



UNIVERSIDADE FEDERAL DE ALAGOAS
FACULDADE DE MEDICINA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS MÉDICAS

GABRIELA MARIA DE ANDRADE CORREIA

INVESTIGAÇÃO DE MARCADORES DO CROMOSSOMO Y EM CASOS DE
SÍNDROME DE TURNER E DISGENESIA GONADAL 46,XX ATENDIDOS NO
SISTEMA ÚNICO DE SAÚDE DE ALAGOAS

Maceió

2024

Gabriela Maria de Andrade Correia

**INVESTIGAÇÃO DE MARCADORES DO CROMOSSOMO Y EM CASOS DE
SÍNDROME DE TURNER E DISGENESIA GONADAL 46,XX ATENDIDOS NO
SISTEMA ÚNICO DE SAÚDE DE ALAGOAS**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Ciências Médicas da Universidade Federal de Alagoas - UFAL, como parte dos requisitos exigidos para a obtenção do título de Mestre em Ciências Médicas.

Área de Concentração: Estudos clínicos e laboratoriais em ciências médicas

Orientador: Prof. Dr. Reginaldo José Petrolí.

Coorientador: Profa. Dra. Débora de Paula Michelatto.

Maceió

Catálogo na Fonte
Universidade Federal de Alagoas
Biblioteca Central
Divisão de Tratamento Técnico

Bibliotecário: Marcelino de Carvalho Freitas Neto – CRB-4 – 1767

C824i Correia, Gabriela Maria de Andrade.
 Investigação de marcadores do cromossomo Y em casos de Síndrome de Turner e Disgenesia Gonadal 46,XX atendidos no Sistema Único de Saúde de Alagoas / Gabriela Maria de Andrade Correia. – 2024.
 77 f. : il.

Orientador: Reginaldo José Petrolí.
Co-orientadora: Débora de Paula Michelatto.
Dissertação (Mestrado em Ciências Médicas) – Universidade Federal de Alagoas. Faculdade de Medicina. Programa de Pós-Graduação em Ciências Médicas. Maceió, 2024.

Bibliografia: f. 56-61.
Anexos: f. 62-77.

1. Sistema Único de Saúde (Brasil). 2. Desenvolvimento gonadal. 3. Síndrome de Turner. 4. Cromossomo Y. Disgenesia Gonadal 46,XX. I. Título.

CDU:614(813.5): 575.18

Folha de Aprovação

Gabriela Maria de Andrade Correia

INVESTIGAÇÃO DE MARCADORES DO CROMOSSOMO Y EM CASOS DE
SÍNDROME DE TURNER E DISGENESIA GONADAL 46,XX ATENDIDOS NO
SISTEMA ÚNICO DE SAÚDE DE ALAGOAS

Dissertação submetida ao exame de defesa em nível de mestrado do Programa de Pós-Graduação em Ciências Médicas da Universidade Federal de Alagoas em 26 de abril de 2024



Documento assinado digitalmente
REGINALDO JOSE PETROLI
Data: 06/05/2024 11:12:57-0300
Verifique em <https://validar.it.gov.br>

Orientador: Prof. Dr. Reginaldo José Petrolí

Universidade Federal de Alagoas
Faculdade de Medicina



Documento assinado digitalmente
DEBORA DE PAULA MICHELATTO
Data: 06/05/2024 12:16:11-0300
Verifique em <https://validar.it.gov.br>

Coorientadora: Profa. Dra. Débora de Paula Michelatto

Universidade Federal de Alagoas
Faculdade de Medicina

Banca Examinadora:



Documento assinado digitalmente
MANOEL ALVARO DE FREITAS LINS NETO
Data: 02/05/2024 09:40:26-0300
Verifique em <https://validar.it.gov.br>

Prof. Dr. Manoel Álvaro

Universidade Federal de Alagoas
Faculdade de Medicina
Examinador interno



Documento assinado digitalmente
ALESSANDRA PLACIDO LIMA LEITE
Data: 26/04/2024 20:11:59-0300
Verifique em <https://validar.it.gov.br>

Profa. Dra. Alessandra Plácido Lima Leite

Universidade Federal de Alagoas Faculdade de Medicina
Examinador externo

*Jose Roberto de Oliveira Ferreira
CPF: 008.853.564-09 Mat. 3753-2*

Prof. Dr. José Roberto Oliveira Ferreira

Universidade Estadual de Ciências da Saúde de Alagoas
Examinador externo

À todas as cientistas que precisaram provar duas vezes a sua capacidade de transformar o país através do conhecimento.

Sou uma força que você não consegue controlar, por isso me teme.

– G M Rhaekyrion.

AGRADECIMENTOS

Essa sempre foi uma tarefa difícil, agradecer. Começando pela ideia da necessidade de ser grato por quem o ajudou, porém, prejudicou seu psicológico de tal forma que a reflexão sobre a gratidão ser merecida traz a dúvida. À posteriori, a pressão de não se esquecer de todas as pessoas que realmente ajudaram e presenciaram essa conquista tão árdua e grandiosa na minha vida. Aprendi que todas as situações difíceis trazem ensinamentos necessários, essa é só mais uma.

Começo sendo grata a deusa, ao mundo espiritual que me manteve firme, mesmo quando a fé em mim se foi restando a incerteza e a dor de uma mente exaurida do ego inflado de terceiros e da injustiça para os inúmeros abusos morais recorrentes no meio acadêmico.

Primo, para a primeira mulher inspiradora da minha vida: Edilma Oliveira de Andrade. Quem me viu passar por sequências de injúrias físicas e mentais para encerrar essa etapa, aprendendo a ser melhor e a encerrar ciclos tóxicos com um profundo autoconhecimento, cuidado e reconstrução. Mãe, eu te amo!

Segundo, a mulher mais resiliente que conheço, cuja minha existência seria inenarravelmente inútil e infeliz sem ela, quem segurou minha mão, esteve comigo – profunda e inteiramente – em cada crise, cada choro, cada derrota e, obviamente, em todas as conquistas: Bárbara Rachel Ciríaco do Carmo. Meu sol e estrelas, você é a luz da minha vida, quem me ensina a ser eu, mesmo quando o mundo prefere me moldar. Amo-te. O encontro de nossas almas data gerações anteriores incontáveis. Sem a sua presença, o seu olhar carinhoso e atento aos sinais autodestrutivos com os quais teimo em me tratar, não estaria aqui hoje. Minha gratidão por ter você em minha vida, por acordar ao seu lado todas as manhãs, é impossível de descrever sem que haja perda de significado. Nosso idioma – e qualquer outro – é pobre para expressar o tipo de ligação que sinto por você e o quanto te admiro e sou grata.

Terceiro, ao homem da minha vida, meu irmão: João Gabriel de Andrade Correia. Você é meu maior torcedor, mesmo quando não creio em mim e distorço a realidade para o pior cenário possível. Obrigada por todos os conselhos, conversas, saídas, puxões de orelhas e diversões mil.

Sigo, para o último homem de minha vida, meu pai: João Alberto Correia da Silva Júnior, com quem entendo a importância de persistir nos meus sonhos, ignorando as críticas ruins e os comentários tolos – muitas vezes ditos dentro do próprio seio familiar. Amo você, pai! Obrigada por torcer sempre por mim.

Claro que as referências femininas que circulam minha família são fonte primordial de inspiração. Obrigada, tias! – Edeny, Rivana, Rejane, Luciana, Margarete, Jane, Alda! Vocês estão lá para comemorar, para torcer, para rir e dar conselhos os quais foram cruciais nesse período tão complexo.

Prima! (Milena Quaresma), você é inspiradora! Acho que nunca te disse o quanto te admiro e torço por sua vitória. Vê-la lutar por seus sonhos, conquistando exatamente aquilo que me dizia, nas noites de pijama na sua casa, me faz sorrir boba. Amo você muito! Obrigada por sempre torcer por mim!

Obrigada aos meus tios (Daniel Correia e Felipe Correia) pelos momentos de risada e pelo apoio ao longo dessa jornada. Obrigada a minha vó (Dione Correia), que sempre torce para que eu conquiste meus sonhos.

Seline! Obrigada pelo apoio, brincadeiras e torcida! E por ter paciência com meu pai e cuidá-lo por todos esses anos.

Família Ciríaco: Simone, Artur, Maria Clara e Victor! Obrigada pelos dias alegres, por tornarem esse processo mais suave e injetarem força quando pensei que iria desistir. Amo vocês!

Família Carmo: Rogério, Ana, Fabrício e Kaique. Obrigada pelas reuniões divertidas, pelo apoio e ideias para o futuro. Obrigada pelo apoio e momentos de alegria!

Lavinha!! Adoro nossas conversas! Você é a pessoa mais de boa que conheço e simplesmente vejo em sua jornada motivos para persistir. Vamos bater mais Happy Birthday para o rapaz mais calmo dessa vida – você bem sabe! – e cantar altas pérolas do brega e do forró antes de jogar adedonha. Obrigada por esses momentos suaves e por perturbar Gabriel junto comigo.

Meninas da genética! Sem vocês naquele laboratório a vida seria chata, sombria e com atividades paranormais as quais não saberia lidar – vocês sabem disso. Thays Francery, Mirele Santos, Yoná Cabral, Fernanda, Rayane, Rayssa, com vocês pude experimentar o que é uma equipe de laboratório, o significado das conversas soltas, da hora do cafezinho, dos horários unificados para a gente se ver, dos experimentos realizados só na presença de vocês; sim, eu sou supersticiosa.

Thays, minha flor, você foi um sopro de alegria nessa vida tão cheia de espinhos. Conhecer pessoas como você aquece a esperança. Obrigada por suas palavras gentis, por me ouvir falar dos meus mundos o tempo inteiro, por me fazer rir dos dias que queria chorar, por cuidar de mim quando nem eu mesma o fazia. Pelas diluições de gel conferidas dezenas de vezes, pelos cálculos loucos, pelas discussões sobre slide e por ser minha amiga. Obrigada!

Ao biomédico com o qual aprendi tudo que sei sobre a prática da bancada: Diogo. Sou grata por sua paciência, por tudo que me ensinou, por ser o apoio emocional e pelos conselhos de carreira que sempre me deu. Sou feliz demais por conhecer pessoas como você, um profissional incrível, uma pessoa gentil e atenciosa, que tornou os dias de trabalho puxado mais leves.

Thaysa! Minha biomédica preferida! Conhecer você nessa jornada foi a vida me mostrando que nem tudo está perdido. Canso de te falar o quanto sua história me inspira, o quanto você é uma referência para mim. Obrigada por sua gentileza, por sua paciência, pelo acolhimento em dias difíceis, por sua amizade, pelos dias de fofoca e por toda a energia positiva que derrama para todos com quem se importa. Obrigada de coração!

Professor, Reginaldo José Petrolí, conheci alguns orientadores nessa jornada acadêmica que me fizeram retrair por esse caminho. Sou muito grata por ter sido sua orientanda, por trabalhar ao seu lado e aprender com o senhor. Obrigada por ter paciência com as minhas ansiedades e nervosismo, por sempre passar essa energia calma, mesmo quando estava muito nervosa e segurar minha mão quando o desespero me tomou. Sou muito grata por tê-lo conhecido.

À professora Débora Michellato, que esteve presente nos ensinamentos de bancada, ensinando-me tudo que sei sobre hiperplasia e trabalho molecular. Obrigada pelos conselhos e conversas, pelas considerações no meu trabalho e por toda a experiência de laboratório que me proporcionou.

Quero agradecer aos meus amigos-irmãos Aleff Lima e Luciana Oliveira, vocês tornam a jornada nesse plano mais feliz. Obrigada por todo o apoio e todas as risadas, que transformam o dia a dia mais alegre.

Obrigada ao Clã Rhaekyrion! Daniela, Isabelle, Nathália e Manuela, existir sem criar mundos com vocês é chato demais! Obrigada pelas madrugadas de aventuras, regadas com dramas de primeira e cheias de reviravoltas surpreendentes. Obrigada pela amizade, pela paciência e por entenderem todos os bolos que acabei dando nas sessões!

Agradeço, também, aos profissionais do PPGCM, a todo o corpo responsável por esse programa. A experiência foi incrível e enriquecedora. Agradeço a FAPEAL e instituições de fomento, por proporcionar apoio financeiro para a promoção da pesquisa. Agradeço aos parceiros e colaboradores do meu trabalho. Por fim, aos profissionais e equipe do LGMH.

De certo, não lembrarei o nome de todos, mas sei que quem pode presenciar esses dois anos soube o quanto batalhei e fui grata por vocês.

A biologia ensinou-me a compreender os ciclos e a coexistência da vida. A genética me ensina, diariamente, a grandiosidade individual de cada ser. Sou grata por poder participar desse evento ajudando mulheres em suas jornadas.

RESUMO

Introdução: As Disgenesias Gonadais (DG) são classificadas como Desordens do Desenvolvimento do Sexo (DDS) e são caracterizadas pelo comprometimento do desenvolvimento das gônadas. As DG podem ser classificadas como Disgenesia Gonadal Completa (DGC), Mista (DGM) ou Parcial (DGP). A Síndrome de Turner (ST), também classificada com DG, é caracterizada por alterações no cromossomo X, é uma das síndromes mais prevalentes no sexo feminino. Pessoas com DG apresentam risco de 4-60% para desenvolvimento de tumores de linhagens germinativas, devido a anormalidades na organogênese das gônadas, que são agravadas pela presença de cromossomo Y em sua constituição cromossômica. **Objetivo:** Investigar a presença de marcadores de cromossomo Y em casos diagnosticados com ST e DG 46,XX atendidos no SUS de Alagoas. **Métodos:** Trata-se de um estudo transversal, observacional e descritivo, com amostra constituída por pessoas com diagnóstico clínico e citogenético de ST e DG 46,XX, independentemente da idade, atendidos no SUS de Alagoas entre maio de 2008 e maio de 2023. Para a descrição da amostra foram analisados prontuários com dados sociodemográficos, clínicos e citogenéticos. A investigação molecular dos marcadores do cromossomo Y foi realizada através da Reação em Cadeia da Polimerase (PCR) Convencional e *nested* PCR. Os resultados foram tabulados em planilha Excel para análise descritiva. **Resultados:** A partir de uma amostra de 233 casos de DDS atendidos no Serviço de Genética Clínica do Hospital Universitário Professor Alberto Antunes (SGC/HUPAA), 12 apresentaram DG 46,XX e 34 apresentaram ST. Dos 46 participantes da pesquisa, 60,87% são procedentes do interior de Alagoas, 32,61% da capital e 6,52% não apresentavam informação sobre procedência. A idade média na primeira consulta foi de 16 anos e 10 meses, e as principais características apresentadas foram amenorreia primária, baixa estatura e atraso no desenvolvimento de características sexuais secundárias; 73,91% dos casos foram diagnosticados clinicamente com ST, enquanto 26,09% foram diagnosticados com DG 46,XX. A presença de marcadores do cromossomo Y foi observada em 4,35% da amostra. **Discussão:** De acordo com a literatura, cerca de 12% dos indivíduos com ST e DG 46,XX podem apresentar sequências Y-específicas em sua constituição cromossômica, aumentando o risco do desenvolvimento de tumores gonadais em 4-60%. Nesses casos, a gonadectomia profilática é indicada. **Conclusão:** A PCR convencional e a PCR *nested* elucidaram de forma eficaz a presença de marcadores do cromossomo Y em 4,35% dos casos investigados. A descrição clínica, citogenética, molecular e sociodemográfica possibilitaram a caracterização dos casos de ST e DG 46,XX de Alagoas.

Palavras-chaves: *Desenvolvimento Gonadal; Síndrome de Turner; Cromossomo Y; Disgenesia Gonadal 46,XX.*

ABSTRACT

Introduction: Gonadal Dysgeneses (GD) are classified as Disorders of Sex Development (DSD) and are characterized by impaired development of the gonads. GD can be classified as Complete Gonadal Dysgenesis (CGD), Mixed Gonadal Dysgenesis (MGD), or Partial Gonadal Dysgenesis (PGD). Turner Syndrome (TS), also classified as GD, is characterized by alterations in the X chromosome and is one of the most prevalent syndromes in females. Individuals with GD have a 4-60% risk of developing germ cell tumors due to abnormalities in gonadal organogenesis, which are exacerbated by the presence of the Y chromosome in their chromosomal constitution. **Objective:** To investigate the presence of Y chromosome markers in cases diagnosed with TS and 46,XX GD treated in the public health system (SUS) of Alagoas. **Methods:** This is a cross-sectional, observational, and descriptive study, with a sample consisting of individuals with a clinical and cytogenetic diagnosis of TS and 46,XX GD, regardless of age, treated in the SUS of Alagoas between May 2008 and May 2023. For the sample description, medical records with sociodemographic, clinical, and cytogenetic data were analyzed. Molecular investigation of Y chromosome markers was performed through Conventional and *nested* Polymerase Chain Reaction (PCR). The results were tabulated in an Excel spreadsheet for descriptive analysis. **Results:** From a sample of 233 DSD cases treated at the Clinical Genetics Service of Professor Alberto Antunes University Hospital (SGC/HUPAA), 12 presented 46,XX GD and 34 presented TS. Of the 46 study participants, 60.87% were from the interior of Alagoas, 32.61% from the capital, and 6.52% had no information on origin. The mean age at the first consultation was 16 years and 10 months, and the main characteristics presented were primary amenorrhea, short stature, and delayed development of secondary sexual characteristics. Clinically, 73.91% of the cases were diagnosed with TS, while 26.09% were diagnosed with 46,XX GD. The presence of Y chromosome markers was observed in 4.35% of the sample. **Discussion:** According to the literature, about 12% of individuals with TS and 46,XX GD may present Y-specific sequences in their chromosomal constitution, increasing the risk of developing gonadal tumors by 4-60%. In these cases, prophylactic gonadectomy is recommended. **Conclusion:** Conventional PCR and nested PCR effectively elucidated the presence of Y chromosome markers in 4.35% of the investigated cases. The clinical, cytogenetic, molecular, and sociodemographic descriptions enabled the characterization of TS and 46,XX GD cases in Alagoas.

