão, rotura da bolsa d'água, desencadeamento do parto e/ou aborto, infecções, enjôos, hemorragia materna e fracasso do procedimento. O risco materno é praticamente zero e o risco do procedimento provocar o abortamento é em torno de 1-2 para mil. Esse procedimento é guiado por ultrassonografia para que o médico possa identificar um local longe do feto e da placenta, mas rico em líquido amniótico. Cerca de 20-30 mL de líquido são aspirados e enviados para avaliação genética. A maternidade do HU-UFSC dispõe de uma equipe integrada multidisciplinar envolvida no acolhimento da gestante e familiares com diagnóstico intrauterino de malformações composta por psicólogos, assistentes sociais, enfermeiras, médicos obstetras e geneticista. Além do diagnóstico, é oferecido acompanhamento por esses profissionais a fim de minimizar os efeitos psicossociais do processo, orientação psicológica, jurídica (em casos de interrupção da gestação por incompatibilidade com a vida), tratamento intrauterino quando disponível e aconselhamento genético para futuras gestações.

**Benefícios:**

A realização deste estudo permitirá melhorar o atendimento dos pacientes na realização de exames para o diagnóstico molecular das doenças.

**Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:**

Considerando a PORTARIA Nº 981, DE 21 DE MAIO DE 2014, este projeto pretende iniciar a

Endereço: Universidade Federal de Santa Catarina, Prédio Reitoria II, R: Desembargador Vitor Lima, nº 222, sala 401  
Bairro: Trindade CEP: 88.040-400  
UF: SC Município: FLORIANOPOLIS  
Telefone: (48)3721-6094 E-mail: cep.propesq@contato.ufsc.br

Continuação do Parecer: 1.694.063

implantação

do atendimento diagnóstico genético de doenças raras investigando a demanda existente, e deve considerar os termos da portaria na intensão de estabelecer o serviço no HU. A proposta possui relevância acadêmica e no âmbito do SUS devendo estar atentos a legislação vigente e as diversas modificações propostas, denotando que a política vai organizar os serviços de genética clínica, já que hoje os atendimentos são dispersos nos estados e no Distrito Federal. Alguns serviços fazem apenas exames laboratoriais, outros somente o atendimento e outros o acompanhamento. Com a portaria, os serviços oferecidos por equipe multidisciplinar (médico, geneticista enfermeiros, assistente social, biólogos) passam a fazer o atendimento integral. Isso significa que o serviço deverá promover o tratamento e a recuperação dos pacientes com doenças genéticas, além de fazer os exames clínicos e laboratoriais.

**Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:**

O(a) pesquisador(a) apresenta três TCLE:

Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (líquido amniótico):

Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (medula óssea):

Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (sangue periférico):

Riscos e Benefícios foram alterados no PB;

Declaração de Anuência do HU apresentada;

Carta de Anuência da FAPESC como financiadora da pesquisa apresentada;

Folha de Rosto assinada pela Coordenadora do Programa de Pós-graduação em Farmácia;

**Recomendações:**

Mantiver-se atento aos preceitos éticos preconizados pela Resolução 466/12 e suas complementares. Encaminhar os relatórios recomendados e em caso de qualquer alteração no projeto encaminhá-los para análise deste comitê antes de sua execução.

**Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:**

Declaramos a aprovação da presente proposta de pesquisa diante dos documentos neste momento apresentados, solicitando que todos os direitos dos participantes sejam resguardados durante todo o processo de coleta de dados e após este de acordo com a legislação vigente.

**Considerações Finais a critério do CEP:**

**Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:**

Endereço: Universidade Federal de Santa Catarina, Prédio Reitoria II, R: Desembargador Vitor Lima, nº 222, sala 401  
Bairro: Trindade CEP: 88.040-400  
UF: SC Município: FLORIANOPOLIS  
Telefone: (48)3721-6094 E-mail: cep.propesq@contato.ufsc.br

Continuação do Parecer: 1.894.063

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_PROJETO_669619.pdf	26/07/2016 09:32:52		Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	Projeto_de_Pesquisa.doc	26/07/2016 09:31:04	Sharbel Weidner Maluf	Aceito
Outros	Carta_Resposta.doc	26/07/2016 09:30:03	Sharbel Weidner Maluf	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLE_PPSUS_2016_sangue.docx	26/07/2016 09:18:51	Sharbel Weidner Maluf	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLE_PPSUS_2016_medula.docx	26/07/2016 09:18:39	Sharbel Weidner Maluf	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLE_PPSUS_2016_liquido_amniotico.docx	26/07/2016 09:18:21	Sharbel Weidner Maluf	Aceito
Declaração de Instituição e Infraestrutura	Anuencia_HU.pdf	06/06/2016 16:17:31	Sharbel Weidner Maluf	Aceito
Folha de Rosto	Folha_de_Rosto_Proj_HU.pdf	06/06/2016 16:12:15	Sharbel Weidner Maluf	Aceito
Declaração de Instituição e Infraestrutura	Carta_da_Instituicao.pdf	26/02/2016 15:44:29	Sharbel Weidner Maluf	Aceito

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

FLORIANOPOLIS, 24 de Agosto de 2016

Assinado por:  
Washington Portela de Souza  
(Coordenador)

Endereço: Universidade Federal de Santa Catarina, Prédio Reitoria II, R: Desembargador Vitor Lima, nº 222, sala 401  
Bairro: Trindade CEP: 88.040-400  
UF: SC Município: FLORIANOPOLIS  
Telefone: (48)3721-6094 E-mail: cep.propesq@contato.ufsc.br