Keywords: *Gonadal Development; Turner Syndrome; Y Chromosome; gonadal dysgenesis 46,XX.*

LISTA DE QUADROS

Quadro 1: Classificação das DDS	25
Quadro 2: Classificação dos cariótipos em ST.....	28
Quadro 3: Concentração das Soluções A, B e C	32
Quadro 4: Primers Externos utilizados para amplificação dos marcadores do cromossomo Y ..	34
Quadro 5: Reação em Cadeia da Polimerase Convencional (PCR).....	34
Quadro 6: Primers Internos utilizados para amplificação dos marcadores do cromossomo Y ...	35
Quadro 7: nested PCR	35

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Distribuição dos cariótipos dos participantes da pesquisa.....	43
---	-----------

LISTA DE GRÁFICOS

Gráfico 1: NATURALIDADE	37
Gráfico 2: PROCEDÊNCIA.....	38
Gráfico 3: APRESENTAÇÃO CLÍNICA.....	39
Gráfico 4: CARIÓTIPO	42
Gráfico 5: MARCADORES DO CROMOSSOMO Y.....	45

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Esquema Ilustrativo do Cromossomo Y	33
Figure 2: Heredograma da participante 19	47
Figure 3: Presença do Marcador TSPY em Gel de Agarose 1%	48
Figura 4: Heredograma da participante 38	49
Figure 5: Presença dos Marcadores DYZ3, TSPY e SRY em Gel de Agarose 1%	50
Figure 6: Heredograma das participantes 11 e 15	51

LISTA DE ABREVIATURAS

AGU – Anormalidades Geniturinárias
AGHU – Aplicativo de Gestão para Hospitais Universitários
EDTA – ácido etilenodiaminotetracético
DDS – Desordens da Determinação/Diferenciação do Sexo
DDS OT – Desordens da Diferenciação do Sexo Ovário-testicular
DDG – Desordem do Desenvolvimento Gonadal
DG – Disgenesia Gonadal
DGM – Disgenesia Gonadal Mista
DGC – Disgenesia Gonadal Completa
DGP – Disgenesia Gonadal Parcial
DSD – Disorders of Sex Development
DYZ3 – Zinc Finger Protein, Y-Linked
EBSERH – Empresa Brasileira de Serviços Hospitalares
FAMDOWN – Família Down Alagoas
HUPAA – Hospital Universitário Professor Alberto Antunes
IOP – Insuficiência Ovariana Primária
Kb – Kilobase
LGMH – Laboratório de Genética Molecular Humana
M – Molar
ml – Mililitros
 μL – Microlitro
 μg – Micrograma
mM – Milimolar
nM – Nanomolar
 MgCl_2 – Cloreto de magnésio
 Mg^{2+} – íon de magnésio
 Na_2EDTA – Sal dissódico de EDTA
NaCl – Cloreto de sódio
NSG – Sequenciamento de Nova Geração

PCDT – Protocolo Clínico e Diretrizes Terapêuticas

PCR – Reação em Cadeira da Polimerase

pb – Pares de base

pM – Picomolar

rpm – Rotação por minuto

SGC – Serviço de Genética Clínica

SRY – Sex Determining Region Y

ST – Síndrome de Turner

Taq – *Thermus aquaticus*

TBE – solução Tris – Borato – EDTA

TE – solução Tris-EDTA

Tris – Tris(hidroximetil)aminometano

TSPY – *Testis Specific Protein Y*

q.s.p. – quantidade suficiente para

UFAL – Universidade Federal de Alagoas

UNICAMP – Universidade Estadual de Campinas

U/ μ L – Unidade por microlitro

v – volume

V – Volts

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	21
2 OBJETIVOS	23
2.1 Objetivo geral.....	23
2.2 Objetivos específicos:	23
3 REVISÃO DE LITERATURA	24
3.1 Conceitos Históricos:	24
3.2 Desordens da Determinação/Diferenciação do Sexo (DDS):	25
3.3 Distúrbios da Diferenciação Gonadal (DDG):.....	26
3.3.1 Disgenesia Gonadal Completa 46,XX (DGC XX):	26
3.3.2 Síndrome de Turner (ST):.....	27
4 METODOLOGIA	30
4.1 Descrição da Amostra e Aspectos Éticos:	30
4.2 Procedimentos Laboratoriais:	30
4.2.3 Quantificação de DNA:	32
4.2.4 Verificação da Integridade do DNA Genômico:.....	32
4.2.5 Amplificação dos Marcadores de Cromossomo Y por Reação em Cadeia da Polimerase (PCR).....	33
4.2.6 Eletroforese em Gel de Agarose:.....	36
6. RESULTADOS E DISCUSSÃO:.....	37
6.1 Dados Epidemiológicos:	37
6.2 Dados Clínicos e Citogenéticos:	39
6.2.1 Dados clínicos:	39
6.2.2 Dados citogenéticos:.....	41
6.3 Investigação de Marcadores do Cromossomo Y:.....	44
6.3.1 Participante 19:.....	46
6.3.2 Participante 38:.....	48
6.3.3 Participante 11 e Participante 15 – Recorrência Familiar de Disgenesia Gonadal 46,XX:	50
7 CONCLUSÃO:	53
8 LIMITAÇÕES E PERSPECTIVAS	54
9 REFERÊNCIAS.....	56
ANEXOS	62
Anexo I: Termo de Consentimento Livre e Esclarecido 2016 – 2018.....	62
Anexo II: Termo de Consentimento Livre e Esclarecido 2021 – 2026.....	63
Anexo III: Parecer do Comitê de Ética e Pesquisa CAAE: 59929716.8.0000.5013. .	65

1 INTRODUÇÃO

As Desordens da Determinação/Diferenciação do Sexo (DDS) são caracterizadas pela presença de anomalias que afetam o desenvolvimento sexual, seja ele genético e/ou anatômico (Baxter & Vilain, 2013; Hughes et al., 2006). As DDS possuem uma variedade considerável de etiologias e, de acordo com o consenso de Chicago, são divididas em três grandes grupos: DDS 46,XX; DDS 46,XY e DDS associadas às anormalidades cromossômicas (Lee et al., 2006). As Disgenesias Gonadais (DG) podem ser classificadas dentro destes três grandes grupos.

DG é o termo utilizado para descrever as condições clínicas que cursam com o comprometimento do desenvolvimento das gônadas, sendo caracterizada pela presença de gônadas em fita, ausência de células germinativas e desenvolvimento dos órgãos genitais internos e externos incongruentes (Andrade et al., 2008). Elas apresentam variações dentre as quais estão a Síndrome de Turner (ST) e a DG 46,XX (Lipay et al., 2005).

Historicamente, a primeira sistematização de pacientes com DG foi descrita por Henry Turner em 1938 ao descrever uma condição clínica caracterizada por indivíduos com infantilismo sexual, baixa estatura e malformações gerais, atualmente conhecida como Síndrome de Turner (ST) (Turner, 1938). A ST, uma cromossomopatia relacionada a alterações numéricas e/ou estruturais no cromossomo X, é uma das síndromes de maior ocorrência no sexo feminino, com prevalência mundial de 1:2.500 nascidos vivos (Huang et al., 2021; Barros et al., 2011; Saenger, 1996).

Pacientes com ST e DG 46,XX apresentam risco aumentado para o desenvolvimento de gonadoblastomas, tumores de linhagens germinativas, devido às anormalidades na organogênese gonadal. A malignização dos resquícios gonadais pode estar associada à presença completa ou parcial do cromossomo Y (Canto et al., 2004; Lipay, et al., 2005; Oliveira et al., 2009).

A Reação em Cadeia da Polimerase (PCR) é um dos métodos utilizado para a detecção de marcadores do cromossomo Y. Este método rápido, eficaz e de baixo custo é utilizado para investigação de sequências Y-específicas no Laboratório de Genética Molecular Humana (LGMH), do Serviço de Genética Clínica do Hospital Universitário Professor Alberto Antunes da Universidade Federal de Alagoas (SGC/HUPAA/UFAL), o único serviço do Estado e referência para atendimentos em DDS. A partir destes atendimentos, iniciados em 2008, surgiu o grupo multidisciplinar de DDS de Alagoas, que conta com geneticistas, endocrinologistas,

enfermeiros, biomédicos, psicólogos, cirurgião pediátrico, biólogos, pediatras, assistente social, bioeticista, dentre outros.

Diante do exposto, o objetivo deste trabalho foi investigar a presença de marcadores do cromossomo Y em indivíduos com diagnóstico clínico e citogenético de ST e DG 46,XX atendidos no SGC/HUPAA/UFAL.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo geral

Investigar a presença de marcadores de cromossomo Y em casos diagnosticados com ST e DG 46,XX atendidos no SUS de Alagoas.

2.2 Objetivos específicos:

- Descrever as características sociodemográficas, clínicas, citogenéticas e moleculares em casos diagnosticados com ST e DG 46,XX atendidos no SUS de Alagoas;
- Investigar a presença dos marcadores Y-específicos: XES, SRY, TSPY e DYZ3.

3 REVISÃO DE LITERATURA

3.1 Conceitos Históricos:

O nascimento de crianças com alguma condição congênita era considerado um mau presságio nas civilizações antigas, muitas das quais aplicavam métodos radicais contra a vida desses indivíduos. Por exemplo, na Roma antiga, crianças nascidas fora dos padrões ditos como normais eram condenadas à morte por serem consideradas monstruosidades (Schewinsky, 2004).

No Brasil pré e pós-colonização, as condutas quanto as pessoas com deficiência não eram muito diferentes das demais civilizações, igualmente considerados mau-agouro, castigo divino e classificados no mais baixo nível de miséria, quando não abandonados no decorrer da vida (Corrent, 2016).

Os primeiros registros de DDS datam de antes da antiga Babilônia, cerca de 2 mil anos antes da era cristã (Weber, Sparker, Muller, 1971; Warkany, 1971). No entanto, a abordagem cultural a respeito dessas condições variava a depender da civilização. Tal como, na Grécia antiga pode-se observar na mitologia divina a presença de *Hermafroditus*, filho de Hermes e Afrodite, descrito como ser de rara beleza por quem a ninfa Salmacis se apaixonou e, ao ser rejeitada, lançou um pedido aos deuses para que ambos nunca se separassem, terminando por se fundirem e, assim, se tornarem um ser com características femininas e masculinas (Alves, 2020).

Por mais que os achados históricos tenham datas antiquíssimas, houve um hiato de milênios sem a menção da DDS ao longo da história humana. Com o surgimento da microscopia no século XVII, foi possível a realização de estudos histopatológicos, capazes de descrever aspectos clínicos caracterizantes para as anomalias gonadais e de genitais internos. Assim, surgiu a primeira classificação de DDS, na ocasião resumida em hermafroditismo verdadeiro (indivíduo com presença dos dois tipos de tecido gonadal), os pseudo-hermafroditas (presença de um único tipo de gônada, associadas a anomalias genitais externas e/ou internas) e, por fim, a ausência das gônadas (Acién & Acién, 2020).

Obviamente, tais termos estão em desuso e são estigmatizantes. Entretanto, manteve-se em prática por anos até a descoberta da cromatina sexual e identificação dos cromossomos através do cariótipo, já no século XX, o que permitiu os primeiros entendimentos da cascata de diferenciação do sexo. À *posteriori*, na década de 1960, foram esclarecidos o funcionamento e síntese dos hormônios esteroides (Barr, 1949; Foss, 1960; ACién & Acién, 2020).

Em 1956, *Tjio e Levin* iniciaram o estudo do cariótipo, firmando-se como técnica para investigação citogenética apenas em 1970. Dez anos depois, em 1980, os estudos moleculares entraram em vigência, resultando, já em 1990, na primeira investigação da sequência do *SRY*, um dos principais genes na cascata de diferenciação da gônada masculina (Barr, 1949; Wachtel, Ohno, Koo, 1975; Ación & Ación, 2020).

3.2 Desordens da Determinação/Diferenciação do Sexo (DDS):

O termo DDS, do inglês *Disorders of Sex Development* (DSD), caracteriza-se por condições congênitas que cursam com o comprometimento do desenvolvimento do sexo cromossômico, gonadal e anatômico. Atualmente, segundo o consenso de Chicago (Lee et al., 2006; Lee et al., 2016), as DDS são classificadas como:

Quadro 1: Classificação das DDS

DDS 46,XX		DDS 46,XY		Anomalias Cromossômicas
DDG:	DGC, DDS testicular, DDS OT.	DDG:	DGC, DGP XY, regressão testicular; DDS OT.	ST (45,X e variações);
Excesso de Andrógeno:	Fetal: HAC por deficiência da 21-hidroxilase;	Distúrbios da síntese ou ação de hormônios testiculares:	Defeitos de síntese de testosterona, deficiência da 5-alfa-redutase tipo 2; defeitos no receptor de andrógenos; persistência dos dutos de Müller	Síndrome de Klinefelter (47,XXY e variantes);
	Fetoplacentário: deficiência da aromatase placentária;			
	Maternos: Luteoma, origem exógena;	Outros:	Quadros sindrômicos.	Disgenesia Gonadal mista
	Outros: síndrome de Rokitansky, quadros sindrômicos.			

Legenda: Classificação atualizada de DDS, segundo o Consenso de Chicago, 2016. DDS (Desordens da Determinação/Diferenciação do Sexo); DDG (Desordens da Diferenciação Gonadal); DGC (Disgenesia Gonadal Completa), DGP (Disgenesia Gonadal Parcial); DDS OT (Desordens do Desenvolvimento Sexual Ováriotesticular); ST (Síndrome de Turner); HAC (Hiperplasia Adrenal Congênita (Lee et al., 2016; Gravholt et al., 2017).

Estima-se que as DDS afetam cerca de 1 a cada 4.500-5.000 nascidos vivos em todo o mundo (Ouyang et al., 2022; Profeta et al., 2022). Para a investigação etiológica dos casos de DDS, o cariótipo, a análise do perfil hormonal e bioquímico, exames de imagem e exames moleculares são fundamentais (Profeta et al., 2022).

3.3 Distúrbios da Diferenciação Gonadal (DDG):

Os DDG se caracterizam pela apresentação de gônadas subdesenvolvidas e disfuncionais, que cursam com falha no desenvolvimento das características sexuais secundárias dos acometidos por essa condição, e podem ser classificados dentro dos 3 grandes grupos de DDS (Andrade et al., 2008). Dentro dos DDG, encontram-se as DGs, anteriormente nomeadas como agenesia ovariana. As DGs caracterizam-se por indivíduos com achados de tecido gonadal não desenvolvido, predominantemente composto por tecido fibroso e atraso no desenvolvimento das gônadas, que podem acontecer devido a anomalias estruturais ou numéricas dos cromossomos sexuais ou alterações patogênicas nos genes envolvidos na cascata da diferenciação e/ou determinação do sexo (Ehenfeld & Bromberg, 1958; Lipay et al., 2005; Mccann-crosby et al., 2014).

Podem ser distinguidas de acordo com o cariótipo do indivíduo em DG 46,XX e DG 46,XY. No entanto, são classificadas, quanto ao comprometimento gonadal, em Disgenesia Gonadal Completa (DGC), Mista (DGM) e Parcial (DGP) (Ehenfeld & Bromberg, 1958; Lipay et al., 2005; Piazza et al., 2019). A ST é uma DG com características particulares, das quais se destaca por alterações em um dos cromossomos X (Jivraj & Stillwell, 2021).

3.3.1 Disgenesia Gonadal Completa 46,XX (DGC XX):

A DGC XX é a forma mais grave de Insuficiência Ovariana Primária (IOP), devido as alterações na diferenciação e funcionamento das gônadas e depleção precoce dos folículos ovarianos (Fortuño & Labarta, 2014). A presença de gônadas disgenéticas, amenorreia primária, infantilismo sexual e hipogonadismo hipergonadotrófico são os achados clínicos que caracterizam a condição (Piazza et al., 2019). Também pode ser observada a presença de déficit

cognitivo e atraso no desenvolvimento ósseo em alguns indivíduos (Biswas et al., 2021; Altunoglu et al., 2021; Sirchia et al., 2022).

Trata-se de uma condição com padrão de herança autossômico recessivo. A recorrência familiar é observada em 68% dos indivíduos, sendo os outros 32% de ocorrência esporádica (Meyers et al., 1996; Maciel-guerra & Guerra-júnior, 2019). A DGC XX pode apresentar associação com quadros sindrômicos, dos quais se destaca a síndrome de Perrault, síndrome de Blefarofimose, Ptose e Epicanto Inverso (BPES) (Lerat et al, 2016; Altunoglu et al., 2021).

3.3.2 Síndrome de Turner (ST):

A ST é um distúrbio do desenvolvimento gonadal descrito pela primeira vez em 1938 e com elucidação etiológica em 1950 a partir do estudo da cromatina sexual (Turner, 1938; Jivraj & Stillwell, 2021). Caracterizada por alterações numéricas e/ou estruturais no cromossomo X, com prevalência de 1:2.500 nascidos vivos, é uma das síndromes de maior ocorrência no sexo feminino (Huang et al., 2021). Entretanto, 99% das concepções 45,X evoluem para abortos espontâneos (Jivraj & Stillwell, 2021).

Quanto às características clínicas, pessoas com ST podem apresentar pescoço alado, baixa estatura, fronte proeminente, linha do cabelo baixo implantada, hipertelorismo mamilar, linfedema de mãos e pés, amenorreia primária, insuficiência ovariana prematura, hipogonadismo hipergonadotrófico, coarctação da aorta, hipertensão arterial, hipotireoidismo, osteoporose, déficits neuro cognitivos e infertilidade (Mikwar et al., 2020; Jivraj & Stillwell, 2021; Clemente et al., 2022).

O diagnóstico de indivíduos com ST pode ser realizado em diversas etapas do desenvolvimento humano, inclusive no período pré-natal. No entanto, é através da investigação citogenética que o diagnóstico nosológico é confirmado (Mikwar et al., 2020; Clemente et al., 2022). Pessoas com ST podem apresentar os cariótipos apresentados no Quadro 2.

Quadro 2: Classificação dos cariótipos em ST

Nomenclatura	Cariótipo
Monossomia do cromossomo X:	45,X
Mosaicos com linhagem 45,X associada a uma ou mais linhagens com dois ou mais cromossomos X íntegros:	45,X/46,XX, 45,X/47,XXX e 45,X/46,XX/47,XXX.
Anomalias estruturais no cromossomo X em cariótipos homogêneos ou em mosaico com linhagem 45,X e/ou 46,XX:	Isocromossomo de braço longo: [46,X,i(Xq)]; Cromossomo X em anel: [46,X,r(X)]; Deleções do braço curto: [46,X,del(Xp)];

Legenda: Quadro de classificação da ST de acordo com o cariótipo, de acordo com a classificação indicada por Gravholt et al., 2019.

A monossomia do cromossomo X é o cariótipo mais frequente (40-50%), seguido pela variação em mosaico (3-25%) e as anormalidades estruturais no cromossomo X, como isocromossomo, cromossomo X em anel e deleções (5-10% dos casos) (Gravholt et al., 2017).

Tratando-se de uma condição rara, os indivíduos com ST devem ser acompanhados por uma equipe multidisciplinar, objetivando a melhor conduta e abordagem terapêutica, juntamente com acompanhamento a longo prazo.

Os tratamentos para ST desempenham um papel crucial na melhora da qualidade de vida e na promoção do desenvolvimento saudável. A terapia hormonal, frequentemente iniciada na adolescência, auxilia no desenvolvimento de características sexuais secundárias, previne a osteoporose, auxilia no desenvolvimento e na manutenção da massa muscular e contribui para o aumento da estatura final. Intervenções médicas especializadas, como tratamentos para problemas cardíacos ou renais, que podem estar associados à síndrome, são essenciais para garantir um cuidado abrangente (Gravholt et al., 2019; Gravholt et al., 2023).

A presença de sequências Y-específicas na constituição cromossômica de pessoas com ST aumenta o risco de surgimento de gonadoblastoma (Freriks et al., 2013; Jivraj & Stillwell, 2021). Para os casos que apresentam Y em sua constituição cromossômica, a gonadectomia preventiva é indicada. Entretanto, o momento de realização da cirurgia é um assunto controverso na literatura, principalmente por afetar diretamente a reposição hormonal. Sendo

assim, recomenda-se o adiamento do procedimento até a puberdade, com realização de acompanhamento anual (Wunsch et al., 2012; Ouyang et al., 2021).

4 METODOLOGIA

4.1 Descrição da Amostra e Aspectos Éticos:

Trata-se de um estudo transversal, observacional descritivo, com a seleção amostral realizada a partir de 233 casos de DDS atendidos no SGC/HUPAA/UFAL entre maio de 2008 e maio de 2023. Foram incluídos indivíduos com características clínicas de DG e ST. Foram excluídos os indivíduos sem resultado citogenético ou com o cariótipo 46,XY.

O presente trabalho está vinculado às pesquisas intituladas: *Distúrbios da Diferenciação do Sexo em Alagoas: uma abordagem multidisciplinar no SUS; e Distúrbios da diferenciação do sexo em Alagoas: da atenção primária ao diagnóstico etiológico e tratamento multidisciplinar*, que apresentam aprovação do comitê de ética da UFAL (CAAE: 59929716.8.0000.5013 e CAAE:40078620.4.0000.5013, respectivamente) (Anexos I e II). Todos os participantes concordaram com a pesquisa mediante assinatura do Termo de Consentimento de Livre e Esclarecido (TCLE) (Anexos III e IV).

Para a descrição da amostra, os dados sociodemográficos, clínicos e citogenéticos obtidos a partir do prontuário foram reunidos em planilha Excel para análise qualitativa.

4.2 Procedimentos Laboratoriais:

Os procedimentos laboratoriais foram realizados no LGMH/HUPAA/UFAL por indivíduos do sexo feminino, para evitar contaminação por células 46,XY. O trabalho foi conduzido conforme as etapas a seguir:

4.2.1 Coleta de Sangue Periférico:

Amostras de sangue total periférico foram colhidos em tubos cônicos com 10% de anti-coagulante etilenediaminotetracetato dissódico $2H_2O$ (EDTA), a 0,5M e pH 8,0. O volume total de sangue coletado variou de 10 a 20 ml.

Os tubos foram armazenados em um caixa térmica e encaminhados ao LGMH imediatamente após a coleta. Após o registro de recebimento da amostra e devida codificação, os tubos foram armazenados em refrigerador a 4°C até o momento da extração do DNA.

4.2.2 Extração de DNA Genômico:

O DNA genômico foi extraído pela técnica de lise das hemácias, seguida de digestão com proteinase K e purificação pelo método fenólico, padronizada no LGMH (Sambrook, 1989). Abaixo seguem as descrições resumidas das etapas realizadas:

Etapa 1 – Lise das Hemácias:

O primeiro passo foi a homogeneização dos tubos contendo o sangue periférico por 5 minutos. A amostra de sangue foi transferida para um tubo *falcon* de 50 ml e adicionou-se solução A (Quadro 3) até o volume final de 50ml. Em seguida, o tubo *falcon* foi homogeneizado por 5 minutos, seguido de banho de gelo por 30 minutos. Foi realizada centrifugação à 2500 rpm por 15 minutos a 4°C. O sobrenadante foi descartado e o precipitado (*pellet*) foi ressuspensionado em 30 ml de solução A, repetindo o procedimento descrito até o *pellet* ficar livre das hemácias lisadas.

Por fim, o *pellet* foi ressuspensionado em 2 ml de solução B 1x (Quadro 3) e 500 µl de solução C (Quadro 3) e incubado por 16 horas em banho maria a 37°C

Etapa 2 – Purificação Fenólica:

Após o período de incubação, foram adicionados 1ml de TE 1x (Tris-HCl 10mM pH 8,0; EDTA 1mM pH 8,0) e igual volume de fenol saturado com Tris-HCL 10mM pH 8,0. A amostra foi homogeneizada por inversão lenta durante 5 minutos e centrifugada por 15 minutos a 2500 rpm, temperatura ambiente, para separação das fases orgânicas e aquosa.

A fase aquosa foi transferida para um novo tubo *falcon* de 15 mL com o auxílio de uma pipeta *pasteur*. Ao volume coletado foi adicionado 3 mL da solução de fenol: clorofórmio: álcool isoamílico (25:24:2, v:v:v). Seguido de homogeneização por inversão lenta, durante 5 minutos, e centrifugação (2500 rpm, à temperatura ambiente, por 15 minutos).

A parte aquosa foi novamente coletada e transferida para um novo tubo *falcon* e o procedimento acima descrito foi repetido com a adição de clorofórmio: álcool isoamílico (24:1, v:v).

A precipitação do DNA foi realizada com 0,1 volume de acetato de sódio 3M pH 5,5 e 2,5 volumes de etanol absoluto gelado. O DNA precipitado foi recuperado com o auxílio de uma haste plástica estéril e lavado com etanol 70% para a retirar o excesso de sal.

Por fim, a ressuspensão foi feita com TE 1x (aproximadamente 200 µl) em um microtudo de 1,5 ml, o qual permaneceu em temperatura ambiente de 16-24 horas, para a posterior quantificação.

Quadro 3: Concentração das Soluções A, B e C

Solução A	[] Final	Solução B (estoque 2x)	[] Final	Solução C	[] Final
MgCl ₂	5 mM	Na ₂ EDTA	20mM	Solução B	0,5x
Sacarose	0,32M	NaCl	20mM	SDS	5%
Tris-HCl pH 8,0	10mM	Tris-HCl pH 8,0	20mM	Proteinase K	1mg/mL
TritonX100	1%				

Legenda: Soluções utilizadas para extração do DNA genômico (Sambrook, Fritsch, Maniatis, 1989).

4.2.3 Quantificação de DNA:

Foi realizada a leitura de absorvância óptica na razão 260 nm/280 nm para a quantificação do DNA extraído, utilizando o espectrofotômetro BioDrop Limited®. Resolution Life Science Manual. version 2.10.0.0, Cambridge-UK, p. 353.

A amostra de referência, TE 1x (Tris-HCl 10mM pH 8,0; EDTA 1mM pH 8,0) (branco) foi utilizada para calibrar o aparelho. O valor de pureza mínimo para DNA aceito foi de 1,8.

4.2.4 Verificação da Integridade do DNA Genômico:

A verificação da integridade do DNA genômico extraído foi realizada através de eletroforese em gel de agarose 0,8% em TBE 1x, conforme Sambrook et al (1989).

Cada amostra foi aplicada no gel, juntamente com tampão de corrida (0,25% de azul de bromofenol; 50% glicose), na razão de 6:1. Marcadores de peso molecular, sendo DNA ladder 1 Kb plus (Invitrogen Corporation, Estados Unidos), em uma concentração de 0,15 µg/µL foram utilizados. O gel foi submerso em uma solução diluída de brometo de etídio (0,5 µL/mL) por 20 minutos e depois foi visualizado em um transluminador de luz ultravioleta. As imagens foram capturadas por uma câmera digital conectada a um computador e armazenadas em uma pasta de arquivos de salvamento *online* (GoogleDrive).

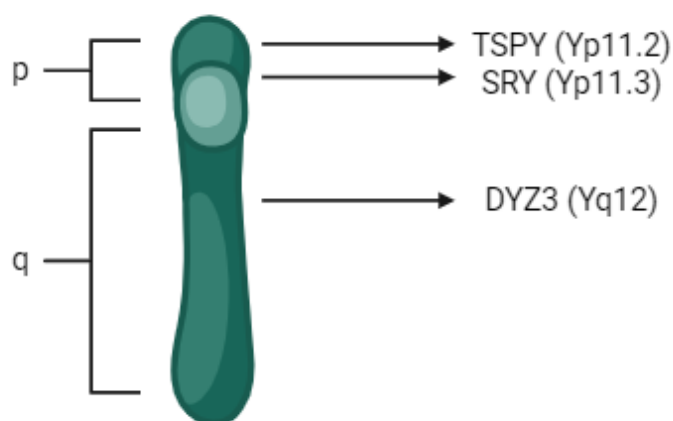
4.2.5 Amplificação dos Marcadores de Cromossomo Y por Reação em Cadeia da Polimerase (PCR)

A investigação dos marcadores de cromossomo Y, já padronizada no LGMH/HUPAA/UFAL, foi realizada em duas etapas, como descritas a seguir.

Etapa 1: PCR Convencional

A PCR convencional foi utilizada para amplificar seletivamente pequenos segmentos de DNA alvo, permitindo a detecção, quantificação e análise de sequências específicas de DNA. A seleção dos segmentos de interesse correspondeu aos seguintes marcadores: DYZ3 (região do braço longo), TSPY (região do braço curto) e SRY (região centromérica), posicionados no cromossomo Y de acordo com a Figura 1.

Figura 1: Esquema Ilustrativo do Cromossomo Y



Legenda: Esquema ilustrativo do cromossomo Y e as regiões específicas amplificadas. Braço curto (p), braço longo (q). TSPY (Testis Specific Protein Y), SRY (Sex Determining Region Y), DYZ3 (Zinc Finger Protein, Y-Linked). Referências: ncbi.nlm.nih.gov e omim.org.

A sequência dos primers dos segmentos de interesse (Quadro 4) e o protocolo para a realização da reação (Quadro 5) foram gentilmente cedidos pela profa. Dra. Maricilda Palandi de Melo, da Universidade Estadual de Campinas.

Quadro 4: Primers Externos utilizados para amplificação dos marcadores do cromossomo Y

Região do Cromossomo Y	Primer Direto (5' – 3')	Primer Reverso (5' – 3')	Tamanho do Amplicon
DYZ3 A/B	TGA AAA CTA CAC AGU AAG CTG	ACA CAT CAC AAA GAA CTA TG	1100pb
TSPY 52/56	CGC TAG GGC CTC CAC TTC ATA	GAT GAC ATA ATG GCG GAG	1300pb
XES 10/11	GTG TTG AGG GCG GAG AAA T	CAC AAA CAT AGG CAG GCT CA	780pb

Legenda: TSPY (Testis Specific Protein Y), SRY (Sex Determining Region Y), DYZ3 (Zinc Finger Protein, Y-Linked), de acordo com ncbi.nlm.nih.gov e omim.org. pb – pares de base.

Quadro 5: Reação em Cadeia da Polimerase Convencional (PCR)

Reagentes	[] Final	Ciclo Geral
DNA genômico	1,0 – 2,0 µg	1 ciclo de:
Tampão 10x Minus Mg ²⁺ (Invitrogen)	1x	94°C – 5 minutos
MgCl ₂ 50mM (Invitrogen)	1,5 mM	30 ciclos de:
dNTP 2mM (Invitrogen)	0,1 mM	94°C – 1 minuto
Primer direto	20 pmoles	53°C - DYZ3 – 1 minuto
Primer reverso	20 pmoles	54°C – TSPY – 1 minuto
Enzima <i>Taq DNA polymerase recombinant</i> (5 U/µL, Invitrogen)	2,0 U	61°C – XES – 1 minuto
H ₂ O deionizada q.s.p.	30 µL	72°C – 1 minuto
		1 ciclo de:
		72°C – 5 minutos
		15°C - Infinito

Legenda 1: Reação geral de PCR convencional com enzima *Taq DNA polymerase recombinant*, Invitrogen Corporation, Estados Unidos. Para a amplificação das regiões externas dos marcadores de cromossomo Y. q.s.p. = quantidade suficiente para.

Etapa 2: nested PCR

A nested PCR foi utilizada para aumentar a especificidade da amplificação dos fragmentos de DNA específicos, a saber DYZ3, TSPY e XES. Ela é utilizada especialmente em

casos de mosaicismo críptico, quando é necessária uma alta sensibilidade na detecção de uma região genômica.

Para essa etapa, foram selecionadas primers internos aos marcadores de cromossomo Y, também gentilmente cedidos pela profa. Dra. Maricilda Palandi de Melo, da Universidade Estadual de Campinas (Quadro 6). O procedimento foi realizado com a diluição do produto obtido através da PCR convencional na proporção 1:10 (1µl do produto da PCR: 9µl de H₂O deionizada) e as condições gerais para a execução estão no Quadro 7.

Quadro 6: *Primers Internos utilizados para amplificação dos marcadores do cromossomo Y*

Região do Cromossomo Y	Primer Direto (5' – 3')	Primer Reverso (5' – 3')	Tamanho do Amplicon
DYZ3 G/H	AGC CTT TTG TGG CCT ACG	ATC CTC CTG GAG ATA CCA	380pb
TSPY 30/35	GGG AAG AAG CCT AAG AGC ACC	CCC CAC CTA GAC CGC AGA GG	680pb
SRY 1/4	CAT TGT CGA CCA GTG TGA AAC GGG AG	CAT TGT CGA CGT ACA ACC CTG TTG TC	380pb

Legenda: TSPY (*Testis Specific Protein Y*), SRY (*Sex Determining Region Y*), DYZ3 (*Zinc Finger Protein, Y-Linked*), de acordo com ncbi.nlm.nih.gov e omim.org. pb – pares de base.

Quadro 7: *nested PCR*

Reagentes	[] Final	Ciclo Geral
Produto da PCR Convencional	50 – 100 ng	1 ciclo de: 94°C – 5 minutos
Tampão 10x Minus Mg ²⁺ (Invitrogen)	1x	15 ciclos de: 94°C – 1 minuto
MgCl ₂ 50mM (Invitrogen)	1,5 mM	53°C - DYZ3 – 1 minuto
dNTP 2mM (Invitrogen)	0,1 mM	54°C – TSPY – 1 minuto
Primer direto 20pmoles	20 pmoles	60°C – XES – 1 minuto
Primer reverso 20pmoles	20 pmoles	72°C – 1 minuto
Enzima <i>Taq DNA polymerase recombinant</i> (5 U/ µL, Invitrogen)	2,0 U	72°C – 5 minutos
H ₂ O deionizada q.s.q	30 µL	1 ciclo de: 15°C - Infinito

Legenda: Reação geral de nested PCR com enzima *Taq DNA polymerase recombinant*, Invitrogen Corporation, Estados Unidos. Para a amplificação das regiões internas dos marcadores de cromossomo Y.

Todas as PCRs foram realizadas no LGMH, utilizando controles 46,XX (controle negativo), 46,XY (controle positivo) e controle branco.

4.2.6 Eletroforese em Gel de Agarose:

Os produtos das PCRs foram analisados em gel de agarose 1%. As amostras foram aplicadas no gel juntamente com o tampão de corrida (0,25% de azul de bromofenol; 50% glicose) na razão de 6:1. A voltagem para a eletroforese variou entre 90-110 V.

Quanto aos marcadores de peso molecular, foram utilizados DNA *ladder* 1 Kb (Invitrogen Corporation, Estados Unidos), em concentração de 0,15 µg/µL. Os amplicons dos marcadores de cromossomo Y corresponderam: DYZ3 A/B (1100pb), TSPY 52/56 (1300pb) e XES 10/11 (780pb), para os *primers* externos e DYZ3 G/H (380pb), TSPY 30/35 (680pb) e SRY (380pb), para os *primers* internos.

Após a eletroforese, o gel foi imerso em solução diluída de brometo de etídio (0,5 µL/ml de água destilada) durante 20 minutos. Após esse período, o gel foi visualizado em transluminador de luz ultravioleta e fotografado com uma câmera digital acoplada a um computador. As fotos foram salvas em uma pasta de documentos de salvamento *online* (Google Driver) e posteriormente analisadas quanto a presença e/ou ausência dos amplicons de interesse.

4.2.7 Dados Sociodemográfica:

Os dados sociodemográficos (procedência e naturalidade), clínicos (descrição clínica, idade na primeira consulta, realização de tratamento de reposição hormonal, queixas motivadoras para a busca do acompanhamento genético e histórico familiar) e citogenéticos (cariótipo) foram reunidos em planilha Excel para análise do perfil da amostra.

6. RESULTADOS E DISCUSSÃO:

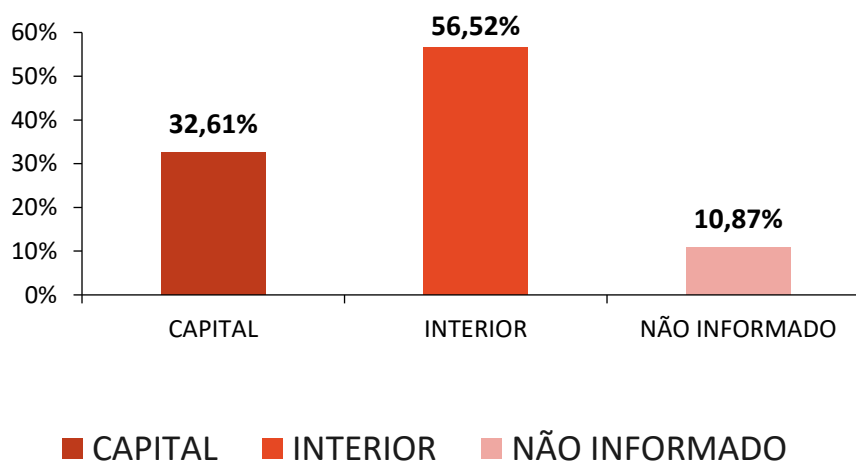
6.1 Dados Epidemiológicos:

A composição da amostra foi de 46 participantes, 12 com diagnóstico clínico e citogenético de DG 46,XX e 34 com ST. A distribuição epidemiológica local foi um dos parâmetros utilizados para entendimento da amostra estudada.

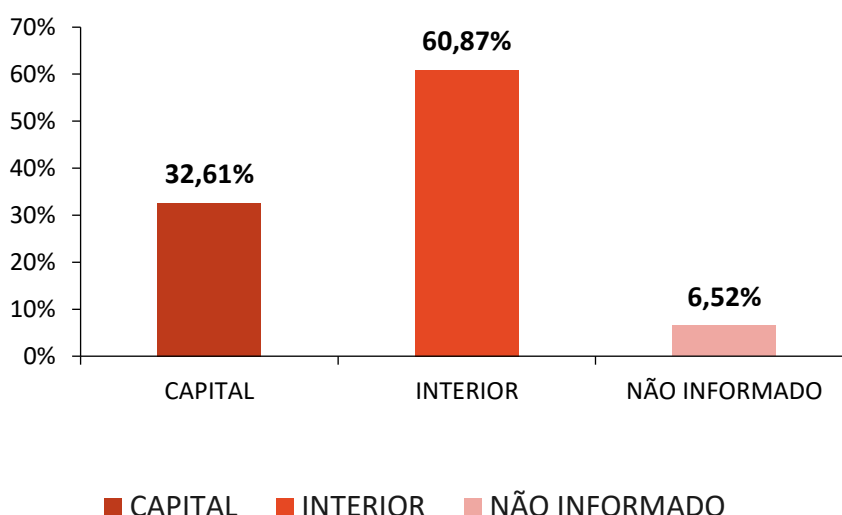
A maioria dos participantes são naturais do interior do estado (56,52%) e 32,61% residentes da capital. Em 10,87% dos prontuários analisados não constava essa informação (Gráfico 1). Quanto à procedência, manteve-se a maioria do interior (60,87%), seguido de 32,61% procedente da capital e 6,52% com a ausência desta informação (Gráfico 2).

Segundo o censo do IBGE (2022), a população estimada de Alagoas é de 3.125.254 habitantes. Destes, apenas 30% vivem na capital (Maceió), sendo, portanto, a maioria os que moram no interior do estado (IBGE, 2022). Dessa forma, os dados aqui apresentados estão congruentes com o esperado, tendo em vista a majoritária distribuição da população no interior de Alagoas.

Gráfico 1: NATURALIDADE



Legenda: Distribuição em porcentagem da naturalidade dos participantes da pesquisa. Capital corresponde a Maceió e Interior corresponde aos municípios interioranos do Estados de Alagoas. Não informado corresponde aos indivíduos sem informação da naturalidade.

Gráfico 2: PROCEDÊNCIA

Legenda: Distribuição em porcentagem da procedência dos participantes da pesquisa. Capital corresponde a Maceió e Interior corresponde aos municípios interioranos do Estado de Alagoas. Não informado corresponde aos indivíduos sem informação da procedência.

A necessidade de acompanhamento periódico e o fato do SGC/HUPAA/UFAL ser localizado na capital, reforçam a dificuldade de acesso que esses indivíduos enfrentam para receber assistência e tratamento dos diversos especialistas. O abandono do acompanhamento é, dentre outros fatores, um dos desafios enfrentados pelo grupo de pesquisa e assistência em DDS de Alagoas.

Foi possível observar que as participantes residentes e oriundas da capital possuem menor taxa de descontinuidade de acompanhamento, quando em comparação com as participantes residentes e oriundas do interior do Estado. Além disso, os prontuários das moradoras da capital contêm mais informações preenchidas, resultado do segmento adequado ao tratamento e realização de exames solicitados pela equipe multidisciplinar.

Sugere-se que as questões de transporte e distância das residências ao HUPAA/UFAL são fatores cruciais para a manutenção da frequência do acompanhamento clínico, visto a importância dos exames de rotina para prevenção de condições crônicas como síndromes metabólicas e doenças cardíacas, cujo risco é aumentado nessa casuística, além do início dos tratamentos de reposição hormonal.

Fiot e colaboradores (2022) destacam a importância do acompanhamento multidisciplinar para pacientes com ST e de possuírem uma equipe de profissionais integrados

que possam discutir as particularidades de cada caso e propor condutas que visem o melhor acompanhamento e tratamento dos indivíduos diagnosticados (Fiot et al., 2022).

Em Alagoas, o grupo multidisciplinar de DDS é composto por geneticistas, endocrinologistas, enfermeiros, biomédicos, psicólogos, cirurgião pediátrico, biólogos, pediatras, assistente social, bioeticista, dentre outros, que realizam o acompanhamento e discutem a conduta terapêutica de cada caso.

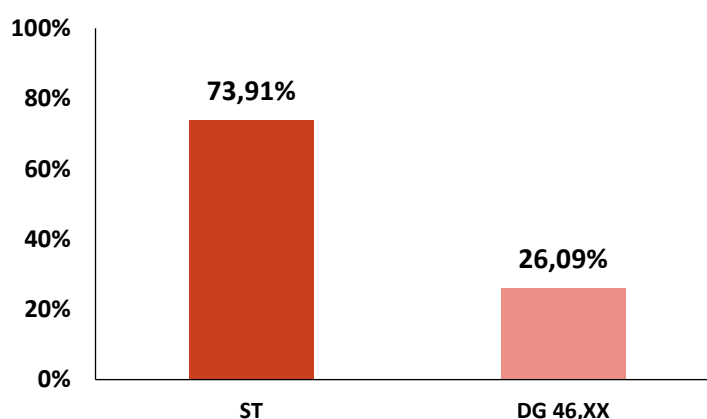
Apesar do suporte oferecido pelo grupo de DDS do HUPAA/UFAL, ainda se enfrenta dificuldades como as citadas anteriormente.

6.2 Dados Clínicos e Citogenéticos:

6.2.1 Dados clínicos:

Quanto a apresentação clínica da casuística deste trabalho, 73,91% dos participantes possuem diagnóstico para ST e 26,09% possuem diagnósticos para DG 46,XX (Gráfico 3). Sendo a idade média na primeira consulta do atendimento especializado de 16 anos e 10 meses, com uma variação de 2 meses a 44 anos (menor e maior idade, respectivamente) para ambas as apresentações clínicas.

Gráfico 3: APRESENTAÇÃO CLÍNICA



Legenda: Distribuição em porcentagem da apresentação clínica dos participantes da pesquisa.

Em um estudo retrospectivo realizado em Porto Alegre (RS), a média de idade das 59 participantes diagnosticadas com ST foi de 15 anos e 11 meses (mediana de 10 anos e sete meses), enquanto em outro estudo, realizado em São Paulo, essa média foi de 9 anos e quatro meses (Barbosa et al., 2021; Nunes et al., 2021). Já na região Centro-Oeste do Brasil, Araújo e colaboradores (2010), em seu trabalho, destacaram a média de idade diagnóstica em 14 anos e onze meses.

Estudos europeus indicam que a idade média do diagnóstico de ST pode variar de 13 a 15 anos, entretanto, muitas mulheres não são diagnosticadas até a fase adulta ou nunca são diagnosticadas. O diagnóstico após a puberdade é considerado tardio e é um problema recorrente nesses centros, que indicam a idade pré-natal como ideal para a realização do diagnóstico ou, quando não possível, até os primeiros anos da pré-puberdade (Gravholt et al., 2017; Gravholt et al., 2019; Steiner & Saenger, 2022; Gravholt et al., 2023).

A média de idade do diagnóstico dos participantes desta pesquisa (16 anos e dez meses) são superiores aos encontrados na literatura, porém, seguem congruentes quanto ao diagnóstico e busca tardia por um serviço especializado.

Quando observamos a procedência e naturalidade das participantes e os dados de idade na primeira consulta, consideramos que a distância dos municípios para a capital, na qual o SGC/HUPAA reside, é um fator a ser levado em consideração quanto ao acesso a um especialista. Em acréscimo, a falta de treinamento específico para identificar sintomas clínicos mais sutis por parte dos profissionais da área da saúde das instituições municipais pode ser outro agravante para o encaminhamento especializado.

Segundo Gravholt et al., 2019, a amenorreia primária ou secundária, atraso no desenvolvimento das características sexuais secundárias e baixa estatura são as queixas mais prevalentes nos quadros de DG 46,XX e ST, sendo também o motivo pelo qual as famílias tendem a buscar por profissionais especializados. Em nossa casuística, observamos que 18 das participantes buscaram o especialista com queixa de amenorreia primária ou secundária, ou ainda, relatando menstruação irregular. A segunda maior queixa foi a baixa estatura.

Normalmente, estas queixas ocorrem entre 11-15 anos de idade, coincidindo com o período puberdade (Tanner, 1962; Meneses, Ocampos, Toledo, 2008). Entretanto, a indicação para a terapia de reposição hormonal em casos de ST é na primeira infância (2-2,5 anos), visando o melhor desenvolvimento das características sexuais secundárias, maturação das

gônadas e redução da mortalidade e morbidade (Klein et al., 2018; Gravholt et al., 2019; Gravholt et al., 2023). No Brasil, o Protocolo Clínico e Diretrizes Terapêuticas (PCDT) para a ST, desenvolvido pelo Ministério da Saúde, indica que a indução da puberdade deve ser realizada entre os 11-12 anos, apontando melhores resultados com tratamentos iniciados precocemente (PCDT, 2018).

Das 46 participantes desta pesquisa, 19 realizaram tratamento de reposição hormonal (41,30%) sendo 8 procedentes da capital do Estado e 10 do interior; uma não declarou procedência. Destas, 10 interromperam o tratamento e 2 não apresentam em seus prontuários informações quanto a continuidade deste, sendo este grupo atualmente representado por 8 participantes. Dentre as demais 27 participantes, 24 não realizaram reposição hormonal (8 procedentes da capital do Estado, 15 procedentes do interior e 1 sem informações de procedência) e 3 participantes não apresentavam informações a respeito do tratamento hormonal (todas oriundas do interior do Estado).

Dentre as participantes que interromperam o tratamento, 4 residiam no interior 5 na capital, 1 não apresentou dados quanto a procedência. Esses dados reforçam a necessidade de se levantar informações quanto a razão pela qual essas participantes descontinuaram seus tratamentos e se há alternativas para sanar suas queixas, a fim de promover uma melhor qualidade de vida para esses indivíduos.

Considerando os dados da literatura, a idade média do diagnóstico para os casos de ST em Alagoas é tardia e impacta diretamente o manejo e conduta terapêutica ideal para esses indivíduos.

Alguns autores ressaltam a possibilidade de diagnóstico pré-natal, os quais destacam técnicas sensíveis e robustas para a detecção do cariótipo por via intrauterina (Fiot et al., 2022). Entretanto, o caráter invasivo e de alto custo dessas técnicas acaba inviabilizando sua aplicação no âmbito do SUS.

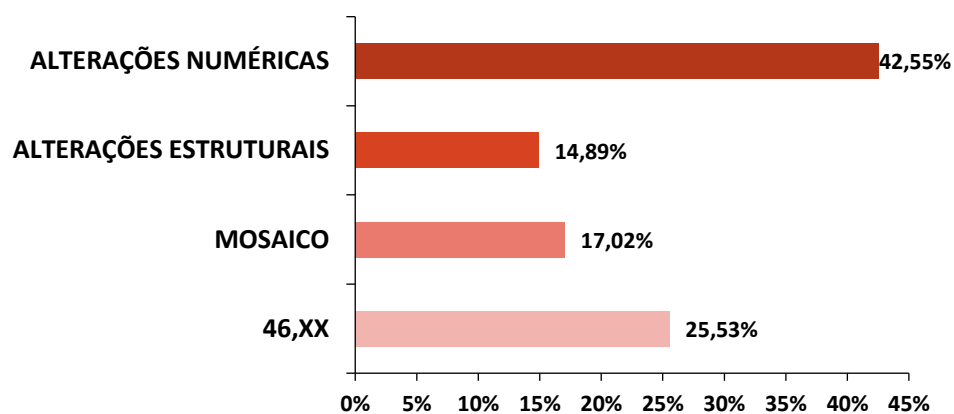
Sendo assim, a adesão da técnica mais acessível e possível de implementação no SUS, como a convencional e *nested* PCR, para a investigação da presença do cromossomo Y, e o acompanhamento contínuo com o grupo multidisciplinar como o do HUPAA/UFAL são essenciais e imprescindíveis.

6.2.2 Dados citogenéticos:

O cariótipo é um exame fundamental para os casos de DDS e, para ST, esse exame é o padrão ouro para elucidação diagnóstica (Barbosa et al., 2021; Fiot et al., 2022).

Os cariótipos dos participantes desta pesquisa foram agrupados da seguinte forma: alterações numéricas (monossomia do cromossomo X), alterações estruturais (isocromossomo, cromossomo em anel e deleções), mosaicos (duas ou mais linhagens distintas de células) e 46,XX (indivíduos com DG).

Gráfico 4: CARIÓTIPO



Legenda: Distribuição em porcentagem do perfil citogenético dos participantes da pesquisa.

Os dados aqui apresentados refletem o padrão encontrado na literatura, onde é observado que a monossomia do cromossomo X é o cariótipo de maior frequência (40-50%), seguido do mosaico (15-25%), seguiu de alterações estruturais, como isocromossomo e cromossomo X em anel (GRAVHOLT et al., 2023). Os cariótipos observados nos participantes da pesquisa são destacados na Tabela 1.

Tabela 1: Distribuição dos cariótipos dos participantes da pesquisa

CÓDIGO DOS PARTICIPANTES	CARIÓTIPO
<i>Participante 02 à 12 (11)</i>	46,XX
<i>Participante 01 (1)</i>	46,XX,del(X)(p21.3)
<i>Participantes: 14; 15; 17; 19; 23; 25 a 29; 31; 33 a 39; 43; 44; 46 (21)</i>	45,X
<i>Participante 13 (1)</i>	mos46,XX/45,X
<i>Participante 16 (1)</i>	mos46,XX/46,Xi(X)(q10)
<i>Participantes 18 e 21 (2)</i>	46,X,i(X)(q10)
<i>Participantes: 20; 24; 30 (3)</i>	mos46,XX/45,X
<i>Participante 22 (1)</i>	mos45,X/46,X,del(X)(q22;q28)
<i>Participante 32 (1)</i>	mos45,X/46,X,r(X)
<i>Participante 40 (1)</i>	mos45,X/46,X,+mar
<i>Participante 41 (1)</i>	mos47,XXX/ 45,X
<i>Participante 42 (1)</i>	46,X,del(X)(q21.2)
<i>Participante 45 (1)</i>	mos45,X/46,X,i(X)

Legenda: Distribuição do cariótipo das participantes do estudo. O número entre parênteses corresponde a quantidade de indivíduos. O número médio de metafases analisadas foi de 50. Mos (mosaico); Mar (Marcador); r (Ring – anel); del (deleção); i (isocromossomo);

É bastante controversa a questão dos estigmas indivíduos com ST devido a diversidade de apresentação clínica, podendo estes, inclusive, não apresentarem quaisquer indicativos morfológicos da síndrome (pescoço alado, linfedema, baixa estatura). O que pode explicar parcialmente o diagnóstico tardio observado globalmente (Fiot et al., 2020).

Na literatura, correlações fenótipo-genótipo são estabelecidas como forma de entendimento para a variação clínica dos casos de ST, principalmente. No entanto, essas correlações são controversas e não podem ser levadas em consideração por si só.

Tuke e colaboradores (2018), apontaram uma correlação positiva do cariótipo 45,X/46,XX com a presença de menarca em período normal e chances de gravidez natural, apesar dos índices de aborto ainda serem elevados (Tuke et al., 2018).

Tratando-se do desenvolvimento do indivíduo como um todo, outros fatores precisam ser considerados, os quais podemos citar aspectos socioeconômicos, nutricionais, cognitivos, educacionais e orientações adequadas de profissionais experientes, a fim de contribuir para o melhor estímulo de desenvolvimento humano (físico, fisiológico, cognitivo, sensorial e emocional), agindo de forma preventiva para algumas comorbidades.

Para a casuística do presente trabalho, o histórico clínico e o acesso aos profissionais e recursos necessários são diferenciais para o melhor desenvolvimento e qualidade de vida.

Estudos como o de Gravholt e colaboradores (2017 e 2019) destacam a importância de estímulos neurocognitivos para indivíduos com ST como método de inclusão social. Bem como a presença de baixa estatura como um fator importante para questões emocionais. Suas pesquisas ressaltam a dificuldade de mulheres adultas com ST de se relacionarem de forma conjugal devido, principalmente, a este estigma.

Reforçando o impacto dos aspectos sociais, uma matéria publicada em 2022 no jornal da Globo em Tapajó, destacou as dificuldades de Giovana, uma jovem diagnosticada com ST. As queixas expostas tanto pela progenitora da entrevistada quanto as de Giovana focaram no caráter discriminatório enfrentado na escola e na cidade onde vivem, práticas estas reproduzidas inclusive pelos médicos que as atenderam, usando de palavras ofensivas para se referir a condição rara (Tapajó, 2022).

Exemplos como o este afetam negativamente a vida desses indivíduos e podem influenciar como um quesito negativo no que se refere ao comparecimento em consultas futuras, afetando a adesão a continuidade a longo prazo do acompanhamento. Fica clara a necessidade de treinamento especializado para a equipe de assistência primária quanto a como lidar com casos como o de ST e DG, reforçando a construção de um ambiente acolhedor e seguro para os pacientes.

Dessa maneira, percebemos a complexidade da abordagem clínica e quantos fatores precisam ser considerados ao se pensar em correlações diretas de genótipo-fenótipo, principalmente ao observar (Tabela 1) a grande diversidade de cariótipos da amostra.

6.3 Investigação de Marcadores do Cromossomo Y:

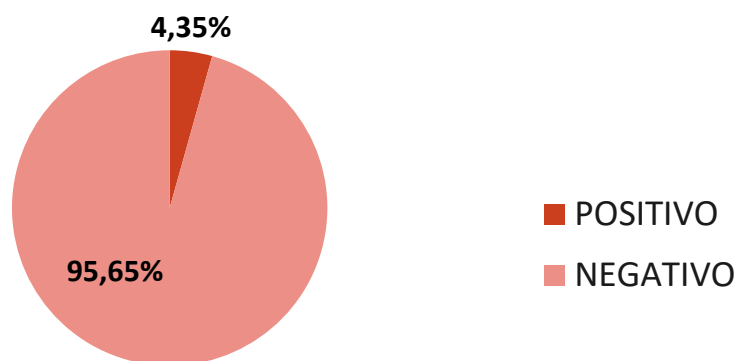
A presença de marcadores do cromossomo Y foi observada em 2 participantes com ST (4,35%) e 95,65% da amostra não apresentou os marcadores investigados (Gráfico 5). De acordo com a literatura, cerca de 4-60% dos casos de ST podem apresentar sequências Y-específicas em sua constituição cromossômica (Lu, Luo & Wang, 2022).

Os dados sobre marcadores do cromossomo Y e DG 46,XX são escassos na literatura. Nas pesquisas realizadas nas plataformas de buscas para o embasamento teórico deste trabalho foram utilizados os descritores em inglês: *gonadal dysgenesis, 46,XX gonadal dysgenesis,*

gonadal developmental disorder, turner syndrome, Y chromosome, Y marker, gonadal tumors. Os trabalhos resultantes não trouxeram informações específicas para os casos de DG 46,XX, geralmente esses casos são incluídos no padrão de manejo para os casos de DGM ou DGP. A indicação profilática da cirurgia de retirada das gônadas para casos de ST e DG 46,XX segue o mesmo padrão, havendo reclassificação de casos de ST para DGM quando há a presença de marcadores do cromossomo Y, dificultando as análises direcionadas para cada caso.

A dificuldade em se encontrar dados concretos sobre a conduta direcionada aos casos de DG 46,XX destaca a escassez de estudos abrangentes e a falta de consenso na prática clínica, as quais contribuem para a ausência de protocolos padronizados. Esta falta de dados reflete não apenas a complexidade clínica da DG 46,XX, mas também a necessidade de estudos sobre condição clínica.

Gráfico 5: MARCADORES DO CROMOSSOMO Y



Legenda: Distribuição da porcentagem de marcadores do cromossomo Y.

Pesquisas envolvendo a investigação de cromossomo Y em casos de ST se utilizam de técnicas distintas, tais quais podemos citar a hibridização *in situ* por fluorescência (FISH) e microarranjos cromossômicos (microarray). Essas técnicas possuem robustez e sensibilidade para a elucidação da presença de sequências Y-específicas (Prakasho et al., 2014; Barbosa et al., 2021; Fiot et al., 2022).

Métodos como o Quantitative Fluorescent Polymerase Chain Reaction (QF-PCR), capaz de diagnosticar anormalidades cromossômicas ainda no pré-natal, são considerados como forma de minimizar o diagnóstico tardio. A QF-PCR é um método rápido e de baixo custo, sensível em identificar mosaicismos de baixo grau, entretanto, o tecido de análise é o líquido

amniótico, conferindo um caráter invasivo e de alto risco para a gestante e o feto (Xu et al., 2022).

Em um estudo com 109 participantes brasileiros com diagnóstico clínico e citogenético de ST, foi identificada a presença de marcadores de Y em cerca de 12,8% das participantes da pesquisa. A investigação foi realizada através de PCR, uma técnica sensível, rápida e de baixo custo, que auxiliou na elucidação dos casos de mosaicismos de baixo grau da referida casuística (Barbosa et al., 2021).

Barbosa e colaboradores (2021) discutem a importância da técnica de PCR para uma investigação precisa e confiável, por ser baixo custo facilita a sua implementação no SUS. No nosso trabalho, a PCR convencional e a *nested* PCR se mostraram eficientes quanto a detecção de sequências Y-específicas.

Uma vez que indivíduos diagnosticados com DG 46,XX e ST, que apresentam marcadores de cromossomo Y em sua constituição cromossômica, possuem um risco aumentado de desenvolvimento de tumores gonadais, investigar sequências Y-específicas é essencial e de extrema importância na abordagem diagnóstica, conduta e prognóstico do paciente (Sallai et al., 2010; Gravholt et al., 2019; Piazza, Urbanetz, 2019; Fiot et al., 2022). Nesses casos, a gonadectomia preventiva é indicada, apesar da existência de um debate extenso e importante sobre quando essa cirurgia deve ser realizada. Independentemente da decisão, é necessário o acompanhamento anual para os casos Y-positivos, principalmente para as pacientes que estão em uso de terapia hormonal. Assim como, é indicada a investigação para a presença desses marcadores para todos os casos (Wunsch et al., 2012; Ouyang et al., 2021; Slowikowska-Hilczner et al., 2020).

No nosso trabalho, os marcadores de cromossomo Y foram encontrados nas participantes 19 e 38. Ambas estavam em idade inferior ao período puberal (1 e 7 anos, respectivamente), não foram submetidas a terapia de reposição hormonal até o momento e seguem em avaliação pelo cirurgião da equipe quanto a realização da gonadectomia profilática.

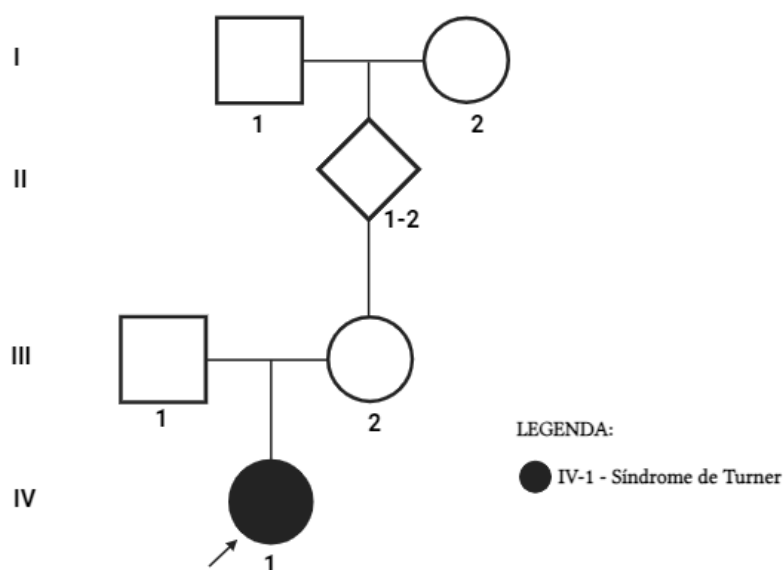
6.3.1 Participante 19:

Encaminhada ao SGC/HUPAA/UFAL pela FAMDOWN (Família Alagoana Down) com suspeita de Síndrome de Down, a participante natural e procedente de Maceio/AL foi atendida pela primeira vez aos 7 anos de idade, com queixa de baixa estatura.

6.3.1.1 História Familiar:

É a primeira filha de pais não consanguíneos, sem informação quanto a idade dos progenitores e sem histórico familiar semelhante. Criada pelos bisavós maternos, que são analfabetos e possuem poucas informações a respeito da condição da participante. Sem informações sobre o parto e sem registro de uso de tratamento hormonal (figura 2).

Figure 2: Heredograma da participante 19



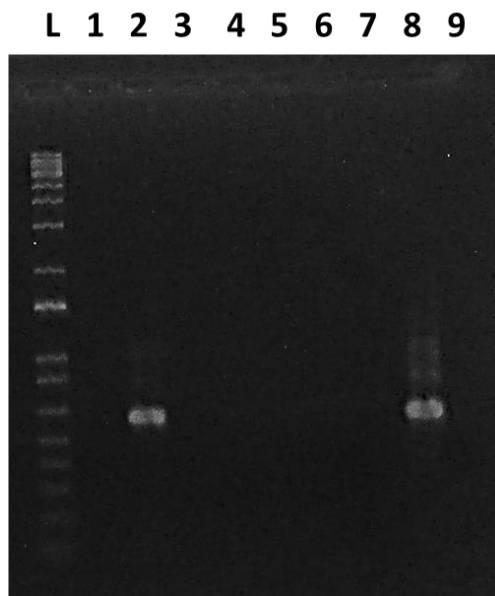
6.3.1.2 História clínica da participante da pesquisa:

Ao exame clínico apresentou orelhas dismórficas, pequenas e protuberantes, sendo mais acentuada à direita. Palato estreito e linfedema no pescoço, com baixa implantação de cabelos na nuca, em tridentes. Sobrancelhas espessas e curtas, cílios longos, ptose palpebral à direita. *Pectus excavatum*, prega única de flexão em 5º dedo da mão, bilateral. Nos exames de imagem (ultrassonografia), os ovários não foram visualizados, porém o útero apresentou tamanho normal (0,8 cm³). É referida a realização de cirurgia de coarctação da aorta e descreve outros problemas cardíacos.

O resultado citogenético demonstrou cariótipo 45,X [50] e a investigação molecular identificou a presença dos marcadores TSPY do cromossomo Y (Figura 3). A participante segue

em acompanhamento com a equipe multidisciplinar de DDS de Alagoas e está em avaliação cirúrgica quanto ao tempo ideal para a realização da gonadectomia profilática.

Figure 3: Presença do Marcador TSPY em Gel de Agarose 1%



Legenda: Gel de Agarose 1% da nested PCR para TSPSY (680pb). L – Ladder; Números de 1 a 6 são as amostras das participantes. Número 7: controle negativo de indivíduo hígido 46,XX. Número 8: controle positivo de indivíduo hígido 46,XY. Número 9: controle Branco sem amostra de DNA. Número 2: participante 19, resultado positivo para TSPSY (680pb).

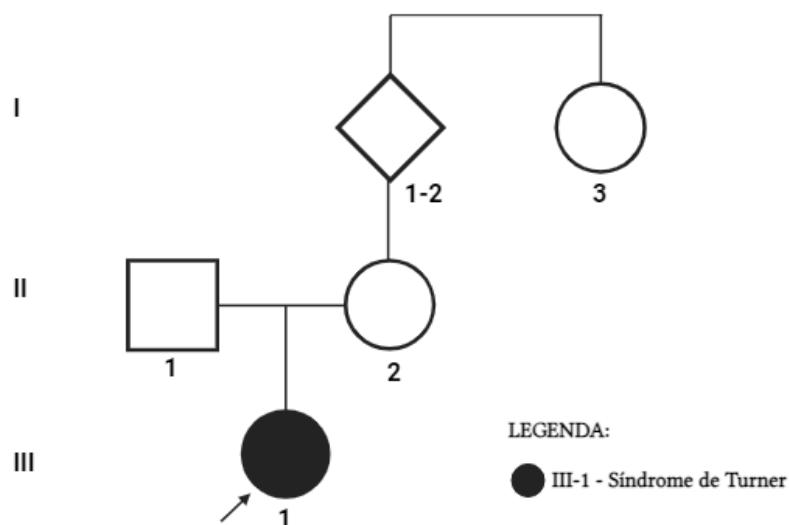
6.3.2 Participante 38:

Encaminhada ao SGC/HUPAA/UFAL pela ginecologista obstetra com 1 ano de idade, com queixas de baixa estatura e linfedema no pescoço.

6.3.2.1 História Familiar:

Primeira filha de um casal não consanguíneo, mãe com mais de 30 anos ao nascimento da participante e sem informação sobre a idade do pai. Sem histórico de condição similar na família, não realizou terapia de reposição hormonal até o momento e o parto foi a termo, sem intercorrências (Figura 4).

Figura 4: Heredograma da participante 38

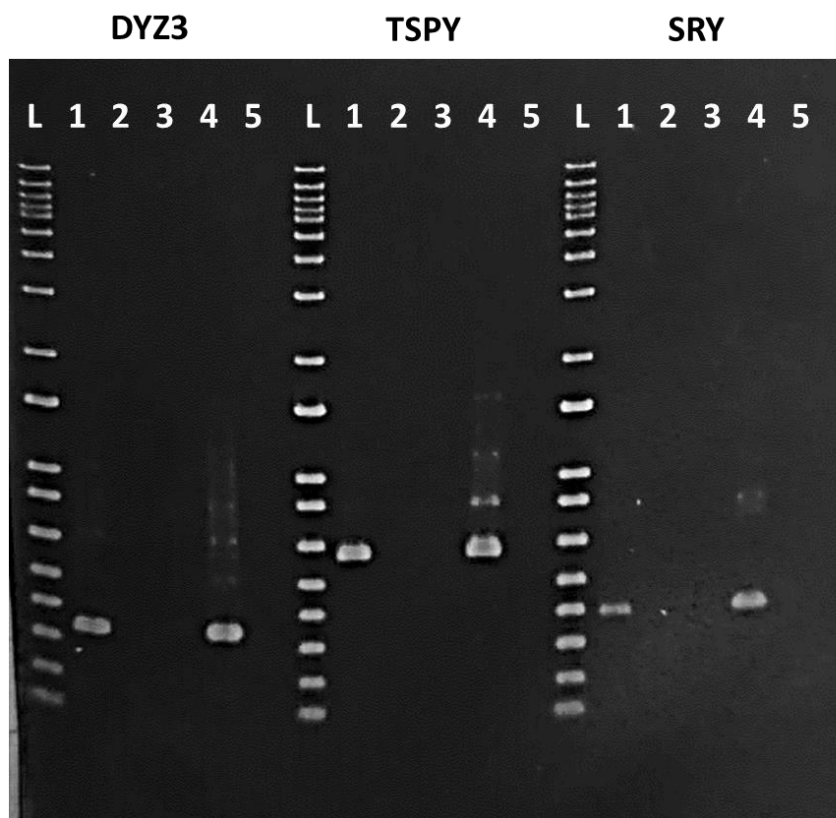


6.3.2.2 História clínica da participante da pesquisa:

Ao exame clínico, apresentou epicanto, raiz nasal achatada, orelhas protrusivas e de baixa implantação, pescoço curto com excesso de pele, unhas hiperconvexas e de implantação profunda, discreto edema de dorso dos pés. Nos exames de imagem (ultrassonografia) foi constatada a presença de útero com dimensões reduzidas e os ovários não foram visualizados. Todo o acompanhamento clínico e de exames foi feito no HUPAA/UFAL.

A participante é natural e procedente de Maceió/AL, com cariótipo 45,X [50] e o investigação molecular de marcadores do cromossomo Y identificou a presença de marcadores DYZ3, TSPY e SRY (Figura 5). Segue em acompanhamento com a equipe multidisciplinar do HU e avaliação cirúrgica quanto a realização da gonadectomia profilática.

Figure 5: Presença dos Marcadores DYZ3, TSPY e SRY em Gel de Agarose 1%



Legenda: Gel de Agarose 1% da nested PCR para DYZ3(380pb), TSPSY (680pb) e SRY (380pb). L – Ladder; Números 1 e 2 são as amostras das participantes. Número 3: controle negativo de indivíduo hígido 46,XX. Número 4: controle positivo de indivíduo hígido 46,XY. Número 5: controle Branco sem amostra de DNA. Número 1: participante 38, resultado positivo para DYZ3(380pb), TSPSY (680pb) e SRY (380pb).

6.3.3 Participante 11 e Participante 15 – Recorrência Familiar de Disgenesia Gonadal 46,XX:

Encaminhadas para o SGC/HUPAA/UFAL pela ginecologia por queixa de amenorreia primária, hipodesenvolvimento sexual secundário e atraso puberal.

6.3.3.1 Histórico Familiar:

A participante 11 é a segunda filha e a participante 15 é a terceira, de um casal jovem não consanguíneo. Parto a termo e sem exposição a agentes teratogênicos. Sem outros casos descritos na família e não fizeram uso de tratamento de reposição hormonal (Figura 6).

6.3.3.2: História clínica:

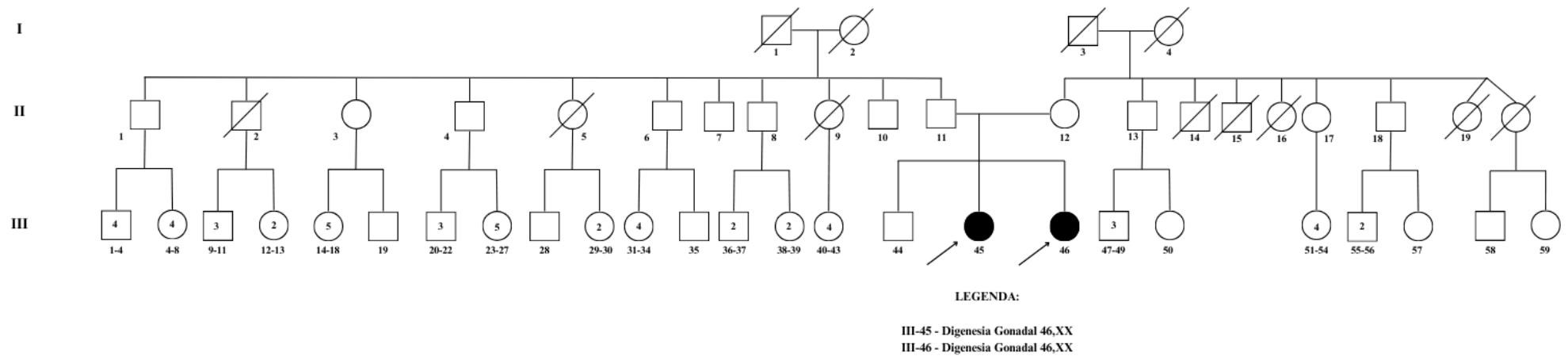
Ao exame clínico ambas as participantes apresentaram amenorreia primária e hipodesenvolvimento dos caracteres sexuais secundários. Os exames de imagem da participante 11 revelaram rins com sinais de duplicação pelocalicial, útero com dimensões reduzidas

(4,1cm³) e ovários não visualizados. Orelhas baixo-implatadas, discreto cúbito valgo, membros e dedos alongados.

A participante 15 apresentou orelhas baixo-implatadas, discreto cúbito valgo, membros e dedos alongados. Foi solicitado exame de imagem, porém não consta os resultados nos prontuários analisados.

O cariótipo de ambas é 46,XX [40] e testaram negativo para a presença de marcadores do cromossomo Y. Considerando a recorrência familiar, foi realizado o Sequenciamento de Nova Geração (NGS), através de painel de genes, para complementação diagnóstica. Esse exame foi realizado em colaboração com Universidade de São Paulo. O resultado não revelou alterações que pudessem ser associadas ao fenótipo das participantes da pesquisa.

Figure 6: Heredograma das participantes 11 e 15



O diagnóstico precoce dos casos de ST e DG 46,XX ainda é um desafio. Muitas vezes, os sinais clínicos podem passar despercebidos, especialmente em indivíduos muito jovens, o que ressalta a importância crucial de profissionais de saúde especializados e equipes treinadas na detecção desses indícios sutis.

A investigação de cromossomo Y para casos de ST e DG 46,XX é fundamental e pode influenciar diretamente o manejo clínico e as decisões terapêuticas. Esse exame pode reduzir as comorbidades e assegurar a melhor qualidade de vida dos afetados.

7 CONCLUSÃO:

A PCR convencional e a *nested* PCR elucidaram de forma eficaz a presença de marcadores do cromossomo Y em 4,35% dos casos investigados. A descrição clínica, citogenética, molecular e sociodemográfica possibilitaram a caracterização da população de ST e DG 46,XX de Alagoas, evidenciando os principais desafios que prejudicam a qualidade de vida das participantes. Concomitante, esse estudo é pioneiro no Estado, impactando positivamente para a contribuição do entendimento dos casos de ST e DG 46,XX, que possuem dados escassos e incongruentes na literatura.

8 LIMITAÇÕES E PERSPECTIVAS

Durante o desenvolvimento do presente trabalho, barreiras estruturais e temporárias foram desafiantes, uma vez que este projeto faz parte do projeto guarda-chuva do Programa de Pesquisa para o SUS (PPSUS) da FAPEAL (Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Alagoas). Os desafios de execução em dois anos requerem destreza, colaboração e, acima de tudo, dedicação intensa.

A ST foi uma das primeiras formas da DG descritas no mundo, o que confere uma vasta literatura disponível desde então. Com a relação à casuística deste projeto, por ser amplamente heterogênea, estabelecer uma abordagem padrão é um desafio, pois enfrentamos questões de descontinuidade do tratamento e acompanhamento das participantes no SGC/HUPAA/UFAL. Esse é o principal desafio enfrentado pelo grupo de pesquisa, visto que os casos de DDS requerem assistência multiprofissional e multidisciplinar continuada para proporcionar uma melhor qualidade de vida para esses indivíduos.

Para a investigação de marcadores de cromossomo Y, através da técnica de PCR convencional e *nested* PCR, a falta de continuidade afeta a coleta de amostras do sangue periférico, que muitas vezes não pode ser feito no momento da primeira consulta. Sendo assim, a disposição dos participantes em retornar ou em ceder suas amostras para a pesquisa de imediato são aspectos a serem considerados.

Outro ponto que merece destaque foi a atualização de agendamento, evolução e acompanhamento dos pacientes para o sistema AGHU (Aplicativo de Gestão para Hospitais Universitários), no qual a consulta ao prontuário se tornou totalmente digital, sendo realizada mediante ao *login* e senha de um profissional cadastrado no sistema EBSEH (Empresa Brasileira de Serviços Hospitalares), o que dificultou a consulta aos prontuários dos pacientes e organização dos dados. Com as mudanças para o AGHU, houve uma dificuldade em identificar informações dos participantes da pesquisa quanto a realização de exames, condutas das diferentes especialidades e consulta de dados sociodemográficos, como procedência, naturalidade e momento da primeira consulta. Foram feitas análises minuciosas e frequentes dos prontuários físicos e digitais, comparando as informações neles presentes. O entendimento do prontuário físico foi desafiador, principalmente por não apresentar um padrão de preenchimento, o qual igualmente apresentou lacunas de informações para alguns participantes.

O consenso de Chicago (2016) foi o guia de classificação para a casuística do presente trabalho, porém, na grande maioria dos trabalhos encontrados na literatura essa classificação para casos de ST com presença de cromossomo Y sofre uma reclassificação, colocando esses

indivíduos como DGM. Essas divergências afetam diretamente o estudo, visto que há uma confusão quanto se a amostra corresponde de fato a indivíduos com ST ou são indivíduos com DGM.

Nesse mesmo raciocínio, a escassez de trabalhos focados em abordagens direcionadas para casos de DG 46,XX reduz os debates quanto ao manejo e prognóstico. Na literatura, estes aspectos são os mesmos indicados para as demais DGs, das quais incluem indivíduos com cariótipo XY.

Outro desafio enfrentado foi a condução dos presentes experimentos, os quais demandaram dedicação minuciosa e precisavam de um ambiente reservado, longe da presença de indivíduos 46,XY, para reduzir as chances de contaminação.

O cariótipo é fundamental para o diagnóstico de ST e DG, somada a técnica de investigação de marcadores do cromossomo Y, é possível estabelecer uma abordagem diagnóstica eficiente.

Manter a investigação da presença de cromossomo Y como exame para todos os casos de ST e DG 46,XY atendidos no SGC/HUPAA/UFAL é uma perspectiva do grupo multidisciplinar de DDS de Alagoas. Para isso, necessitamos que os gestores de saúde incorporem esse exame no SUS.

9 REFERÊNCIAS

Acién, P., & Acién, M. Disorders of sex development: Classification, review, and impact on fertility. **In Journal of Clinical Medicine**. Vol. 9, Issue 11, pp. 1–33. 2020. DOI: <https://doi.org/10.3390/jcm9113555>

Altunoglu, U., Börklü, E., Shukla, A., et al. Expanding the spectrum of syndromic PPP2R3C-related XY gonadal dysgenesis to XX gonadal dysgenesis. *Clin Genet*. Feb;101(2):221-232. 2021. DOI: 10.1111/cge.14086. Epub 2021 Nov 17. PMID: 34750818.

ALVES, Andressa Morita. A Intersexualidade e a Interferência do Estado Brasileiro no Não Reconhecimento de suas Garantias Fundamentais e de sua Humanidade: Uma análise Crítica da Construção Social e Imposição do Papel de Gênero na Perspectiva do Direito. 2020. Trabalho de Conclusão de Curso (Direito) – Pontifícia Universidade Católica de Goiás. Goiânia (PUC-GO). Goiás (GO), 2020. Disponível em: <https://repositorio.pucgoias.edu.br/jspui/handle/123456789/1661>

Andrade, G. J. R., Martins, R. S., Caldas, D., et al. Perfil clínico de 62 casos de distúrbios da diferenciação sexual. **Rev Paul Pediatr**. 26 (4):321-8. 2008.

Andrade, G. R. J., Marques-De-Faria, A. P., Fabbri, H. C., et al. Long-Term Follow-Up of Patients with 46,XY Partial Gonadal Dysgenesis Reared as Males. **International Journal of Endocrinology**. 2014. DOI: <https://doi.org/10.1155/2014/480724>

Barbosa, L. G., Siviero-Miachon, A. A., Souza, M. A., & Spinola-Castro, A. M. Recognition of the Y chromosome in Turner syndrome using peripheral blood or oral mucosa tissue. **Annals of Pediatric Endocrinology and Metabolism**, 26(4), 272–277. 2021. DOI: <https://doi.org/10.6065/apem.2142026.013>

Barr, M. L., Bertram E. G. Uma distinção morfológica entre neurônios do sexo masculino e feminino, e o comportamento do satélite nucleolar durante a síntese acelerada de nucleoproteínas. **Natureza**. 1949; 163 :676–677. DOI: 10.1038/163676a0.

Barros, B. A., Moraes, S. G., Coeli, F. B., et al. OCT4 immunohistochemistry may be necessary to identify the real risk of gonadal tumors in patients with Turner syndrome and y chromosome sequences. **Human Reproduction**, 26(12), 3450–3455. 2011. DOI: <https://doi.org/10.1093/humrep/der310>

Baxter, R. M., & Vilain, E. Translational genetics for diagnosis of human disorders of sex development. **In Annual Review of Genomics and Human Genetics**. Vol. 14, pp. 371–392. 2013. DOI: <https://doi.org/10.1146/annurev-genom-091212-153417>

Biswas, L., Tyc, K., el Yakoubi, W., Morgan, K., Xing, J., & Schindler, K.. Meiosis interrupted: The genetics of female infertility via meiotic failure. **In Reproduction**. Vol. 161, Issue 2, pp. R13–R35. BioScientifica Ltd. 2021. DOI: <https://doi.org/10.1530/REP-20-0422>

Boman, U. W., Molw, A., & Alberfsson-W&landl, K. Psychological aspects of Turner syndrome. **In J Psychosom obstet Gynecol**. Vol. 19. 1998.

Canto, P., Kofman-Alfaro, S., Jiménez, A. L., et al. Gonadoblastoma in Turner syndrome patients with nonmosaic 45,X karyotype and Y chromosome sequences. **Cancer Genetics and Cytogenetics**. 150(1), 70–72. 2004. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.cancergencyto.2003.08.011>

Censo IBGE Alagoas. Cidades.ibge, 2022. Disponível em: <https://cidades.ibge.gov.br/brasil/al/panorama>. Acesso em 16 de Abr. de 2023.

Clemente, E. G., Penukonda, S. K., Doan, T., Sullivan, B., & Kanungo, S. Turner Syndrome. **Endocrines**. 3(2), 240–254. 2022. DOI: <https://doi.org/10.3390/endocrines3020022>

CORRENT, Nikolas. Da antiguidade a contemporaneidade: a deficiência e suas concepções. **Revista Científica Semana Acadêmica**. Fortaleza, ano MMXVI, n. 000089, 2016.

Fortuño, C., & Labarta, E. Genetics of primary ovarian insufficiency: a review. *Journal of Assisted. Reproduction and Genetics*. 31(12), 1573–1585. 2014. DOI: <https://doi.org/10.1007/s10815-014-0342-9>

Gazzaneo, I. F. P., de Queiroz, C. M. C., Goes, L. C. V., et al. Profile of patients with genitourinary anomalies treated in a clinical genetics service in the Brazilian unified health system. **Revista Paulista de Pediatria**. 34(1), 91–98. 2016. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.rppede.2015.06.024>

Gravholt, C. H., Viuff, M. H., Brun, S., Stochholm, K., & Andersen, N. H. Turner syndrome: mechanisms and management. **In Nature Reviews Endocrinology**. Vol. 15, Issue 10, pp. 601–614. 2019. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41574-019-0224-4>

Gravholt, C. H., Viuff, M., Just, J., Sandahl, K., Brun, S., van der Velden, J., Andersen, N. H., & Skakkebaek, A. The Changing Face of Turner Syndrome. **In Endocrine Reviews**. Vol. 44, Issue 1, pp. 33–69. Endocrine Society. 2023. DOI: <https://doi.org/10.1210/endrev/bnac016>

Gravholt, C. H., Andersen, N. H., Conway, G. S., Dekkers, O. M., et al. Clinical practice guidelines for the care of girls and women with Turner syndrome: Proceedings from the 2016 Cincinnati International Turner Syndrome Meeting. **European Journal of Endocrinology**. 177(3), G1–G70. 2017. DOI: <https://doi.org/10.1530/EJE-17-0430>

Huang, A. C., Olson, S. B., & Maslen, C. L. A review of recent developments in turner syndrome research. **In Journal of Cardiovascular Development and Disease**. Vol. 8, Issue 11. MDPI. 2021. DOI: <https://doi.org/10.3390/jcdd8110138>

Hughes, I. A., Houk, C., Ahmed, S. F., et al. Consensus statement on management of intersex disorders. **Arch Dis Child**. 91:554–563. 2006.

Jivraj, S., & Stillwell, S. Turner syndrome through the lens of a gynaecologist. **In Post Reproductive Health**. Vol. 27, Issue 2, pp. 98–108. SAGE Publications Ltd. 2021. DOI: <https://doi.org/10.1177/2053369120958593>

Klein, K. O., Rosenfield, R., Santen, R. J., Gawlik, A., Backeljauw, P., et al. Estrogen Replacement in Turner Syndrome: Literature Review and Practical Considerations. **The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism**. 2018. DOI: 10.1210/jc.2017-02183

Lee, P. A., Houk, C. P., Ahmed, F., Hughes, I. A., Achermann, J., Baskin, L., et al. Consensus statement on management of intersex disorders. **Pediatrics**. 118(2). 2006. DOI: <https://doi.org/10.1542/peds.2006-0738>

Lee, P. A., Nordenström, A., Houk, C. P., Ahmed, S. F., Auchus, R., et al. Global Disorders of Sex Development Update since 2006: Perceptions, Approach and Care. **In Hormone research in paediatrics**. Vol. 85, Issue 3, pp. 158–180. 2016. DOI: <https://doi.org/10.1159/000442975>

Lerat, J., Jonard, L., Loundon, N., Christin-Maitre, S., Lacombe, D., et al. An Application of NGS for Molecular Investigations in Perrault Syndrome: Study of 14 Families and Review of the Literature. **Human Mutation**. 37(12), 1354–1362. 2016. DOI: <https://doi.org/10.1002/humu.23120>

Lipay, B. & Verreschi. Disgenesias Gonadais e Tumores. **In Arq Bras Endocrinol Metab**. Vol. 49. 2005

Lu, L., Luo, F., & Wang, X. Gonadal tumor risk in pediatric and adolescent phenotypic females with disorders of sex development and Y chromosomal constitution with different genetic etiologies. **Frontiers in Pediatrics**. v 10. 2022 DOI: <https://doi.org/10.3389/fped.2022.856128>

MACIEL-GUERRA & GUERRA-JÚNIOR. Menino ou Menina? Os Distúrbios da Diferenciação do Sexo. Ed 1. Editora Appris. 2019.

Mccann-Crosby, B., Mansouri, R., Dietrich, J. E., Mccullough, L. B., Sutton, R., et al. State of the art review in gonadal dysgenesis: challenges in diagnosis and management. 2014. Acesso em: <http://www.ijpeonline.com/content/2014/1/4>

Meneses, C., Ocampos, D. L., Toledo, T. B. Estagiamento de Tanner: um estudo de confiabilidade entre o referido e o observado. **Adolescência & Saúde**. vol 5, nº 3. 2008.

Meyers, C. M., Boughman, J. A., Rivas, M., Wilroy, R. S., & Simpson, J. L. Gonadal (Ovarian) Dysgenesis in 46,XX Individuals: Frequency of the Autosomal Recessive Form. **In American Journal of Medical Genetics**. Vol. 63. 1996.

Mikwar, M., MacFarlane, A. J., & Marchetti, F. Mechanisms of oocyte aneuploidy associated with advanced maternal age. **In Mutation Research - Reviews in Mutation Research**. Vol. 785. Elsevier B.V. 2020. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.mrrev.2020.108320>

National Center for Biotechnology Information (NCBI). Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/>. Acesso em: 25 de outubro de 2023.

Nunes, M. R., Pereira, T. G., Correia, H. V. D., Canabarro, S. T., Vanz, A. P., et al. Clinical and cytogenetic characteristics of patients diagnosed with Turner syndrome in a clinical genetics service: cross-sectional retrospective study. **Sao Paulo Med J**. Aug-Sep;139(5):435-442. 2021. DOI: 10.1590/1516-3180.2020.0470.R2.110321.

Oliveira, M. R. I., et al. Y chromosome in Turner syndrome: review of the literature Cromossomo Y na síndrome de Turner: revisão da literatura. **In Sao Paulo Med J**. Vol. 127, Issue 6. 2009

Online Mendelian Inheritance in Man (OMIM). Disponível em: <https://www.omim.org/>. Acesso em: 25 de outubro de 2023.

Ouyang, Y., Tan, S., Yu, Y., Luo, B., Yin, W., & Luo, L. Gonadal tumor and malignancy in 118 patients with disorders of sex development with Y chromosome. **International Journal of Gynecology and Obstetrics**. 158(2), 285–288. 2022. DOI: <https://doi.org/10.1002/ijgo.13974>

Piazza, M. J., & Urbanetz, A. A. Germ cell tumors in dysgenetic gonads. **In Clinics**. Vol. 74. Universidade de São Paulo. 2019. DOI: <https://doi.org/10.6061/clinics/2019/e408>

Prakash S, Guo D, Maslen CL, Silberbach M, Milewicz D & Bondy CA. Single-nucleotide polymorphism array genotyping is equivalent to metaphase cytogenetics for diagnosis of Turner syndrome. **Genetics in Medicine**. 14 53–59. 2014.

Profeta, G., Micangeli, G., Tarani, F., Paparella, R., Ferraguti, G., et al. Sexual Developmental Disorders in Pediatrics. **In Clinica Terapeutica**. Vol. 173, Issue 5, pp. 475–488. Societa Editrice Universo. 2022. DOI: <https://doi.org/10.7417/CT.2022.2466>

Saenger, P., Turner's Syndrome. **The new england journal of medicine**. 335: 1749-1754, 1996.

Sambrook, J., Fritsch, E. & Maniatis, T., 1989. Molecular cloning: a laboratory manual, 2nd ed., Cold Spring Harbor Laboratory.

Sallai, Á., Sólyom, J., Dobos, M., Szabó, J., Halász, Z. Y-chromosome markers in Turner syndrome: Screening of 130 patients. **Journal of Endocrinological Investigation**. 33(4), 222–227. 2010. DOI: <https://doi.org/10.3275/6442>

Schewinsky, S. R. A barbárie do preconceito contra o deficiente: todos somos vítimas. *Acta Fisiátrica*, 11(1), 7–11. 2004. DOI: <https://doi.org/10.11606/issn.2317-0190.v11i1a102465>

SÍNDROME DE TURNER: ESTUDANTE ENFRENTA DIFICULDADES E DÁ EXEMPLO DE SUPERANÇA. Bom dia Tapajó: Globoplay, 2022. 1 vídeo (Globoplay) (6 min). Disponível em: <https://globoplay.globo.com/v/10910801/>. Acesso em: 20 fev. 2024.

Sirchia, F., Giorgio, E., Cucinella, L., Valente, E. M., & Nappi, R. E. Biallelic mutations in PSMC3IP are associated with secondary amenorrhea: expanding the spectrum of premature ovarian insufficiency. **Journal of Assisted Reproduction and Genetics**. 39(5), 1177–1181. 2022 DOI: <https://doi.org/10.1007/s10815-022-02471-7>

Slowikowska-Hilczer, J., Szarras-Czapnik, M., Duranteau, L., Rapp, M. Risk of gonadal neoplasia in patients with disorders/differences of sex development. **Cancer Epidemiol.** Dec; 69:101800. 2020. DOI: 10.1016/j.canep.2020.101800.

Tuke, M. A., Ruth, K. S., Wood, A. R., Beaumont, R. N., Tyrrell, J., Jones, S. E., et al. Mosaic Turner syndrome shows reduced penetrance in an adult population study. **Genetics in Medicine.** 2018. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41436-018>

Turner, J. W. Brown-Séquard Syndrome at C 2 Level due to Vascular Lesion of Cord. **Proc R Soc Med.** Feb;31(4):296-7. 1938. PMID: 19991385; PMCID: PMC2076683.

Tanner, J. M. Growth at adolescence. 2. ed. Oxford: Blackwell Scientific Publications. 1962.

Wachtel, S. S., Ohno, S., Koo, G. C., Boyse, E. A. Possible role for H-Y antigen in the primary determination of sex. **Nature**, 257(5523), 235–236. 1975. DOI: 10.1038/257235a0

Warkany J. Syndromes. **Am J Dis Child.** May;121(5):365-70. 1971. DOI: 10.1001/archpedi.1971.02100160035001. PMID: 4253704.

Weber, F. M., Sparkes, R. S., & Muller, H. Double monosomy mosaicism (45,X/45,XX,21-) in a retarded child with multiple congenital malformations¹. **In Cytogenetics.** Vol. 10. 1971

Wünsch L, Holterhus PM, Wessel L, Hiort O. Patients with disorders of sex development (DSD) at risk of gonadal tumour development: management based on laparoscopic biopsy and molecular diagnosis. **BJU Int.** 2012;110(11 Pt C):E958-65. doi: 10.1111/j.1464-410X.2012.11181.x. Epub 2012 Apr 30. PMID: 22540217.

Xu, C , Peng, J , Zhang, Y , Liang, S , Wang, D. Detecção de deleção parcial e mosaicismo usando reação em cadeia da polimerase fluorescente quantitativa: Relatos de casos e revisão da literatura . **J Clin Lab Anal.** 36 :e24574. 2022. DOI: 10.1002/jcla.24574

ANEXOS

Anexo I: Termo de Consentimento Livre e Esclarecido 2016 – 2018.

Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (T.C.L.E.) – para os responsáveis

Eu, _____ responsável por _____ autorizo sua participação como voluntário em estudo realizado no Hospital Universitário Prof. Alberto Antunes da UFAL. Recebi de Isabella Lopes Monlleó/Susane Vasconcelos Zanotti, responsáveis por sua execução, as seguintes informações que me fizeram entender sem dificuldades e sem dúvidas os seguintes aspectos:

- Que o estudo se destina a conhecer as características clínicas e as causas de Distúrbios da Diferenciação do Sexo.
- Que a importância deste estudo é reconhecer as especificidades desses distúrbios na população de Alagoas tomando como referência as pessoas atendidas no serviço de genética do Hospital Universitário Professor Alberto Antunes.
- Que os resultados que se desejam alcançar são: conhecer as características demográficas e genético-clínicas de DDS na população de Alagoas, bem como as implicações desse tipo de distúrbio genético, especialmente no que se refere à particularidade da puberdade em casos de DDS e suas implicações para os pacientes.
- Que esse estudo começará em outubro de 2016 e terminará em setembro de 2018.
- Que o estudo será feito da seguinte maneira: coleta de dados clínicos e familiares por meio de exame físico por médico geneticista, atendimento psicológico, grupo de fala e/ou entrevista, Análise de heredograma, cariótipo de sangue periférico, exames hormonais, ultrassonografia abdominal e, quando pertinente, técnicas moleculares para elucidação do diagnóstico.
- Que meu/minha filho(a) participará das seguintes etapas: atendimentos clínico, entrevista, exames laboratoriais e de imagem.
- Que não há outros meios conhecidos para se obter os mesmos resultados.
- Que os incômodos que ele(a) poderá sentir com a participação são: um possível desconforto por envolver aspectos sobre a sua sexualidade; que, no entanto, ele(a) tem o direito de se recusar a responder, caso se sinta constrangido(a).
- Que ele(a) deverá contar com assistência dos responsáveis pela pesquisa, caso tenha dúvidas em relação a mesma, podendo entrar em contato com eles através dos telefones cujo os números encontram-se adiante neste documento.
- Que os benefícios que ele(a) deverá esperar com a sua participação no estudo são a definição do seu diagnóstico e tratamento, aconselhamento genético e atendimento psicológico. Além disso, os benefícios indiretos são a contribuição das informações para ampliação do conhecimento atual sobre esses distúrbios em vista do planejamento de políticas públicas de saúde.
- Que seremos informados sobre o resultado final desta pesquisa, e sempre que desejar será fornecido esclarecimentos sobre qualquer etapa da mesma.
- Que, a qualquer momento ele(a) poderá se recusar a continuar participando da pesquisa e, também, que poderei retirar meu consentimento, sem que isso lhe traga qualquer penalidade ou prejuízo.
- Que as informações conseguidas através da participação não permitirão a sua identificação, exceto aos responsáveis pelo estudo, e que a divulgação das mencionadas informações só serão feitas entre os profissionais estudiosos do assunto.
- Que eu não terei qualquer despesa com a participação do meu filho neste estudo e, que poderei ser indenizado por danos que ele venha a sofrer pela mesma razão.
- Que eu receberei uma via assinada do presente Termo de Consentimento Livre e Esclarecido.
- Finalmente, tendo eu compreendido perfeitamente tudo o que me foi informado sobre a participação do meu/minha filho(a) no mencionado estudo e estando consciente dos nossos direitos, das nossas responsabilidades, dos riscos e dos benefícios que essa participação implica, concordo e autorizo meu/minha filho(a) a participar e, portanto, eu **DOU O MEU CONSENTIMENTO, SEM QUE PARA ISSO EU TENHA SIDO FORÇADA OU OBRIGADO(A)**.

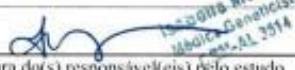
Endereço do(a) participante-voluntário(a):

Domicílio: (rua, praça, conjunto):
 Bloco: /Nº: /Complemento:
 Bairro: /CEP/Cidade: /Telefone:
 Ponto de referência:

Contato de urgência: Profª. Dra. Isabella Lopes Monlleó/Profª. Dra. Susane Vasconcelos Zanotti. Endereço: Serviço de Genética Clínica, Campus A.C. Simões S/no. Cidade Universitária, Tabuleiro dos Martins, Maceió, Tel: 3202-3774

Endereço d(os,as) responsável(is) pela pesquisa: Instituição: Universidade Federal de Alagoas
 Endereço: Campus A.C. Simões S/no. Cidade Universitária – Instituto de Psicologia,
 Bairro: CEP: Cidade: Tabuleiro dos Martins, Maceió, Telefones p/contato: 32141786/32023896

ATENÇÃO: Para informar ocorrências irregulares ou danos durante a sua participação no estudo, dirija-se ao: Comitê de Ética em Pesquisa (CEP), pertencente à Universidade Federal de Alagoas, Campus A.C. Simões S/no. Cidade Universitária, Tel.: 32141041 Email: comitedeetica@ufal.br.

	 Isabella Monlleó Geneticista CRP-AL 3514
(Assinatura ou impressão datiloscópica d(o,a) voluntário(o,a))	Nome e Assinatura do(s) responsável(is) pelo estudo

Anexo II: Termo de Consentimento Livre e Esclarecido 2021 – 2026.

Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (T.C.L.E.) – para participantes da pesquisa

O Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) é um colegiado interdisciplinar e independente, presentes nas instituições que realizam pesquisas. Foi criado para defender os interesses dos participantes da pesquisa em sua integridade e dignidade e para contribuir no desenvolvimento da pesquisa dentro de padrões éticos. O CEP é responsável pela avaliação e acompanhamento dos aspectos éticos de todas as pesquisas, incluindo pesquisas com seres humanos, visa salvaguardar a dignidade, os direitos, a segurança e o bem-estar do participante da pesquisa.

Eu, _____ aceito participar como voluntário do estudo realizado no Hospital Universitário da Prof. Alberto Antunes – Universidade Federal de Alagoas (HUPAA-UFAL), intitulado: “Distúrbios da diferenciação do sexo em Alagoas: da atenção primária ao diagnóstico etiológico e tratamento multidisciplinar”. Recebi de Reginaldo José Petrolí/Isabella Lopes Monlleó/Marshall Ítalo Barros Fontes/Reinaldo Luna de Omena Filho/Camila Maia Costa de Queiroz Souto, responsáveis pela execução da pesquisa, as seguintes informações que me fizeram entender sem dificuldades e sem dúvidas os seguintes aspectos:

- Que o estudo se destina a conhecer as características clínicas e as causas dos Distúrbios da Diferenciação do Sexo.
- Que a importância deste estudo é reconhecer as especificidades desses distúrbios na população de Alagoas.
- Que os resultados que se desejam alcançar são: conhecer as características demográficas e genético-clínicas de DDS na população de Alagoas, bem como as implicações desse tipo de distúrbio genético.
- **Que esse estudo começará em maio de 2021 e terminará em maio de 2026.**
- Que o estudo será feito da seguinte maneira: coleta de dados clínicos e familiares por meio de entrevista, exame físico por médico geneticista e atendimento psicológico. Essa etapa será realizada durante consulta ambulatorial, no serviço de genética clínica do HUPAA-UFAL, previamente agendada, com duração de aproximadamente 60 minutos. Para auxiliar a elucidação diagnóstica e aconselhamento genético, será realizado:
 - heredograma, para identificar os indivíduos na família;
 - cariótipo, para determinar a constituição cromossômica;
 - **Exames hormonais para estabelecimento do perfil hormonal;**
 - **Ultrassonografia abdominal como exame de imagem do trato genito-urinário;**
 - Exames moleculares, para identificar possíveis alterações no material genético. **(Para a realização dos exames moleculares, o material biológico poderá ser enviado para a Universidade Estadual de Campinas - São Paulo ou outro laboratório particular, com única e exclusiva finalidade de realização de exames que não são realizados no Laboratório de Genética Molecular Humana do HUPAA/UFAL. Após a utilização do material biológico, o mesmo será descartado).**
- **Que participarei das seguintes etapas: atendimento clínico, entrevista e exames de cariótipo, hormonais, imagem e moleculares.**
- Que não há outros meios conhecidos para se obter os mesmos resultados.
- **Que os incômodos que posso sentir com minha participação** são: durante a coleta de sangue, que será utilizado para exame de cariótipo, hormonal e molecular, posso sentir dor no local da picada da agulha. Depois poderão surgir manchas roxas no mesmo local. Em todas essas situações, me foi garantido que a equipe tomará as providências para que estes incômodos sejam mínimos.
- **Que devo** contar com assistência dos responsáveis pela pesquisa, caso tenha dúvidas em relação a mesma, podendo entrar em contato com eles através dos telefones cujo números encontram-se adiante neste documento.
- Que os benefícios **que devo esperar com minha participação** são: **diagnóstico, tratamento, aconselhamento genético e atendimento psicológico. Além disso, os benefícios indiretos são: contribuição para** o maior entendimento sobre os casos de DDS em Alagoas e o aumento nas produções científicas pertinentes ao tema, possibilitando maiores discussões e o aperfeiçoamento do atendimento das pessoas com DDS e seus familiares bem como ampliação do conhecimento atual sobre esses distúrbios em vista do planejamento de políticas públicas de saúde.
- **Que serei informado sobre o resultado final desta pesquisa**, e sempre que desejar:
 - Serão fornecidos esclarecimentos sobre as etapas do estudo;
 - A qualquer momento poderei me recusar a continuar participando da pesquisa e, também, que poderei

retirar meu consentimento, sem que isso me traga qualquer penalidade ou prejuízo;

1 de 2


- Que as informações conseguidas através da minha participação não permitirão identificação, exceto aos responsáveis pelo estudo, e que a divulgação das mencionadas informações só serão feitas entre os profissionais estudiosos do assunto.
- Que eu não terei qualquer despesa com minha participação **nesse estudo e, que poderei ser indenizado por danos que venha a sofrer pela mesma razão.**
- **Que eu receberei uma via assinada do presente Termo de Consentimento Livre e Esclarecido.**
- Finalmente, tendo compreendido perfeitamente tudo o que me foi informado sobre minha participação no mencionado estudo e estando consciente dos nossos direitos, das nossas responsabilidades, dos riscos e dos benefícios que essa participação implica, **concordo em participar desse estudo e, portanto, DOU O MEU CONSENTIMENTO, SEM QUE PARA ISSO EU TENHA SIDO FORÇADO(A) OU OBRIGADO(A).**
- Este TCLE será impresso em duas VIAS (e não "CÓPIA"), que serão assinadas ao final pelo participante da pesquisa, ou por seu representante legal, assim como pelo pesquisador responsável, ou pelas pessoas por ele delegadas (Resolução CNS no 466 de 2012, item IV.5.d)

<p>• Endereço do(a) participante: Domicílio: (rua, praça, conjunto):</p> <p>Bloco: /Nº: /Complemento: Bairro: /CEP/Cidade: /Telefone:</p> <p>Ponto de referência:</p>
--

<p>Contato de urgência: Prof. Dr. Reginaldo José Petrolli/ Profa. Dra. Isabella Lopes Monlleó/ Prof. Dr Marshall Ítalo Barros Fontes/ Prof. Dr Reinaldo Luna de Omena Filho/ Profa. Dra. Camila Maia Costa de Queiroz Souto. Endereço: Serviço de Genética Clínica, Hospital Universitário Prof. Alberto Antunes/Universidade Federal de Alagoas, Campus A.C. Simões. Avenida Lourival Melo Mota S/N, Bairro: Tabuleiro dos Martins, Maceió-AL, Brasil, CEP: 57072-970. Telefone p/contato: (82)32023896 / (82)32023774</p>
--

<p>Endereço d(os,as) responsável(is) pela pesquisa (OBRIGATÓRIO): Universidade Federal de Alagoas - Faculdade de Medicina Avenida Lourival Melo Mota S/N, Bairro: Tabuleiro dos Martins, Maceió-AL, Brasil, CEP: 57072-970 Telefone p/contato: 32023896 / 32141858 – E-mail: reginaldo.petroli@famed.ufal.br</p>

<p>ATENÇÃO: Para informar ocorrências irregulares ou danosas durante a sua participação no estudo, dirija-se ao: Comitê de Ética em Pesquisa (CEP), pertencente à Universidade Federal de Alagoas. Campus A.C. Simões S/no. Cidade Universitária. Tel.: 32141041 Email: comitedeetica@ufal.br.</p>

<p>Assinatura ou impressão datiloscópica d(o,a) participante da pesquisa.</p>	
	<p>Nome e Assinatura do(s) responsável(is) pelo estudo</p>

2 de 2

Anexo III: Parecer do Comitê de Ética e Pesquisa CAAE: 59929716.8.0000.5013.

UNIVERSIDADE FEDERAL DE
ALAGOAS



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: Caracterização de Distúrbios da Diferenciação do Sexo em Alagoas: uma abordagem multidisciplinar no SUS

Pesquisador: SUSANE VASCONCELOS ZANOTTI

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

Versão: 1

CAAE: 59929716.8.0000.5013

Instituição Proponente: Universidade Federal de Alagoas

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 1.753.489

Apresentação do Projeto:

O presente projeto amplia as investigações, iniciadas em 2009, a partir do anseio de pesquisadores em modificar o panorama do atendimento a pacientes com diagnóstico de distúrbios da diferenciação do sexo em Alagoas. Sendo assim, enfatiza a importância de uma abordagem multidisciplinar no atendimento a casos de distúrbios da diferenciação do sexo, em virtude de sua complexidade quanto ao diagnóstico, tratamento, e seus efeitos subjetivos para pais e pacientes. Tem como objetivos: (1) descrever as características clínicas e etiológicas de pessoas com diagnóstico de Distúrbios da Diferenciação do sexo atendidas no SGC/HUPAA-UFAL; (2) atualizar e ampliar o banco de dados de pacientes com Distúrbios da Diferenciação do sexo em Alagoas; (3) examinar a particularidade da puberdade em casos de Distúrbios da Diferenciação do Sexo e suas implicações para os pacientes; (4) aprofundar o estudo psicanalítico sobre a puberdade em casos de Síndrome de Turner, especialmente no que se refere ao corpo e à sexualidade feminina; (5) reunir informações para subsidiar o planejamento da atenção à saúde de pessoas com DDS no SUS em Alagoas. Métodos: pesquisa observacional com amostra a ser constituída por sujeitos com DDS em qualquer idade, com ou sem anormalidades da morfologia genital externa. Para coleta de dados será utilizado protocolo clínico; exames clínicos e

Endereço: Av. Lourival Melo Mota, s/n - Campus A - C. Simões,
Bairro: Cidade Universitária **CEP:** 57.072-900
UF: AL **Município:** MACEIO
Telefone: (82)3214-1041 **E-mail:** comitedeeticaufal@gmail.com

Continuação do Parecer: 1.753.489

laboratoriais; entrevista clínica e/ou grupo de fala com pacientes púberes e/ou com diagnóstico de Síndrome de Turner; oficina sobre DDS com profissionais das principais maternidades da rede pública de Maceió. As características etiológicas serão estudadas com base na análise de heredograma, cariótipo de sangue periférico e, quando pertinente, técnicas moleculares. A análise do material reunido sobre a puberdade em casos de DDS e suas implicações para os pacientes será realizada a partir da leitura psicanalítica sobre a saída da infância, a diferença dos sexos, o despertar para o mal-estar e a exigência de um trabalho psíquico. Por meio desta nova abordagem acredita-se que será possível ampliar o conhecimento sobre as características demográficas, clínicas e etiológicas de DDS na população de Alagoas, bem como a particularidade da puberdade em casos de Distúrbios da Diferenciação do Sexo e suas implicações para os pacientes. Palavras-chave: psicologia, genética, endocrinopediatria, distúrbios da diferenciação do sexo.

Objetivo da Pesquisa:

Objetivo Primário: Objetivo geral: Analisar as principais características de Distúrbios da Diferenciação do Sexo (DDS) em Alagoas, a partir do aporte multidisciplinar dos aspectos clínicos e laboratoriais.

Objetivo Secundário: Objetivos específicos: (1) Descrever as características clínicas e etiológicas de pessoas com diagnóstico de Distúrbios da Diferenciação do sexo atendidas no SGC/HUPAA-UFAL. (2) Atualizar e ampliar o banco de dados de pacientes com Distúrbios da Diferenciação do sexo em Alagoas. (3) Examinar a particularidade da puberdade em casos de Distúrbios da Diferenciação do Sexo e suas implicações para os pacientes. (4) Aprofundar o estudo psicanalítico sobre a puberdade em casos de Síndrome de Turner, especialmente no que se refere ao corpo e à sexualidade feminina. (5) Reunir informações para subsidiar o planejamento da atenção à saúde de pessoas com DDS no SUS em Alagoas

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Riscos: Os riscos que a pesquisa possa acarretar ao participantes caracterizam-se por alguns incômodos que ele(a) poderá sentir: um possível desconforto por envolver aspectos sobre a sua sexualidade; que, no entanto, ele(a) tem o direito de se recusar a responder, caso se sinta constrangido(a).

Benefícios: Quanto aos benefícios esperados com a pesquisa com a participação no estudo destaca-se a definição do seu diagnóstico e tratamento, aconselhamento genético e atendimento psicológico. Além disso, os benefícios indiretos são a contribuição das informações para

Endereço: Av. Lourival Melo Mota, s/n - Campus A - C. Simões,
 Bairro: Cidade Universitária CEP: 57.072-900
 UF: AL Município: MACEIO
 Telefone: (82)3214-1041 E-mail: comitedeeticaufal@gmail.com

Continuação do Parecer: 1.753.489

ampliação do conhecimento atual sobre esses distúrbios em vista do planejamento de políticas públicas de saúde.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

Trata-se de estudo transversal para aprofundar conhecimentos sobre os Distúrbios de Diferenciação do Sexo em Alagoas. Além disso procura identificar de forma multidisciplinar maneiras de aperfeiçoar o tratamento desta condição

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Adequadamente apresentados

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Por estar de acordo com as recomendações da Resolução 466/12 sugerimos sua aprovação

Considerações Finais a critério do CEP:

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BASICAS_DO_PROJETO_757506.pdf	15/09/2016 06:11:43		Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	ProjetoCEPfinal.pdf	15/09/2016 06:05:07	SUSANE VASCONCELOS ZANOTTI	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLEResponsaveisDDS2016.pdf	15/09/2016 06:02:42	SUSANE VASCONCELOS ZANOTTI	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLÉpacientesDDS2016.pdf	15/09/2016 06:02:12	SUSANE VASCONCELOS ZANOTTI	Aceito
Declaração de Instituição e Infraestrutura	TermoHUPAA.pdf	14/07/2016 15:57:07	SUSANE VASCONCELOS ZANOTTI	Aceito
Declaração de Pesquisadores	Termopesquisador.pdf	14/07/2016 15:55:15	SUSANE VASCONCELOS ZANOTTI	Aceito
Cronograma	CRONOGRAMA.pdf	14/07/2016 15:48:44	SUSANE VASCONCELOS ZANOTTI	Aceito
Folha de Rosto	Folhaderosto.pdf	14/07/2016 15:34:41	SUSANE VASCONCELOS ZANOTTI	Aceito

Endereço: Av. Lourival Melo Mota, s/n - Campus A - C. Simões,
 Bairro: Cidade Universitária CEP: 57.072-900
 UF: AL Município: MACEIO
 Telefone: (82)3214-1041 E-mail: comitedeeticaufal@gmail.com

UNIVERSIDADE FEDERAL DE
ALAGOAS



Continuação do Parecer: 1.753.489

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

MACEIO, 29 de Setembro de 2016

Assinado por:
Luciana Santana
(Coordenador)

Endereço: Av. Lourival Melo Mota, s/n - Campus A - C. Simões,
Bairro: Cidade Universitária **CEP:** 57.072-900
UF: AL **Município:** MACEIO
Telefone: (82)3214-1041 **E-mail:** comitedeeticaufal@gmail.com

Anexo IV: Parecer do Comitê de Ética e Pesquisa CAAE: 40078620.4.0000.5013.

UNIVERSIDADE FEDERAL DE
ALAGOAS



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: Distúrbios da diferenciação do sexo em Alagoas: da atenção primária ao diagnóstico etiológico e tratamento multidisciplinar

Pesquisador: Reginaldo José Petrolí

Área Temática: Genética Humana:

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

Versão: 2

CAAE: 40078620.4.0000.5013

Instituição Proponente: UNIVERSIDADE FEDERAL DE ALAGOAS

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 4.598.307

Apresentação do Projeto:

Os Distúrbios da Diferenciação do Sexo (DDS) são condições congênitas complexas, onde o desenvolvimento do sexo cromossômico, gonadal e anatômico é atípico. A avaliação multidisciplinar de pessoas com DDS é tarefa fundamental e indispensável para o correto diagnóstico e melhor prognóstico das famílias afetadas. Em Alagoas, a atenção dos casos de DDS por equipe multidisciplinar iniciaram em 2008, o que possibilitou o atendimento de aproximadamente 250 famílias até o presente. da iniciativa de professores dos cursos de Psicologia e Medicina da Universidade Federal de Alagoas e UNCISAL, respectivamente. Em 2009-2011, a primeira investigação no âmbito do Programa de Pesquisas para o SUS (PPSUS), "Atenção integrada em saúde a pacientes com ambiguidade genital em hospital terciário do SUS em Alagoas" (ZANOTTI, 2011) analisou os resultados de uma proposta de atendimento clínico integrado a participantes da pesquisa com quadro de anormalidade genital. Os resultados demonstraram que a interlocução entre os profissionais estruturou, sistematizou e padronizou a rotina de atendimento integrado no ambulatório de genética e possibilitou uma prática clínica menos fragmentada e orientada pela especificidade de cada caso. Em 2013-2015, a segunda pesquisa no âmbito do PPSUS, "Distúrbios da diferenciação do sexo em Alagoas: abordagem clínica no SUS" (ZANOTTI, 2015) propôs a ampliação do primeiro estudo, para abranger casos de DDS que

Endereço: Av. Lourival Melo Mota, s/n - Campus A. C. Simões,

Bairro: Cidade Universitária **CEP:** 57.072-900

UF: AL **Município:** MACEIO

Telefone: (82)3214-1041

E-mail: comitedeeticaufal@gmail.com

Continuação do Parecer: 4.508.307

se manifestam como alterações da diferenciação sexual secundária e da fertilidade. Assim, ampliou o número e o recorte diagnóstico da base de dados criada na pesquisa anterior, e abarcou os DDS com alterações dos cromossomos sexuais – 47,XXY (Síndrome de Klinefelter), 45,X (Síndrome de Turner), 45,X/46,XY (Disgenesia gonadal mista) e 46,XX/46,XY (quimerismo). Esse estudo possibilitou, na interface da medicina com a psicologia, a caracterização clínica e etiológica de pessoas com DDS atendidas no SGC/HUPAA-UFAL; a análise dos efeitos subjetivos do diagnóstico para os participantes da pesquisa, especialmente no que se refere à diferença sexual, à angústia e à relação que estabelecem com o próprio corpo. Além disso, auxiliou a manutenção do serviço de referência no Estado de Alagoas para pessoa com DDS, ao viabilizar a realização de exames essenciais para a investigação diagnóstica, como o cariótipo, e, a atenção integrada em saúde por médicos e psicólogos. A última pesquisa no PPSUS, “Caracterização de Distúrbios da diferenciação do sexo em Alagoas: uma abordagem multidisciplinar no SUS” (ZANOTTI, 2018) tomou os resultados das pesquisas anteriores como referenciais e propôs uma outra ampliação: o aporte multidisciplinar dos aspectos clínicos e laboratoriais. Novamente na interface da medicina com a psicologia, a equipe técnica foi constituída por profissionais/pesquisadores de três Universidades distintas e de diferentes especialidades: genética clínica; genética molecular; endocrinopediatria; citogenética e psicologia. A partir da investigação diagnóstica; dos resultado dos exames laboratoriais e da decisão tomada a partir do mesmo; das falas dos participantes da pesquisa sobre o diagnóstico de distúrbios da diferenciação do sexo e os impasses da puberdade, foi possível ampliar o conhecimento sobre as características demográficas, clínicas e etiológicas de DDS na população de Alagoas, bem como a particularidade da puberdade em casos de Distúrbios da Diferenciação do Sexo e suas implicações. A presente proposta visa a continuidade das ações de saúde relacionadas aos DDS, tomando como referência as experiências das edições PPSUS acima citadas, propõe a manutenção do atendimento integrado e parcerias intra e interinstitucionais, além de ampliar os cenários de atendimento para o Programa Nacional de Triagem Neonatal de Alagoas e Núcleo de Atenção à Saúde da Família da capital e interior e interior do estado. Trata-se de pesquisa observacional com amostra a ser constituída por pessoas com suspeita de Distúrbio da Diferenciação do Sexo (DDS), em qualquer idade, com ou sem anormalidades genitais. Com base na taxa de nascimentos em Alagoas, na prevalência de DDS e na demanda espontânea ao SGC/HUPAA-UFAL, estima-se a inclusão de 50 casos. Durante a realização do projeto, será associado à prática médica de consulta ambulatorial e acolhimento com equipe da psicologia. O primeiro passo da investigação laboratorial do diagnóstico consistirá na realização de exame de cariótipo para todos os participantes da pesquisa. Esta etapa será

Endereço: Av. Lourival Melo Mota, s/n - Campus A - C. Simões,
Bairro: Cidade Universitária **CEP:** 57.072-900
UF: AL **Município:** MACEIO
Telefone: (82)3214-1041 **E-mail:** comitedeeticaufal@gmail.com

Continuação do Parecer: 4.598.307

realizada na Uncisal, utilizando as técnicas de bandamento G (Giemsa). A partir do cariótipo serão realizados: (1) perfil hormonal (eixo hipotálamohipófise-gônadas/supra-renais) e (2) ultrassonografia do trato geniturinário (3) exame molecular, conforme indicação, como por exemplo: Reação em cadeia da polimerase (PCR), sequenciamento pelo método Sanger, MLPA, Sequenciamento de exoma. Para os exames moleculares, será extraído o DNA dos participantes da pesquisa, através da técnica fenólica já implantada no Serviço de genética clínica do Hospital Universitário Professor Alberto Antunes da UFAL (SGC/HUPAA/UFAL). Os DNAs extraídos serão utilizados para a elucidação etiológica dos casos triados pela casa do pezinho para a hiperplasia adrenal congênita (HAC) e dos casos novos atendidos no SGC/HUPAA/UFAL. Abordagens inovadoras para o diagnóstico dos casos de DDS são fundamentais para a elucidação diagnóstica. Nesse sentido, após avaliação de cada caso por equipe multidisciplinar, composta por especialistas com ampla expertise no assunto, será traçada e estratégia para a elucidação etiológica dos casos novos e dos casos e idiopáticos. Para os casos triados para HAC pelo programa Nacional de Triagem neonatal de Alagoas, será realizada a investigação de mutações frequentes no gene CYP21A2, através da PCR Alelo Específico. Essa etapa será realizada no SGC/HUPAA/UFAL. Para os casos de HAC que não apresentarem alterações pela PCR, será realizado o sequenciamento completo e MLPA do gene CYP21A2. Uma das metas desse projeto é a implementação do sequenciamento do CYP21A2 no SGC/UFAL. Como trata-se de uma técnica complexa, a equipe executora do CBMEG/UNICAMP, que apresenta vasto conhecimento nesse tipo de exame, auxiliará nos ensaios e realizará a contraprova dos resultados. A coleta de dados clínicos e familiares serão obtidos da partir dos seguintes instrumentos: protocolo utilizado no ambulatório de genética do HUPAA, testado e aplicado em estudo anterior (Gazzaneo, et. al, 2015). Para os casos idiopáticos, será realizado o sequenciamento do exoma, uma técnica robusta que identifica alteração em todos o genes do genoma humano. Essa técnica está sendo usado para casos idiopáticos e tem facilitado a elucidação etiológica dos casos de DDS. Essa etapa será realizada em laboratórios particulares e a validação dos dados será realizada no CBMEG/UNICAMP e SGC/HUPAA/UFAL. Visando ampliar e compartilhar o conhecimento acerca da atenção à saúde de pessoas com DDS no SUS, será realizada oficina sobre DDS nos programas de residência em pediatria de Alagoas e para psicólogos dos núcleos de atenção à saúde da família da capital e interior de Alagoas. Na última etapa da metodologia, a equipe se dedicará à produção do relatório através da organização das discussões dos resultados provenientes dos diferentes métodos utilizados. Critério de Inclusão: Pessoas com suspeita de Distúrbio da Diferenciação do Sexo, em qualquer idade, com ou sem anormalidades genitais, oriundos do Serviço de Genética Clínica do Hospital Universitário Professor

Endereço: Av. Lourival Melo Mota, s/n - Campus A - C. Simões,
Bairro: Cidade Universitária **CEP:** 57.072-900
UF: AL **Município:** MACEIO
Telefone: (82)3214-1041 **E-mail:** comitedeeticaufal@gmail.com

UNIVERSIDADE FEDERAL DE
ALAGOAS



Continuação do Parecer: 4.598.307

Alberto Antunes da UFAL e do Programa Nacional de Triagem Neonatal de Alagoas. Critério de Exclusão: Serão excluídos natimortos e casos de malformações múltiplas.

Objetivo da Pesquisa:

Objetivo Primário: Ampliar e descentralizar a atenção à saúde dos casos de distúrbio da diferenciação do sexo atendidos no SUS em Alagoas.

Objetivo Secundário:

1 – Descrever as características clínicas e etiológicas dos casos de Distúrbio da Diferenciação do Sexo (DDS) atendidos no SUS em Alagoas, com informações adquiridas durante o atendimento por equipe multidisciplinar e resultados dos exames complementares para a elucidação etiológica.

2 - Atualizar o banco de dados sobre Distúrbio da Diferenciação do Sexo em Alagoas, com informações colhidas durante o atendimento e estudo de cada caso, com informações sociodemográficas, clínicas, citogenéticas e moleculares.

3 - Compor um banco de dados único para os casos de HAC de Alagoas. Considerando que o PNTN e o serviço de genética clínica do HUPAA reúnem todos os casos de HAC atendidos pelo SUS em Alagoas, será criado um banco de dados único, com informações sociodemográficas, clínicas, citogenéticas e moleculares de cada caso. Isso facilitará o entendimento sobre suas particularidades, além de facilitar o planejamento de ações, no âmbito do SUS, para esses casos. 4 – Descrever os efeitos das reuniões do grupo de DDS no atendimento dos casos por equipe multidisciplinar, através de reuniões clínicas, com periodicidade mensal, com os integrantes do grupo multidisciplinar de DDS/HUPAA/UFAL. A partir do registro escrito das reuniões, será realizada análise qualitativa das reuniões multidisciplinares, considerando: as demandas endereçadas ao ambulatório de DDS; a discussão de casos clínicos e a direção do tratamento; os impasses na atenção integrada em saúde.

5 - Descentralizar ações de saúde para os casos de DDS de Alagoas, através do intercâmbio de experiência entre o grupo multidisciplinar de DDS do HUPAA com profissionais do Programa Nacional de Triagem Neonatal (PNTN) de Alagoas e Núcleo de Apoio à Saúde da Família (NASF) da capital e interior do estado. Para atingir esse objetivo, será realizado curso de capacitação para os profissionais de saúde do PNTN e NASF.

6 - Reunir informações para subsidiar o planejamento da atenção à saúde de pessoas com DDS no SUS em Alagoas, através das informações descritas nos objetivos anteriores e das reuniões multidisciplinares.

Endereço: Av. Lourival Melo Mota, s/n - Campus A - C. Simões,
Bairro: Cidade Universitária **CEP:** 57.072-900
UF: AL **Município:** MACEIO
Telefone: (82)3214-1041 **E-mail:** comitedeeticaufal@gmail.com

Continuação do Parecer: 4.598.307

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Riscos: As amostras de sangue periférico serão obtidas por punção venosa, com risco muito baixo. O risco da coleta de sangue pode incluir hiperemia local transitória, hematoma, celulite ou flebite. O desconforto será mínimo, pois a coleta será realizada por profissional treinado ou pelo responsável pelo projeto, devidamente habilitados para este procedimento. Medidas de proteção: assepsia e antissepsia do local para a coleta de amostra de sangue e utilização de materiais descartáveis. A Ultrassonografia não apresenta risco ao paciente, exceto às crianças que necessitarem de sedação para realização do exame. Contudo, a sedação é de baixo risco e realizada na presença de médico e de equipamento de segurança necessários. **Benefícios:** Como benefícios, podemos elencar: aumento nas produções científicas pertinentes ao tema, possibilitando maiores discussões e o aperfeiçoamento do atendimento de pessoas com DDS e seus familiares bem como ampliação do conhecimento atual sobre esses distúrbios em vista do planejamento de políticas públicas de saúde.

Benefícios:

Como benefícios, podemos elencar: aumento nas produções científicas pertinentes ao tema, possibilitando maiores discussões e o aperfeiçoamento do atendimento de pessoas com DDS e seus familiares bem como ampliação do conhecimento atual sobre esses distúrbios em vista do planejamento de políticas públicas de saúde.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

O presente estudo se encontra de acordo com a Resolução 466/12.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Sem óbice ético.

Recomendações:

-

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

PENDÊNCIAS NO PROJETO

- Recrutamento do participante e aquisição do TCLE - Solicita-se que o termo "paciente/sujeito/voluntário" seja substituído pelo termo "participante da pesquisa" ao longo do texto, conforme definição disposta no item II.10 da Resolução CNS n. 466 de 2012 e art. 2º, XIII da

Endereço: Av. Lourival Melo Mota, s/n - Campus A - C. Simões,
Bairro: Cidade Universitária **CEP:** 57.072-900
UF: AL **Município:** MACEIO
Telefone: (82)3214-1041 **E-mail:** comitedeeticaufal@gmail.com

Continuação do Parecer: 4.598.307

Resolução CNS n. 510 de 2016: descrever essa etapa;

- Razões para utilização de grupos vulneráveis: descrever - PENDÊNCIA ATENDIDA

- CRITÉRIOS PARA SUSPENDER A PESQUISA incluir PENDÊNCIA ATENDIDA

PENDÊNCIA DOCUMENTAL

- Autorizações: arquivo de Autorização da pesquisa não está abrindo. Reanexá- lo - PENDÊNCIA ATENDIDA

- INSTRUMENTO DA PESQUISA: incluir, com a opção "Não desejo responder" no Instrumento de coleta de dados - PENDÊNCIA ATENDIDA

IMPORTANTE: TODOS OS ARQUIVOS ANEXADOS A PLATAFORMA devem permitir o uso dos recursos "copiar" e "colar" em qualquer palavra ou trecho do texto (Norma Operacional CNS nº 001 de 2013, anexo II - PENDÊNCIA ATENDIDA

- lista de checagem para protocolos de pesquisa). PENDÊNCIA ATENDIDA

- Arquivos dos pesquisadores e instituições participantes e coparticipantes estão violados. Reanexá- los - PENDÊNCIA ATENDIDA

PENDÊNCIAS NO TCLE

- O arquivo anexado a plataforma permite recurso "COPIAR" e "COLAR" - O arquivo deve permitir o uso dos recursos "copiar" e "colar" em qualquer palavra ou trecho do texto (Norma Operacional CNS nº 001 de 2013, anexo II - lista de checagem para protocolos de pesquisa): - Rever, pois o arquivo do TCLE não permite a opção copiar e colar - PENDÊNCIA ATENDIDA

- Nomenclatura relativa ao participante da pesquisa - Solicita-se que o termo "paciente/sujeito/voluntário" seja substituído pelo termo "participante da pesquisa" ao longo do texto do TCLE, conforme definição disposta no item II.10 da Resolução CNS nº 466 de 2012: rever em seu texto. PENDÊNCIA ATENDIDA

- Numeração de página - Todas as páginas devem ser enumeradas, com a quantidade total delas, como, por exemplo: "1 de 3" e assim sucessivamente, até a página "3 de 3": rever em seu texto - Linguagem acessível: rever linguagem para que haja compreensão dos participantes da pesquisa - PENDÊNCIA ATENDIDA

- Período do estudo: -Rever o início da coleta de dados, considerando Maio/2020 para o início das atividades do PPSUS - PENDÊNCIA ATENDIDA

- Justificativa, objetivos e procedimentos - Quanto aos procedimentos, descrever no TCLE os procedimentos a serem realizados na pesquisa, pontuando quais análises serão realizadas e o

Endereço: Av. Lourival Melo Mota, s/n - Campus A. C. Simões,

Bairro: Cidade Universitária

CEP: 57.072-900

UF: AL

Município: MACEIO

Telefone: (82)3214-1041

E-mail: comitedeeticaufal@gmail.com

Continuação do Parecer: 4.598.307

objetivo de cada análise (Resolução CNS nº 466 de 2012, item IV.3.a). Quanto ao esclarecimento do participante, os procedimentos adotados no estudo devem ser explicitados de forma menos sintética no TCLE, informando-se, por exemplo,

o local e o momento em que ocorrerão as entrevistas/questionário/grupo focal, bem como seu tempo de duração e os tópicos a serem abordados: incluir. **PENDÊNCIA ATENDIDA**

- Deixar mais claro todas etapas e procedimentos a serem realizados com os participantes da pesquisa, pois no item "que eu participarei da seguinte forma: entrevista" não explicita todos os procedimentos a serem realizados; **PENDÊNCIA ATENDIDA**

- Rever os incômodos no TCLE – PACIENTES – pois se refere ao TCLE de responsáveis (vide trecho– "... um possível desconforto por envolver aspectos da sexualidade do meu filho(a)..." e não está de acordo com o texto descrito no projeto de pesquisa. **PENDÊNCIA ATENDIDA**

- Incluir uma breve descrição do que é o CEP e qual a sua função - O TCLE deve conter uma breve descrição do que é o CEP e qual a sua função - **PENDÊNCIA ATENDIDA**

- Garantia que o documento será emitido em duas vias - Solicita-se que conste neste documento informação de que o TCLE é elaborado em duas VIAS (e não "CÓPIA"), que deverão ser assinadas ao final pelo convidado a participar da pesquisa, ou por seu representante legal, assim como pelo pesquisador responsável, ou pelas pessoas por ele delegadas (Resolução CNS nº 466 de 2012, item IV.5.d): incluir - **PENDÊNCIA ATENDIDA**

Considerações Finais a critério do CEP:

Ilmo. Prof. Reginaldo José Petrolli, lembre-se que, segundo a Res. CNS 466/12:

O Participante da pesquisa tem a liberdade de recusar-se a participar ou de retirar seu consentimento em qualquer fase da pesquisa, sem penalização alguma e sem prejuízo ao seu cuidado e deve receber cópia do TCLE, na íntegra, por ele assinado, a não ser em estudo com autorização de declínio;

V.Sª. deve desenvolver a pesquisa conforme delineada no protocolo aprovado e descontinuar o estudo somente após análise das razões da descontinuidade por este CEP, exceto quando perceber risco ou dano não previsto ao sujeito participante ou quando constatar a superioridade de regime oferecido a um dos grupos da pesquisa que requeiram ação imediata;

Endereço: Av. Lourival Melo Mota, s/n - Campus A - C. Simões,
Bairro: Cidade Universitária **CEP:** 57.072-900
UF: AL **Município:** MACEIO
Telefone: (82)3214-1041 **E-mail:** comitedeeticaufal@gmail.com

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE
ALAGOAS**



Continuação do Parecer: 4.598.307

O CEP deve ser imediatamente informado de todos os fatos relevantes que alterem o curso normal do estudo. É responsabilidade do pesquisador assegurar medidas imediatas adequadas a evento adverso ocorrido e enviar notificação a este CEP e, em casos pertinentes, à ANVISA;

Eventuais modificações ou emendas ao protocolo devem ser apresentadas ao CEP de forma clara e sucinta, identificando a parte do protocolo a ser modificada e suas justificativas. Em caso de projetos do Grupo I ou II apresentados anteriormente à ANVISA, o pesquisador ou patrocinador deve enviá-las também à mesma, junto com o parecer aprovatório do CEP, para serem juntadas ao protocolo inicial;

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_PROJETO_1653823.pdf	22/01/2021 15:41:13		Aceito
Outros	CARTA_RESPOSTA_PPSUS_DDS.pdf	22/01/2021 15:37:47	Reginaldo José Petrolí	Aceito
Brochura Pesquisa	brochura_atualizada.pdf	22/01/2021 15:20:37	Reginaldo José Petrolí	Aceito
Outros	HUPAA_COEXECUTORA.pdf	22/01/2021 15:04:13	Reginaldo José Petrolí	Aceito
Outros	Unicamp_COEXECUTORA.pdf	22/01/2021 15:03:37	Reginaldo José Petrolí	Aceito
Outros	Uncisal_COEXECUTORA.pdf	22/01/2021 15:03:13	Reginaldo José Petrolí	Aceito
Outros	SESAU_COEXECUTORA.pdf	22/01/2021 15:02:48	Reginaldo José Petrolí	Aceito
Declaração de Pesquisadores	ALESSANDRA.pdf	22/01/2021 14:54:39	Reginaldo José Petrolí	Aceito
Declaração de Pesquisadores	ANDREA.pdf	22/01/2021 14:53:46	Reginaldo José Petrolí	Aceito
Declaração de Pesquisadores	ISABELLA.pdf	22/01/2021 14:53:22	Reginaldo José Petrolí	Aceito
Declaração de Pesquisadores	MARICILDA.pdf	22/01/2021 14:52:59	Reginaldo José Petrolí	Aceito
Declaração de Pesquisadores	REINALDO.pdf	22/01/2021 14:52:43	Reginaldo José Petrolí	Aceito
Declaração de Pesquisadores	SUSANE.pdf	22/01/2021 14:52:23	Reginaldo José Petrolí	Aceito
Declaração de Pesquisadores	MARA.pdf	22/01/2021 14:52:07	Reginaldo José Petrolí	Aceito

Endereço: Av. Lourival Melo Mota, s/n - Campus A - C. Simões,
 Bairro: Cidade Universitária CEP: 57.072-900
 UF: AL Município: MACEIO
 Telefone: (82)3214-1041 E-mail: comitedeeticaufal@gmail.com

UNIVERSIDADE FEDERAL DE
ALAGOAS



Continuação do Parecer: 4.598.307

Declaração de Pesquisadores	GIL.pdf	22/01/2021 14:51:29	Reginaldo José Petrolí	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLE_atualizado.pdf	22/01/2021 11:21:23	Reginaldo José Petrolí	Aceito
Outros	Divulgacao.pdf	13/11/2020 17:04:23	Reginaldo José Petrolí	Aceito
Outros	Dados.pdf	13/11/2020 17:02:51	Reginaldo José Petrolí	Aceito
Outros	Normas.pdf	13/11/2020 16:59:35	Reginaldo José Petrolí	Aceito
Outros	Confidencialidade.pdf	13/11/2020 16:57:30	Reginaldo José Petrolí	Aceito
Folha de Rosto	Folhaderosto.pdf	13/11/2020 16:55:59	Reginaldo José Petrolí	Aceito
Declaração de Instituição e Infraestrutura	UFAL.pdf	13/11/2020 14:59:54	Reginaldo José Petrolí	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	brochura.pdf	08/11/2020 08:56:59	Reginaldo José Petrolí	Aceito

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

MACEIO, 18 de Março de 2021

Assinado por:
CAMILA MARIA BEDER RIBEIRO GIRISH PANJWANI
(Coordenador(a))

Endereço: Av. Lourival Melo Mota, s/n - Campus A - C. Simões,
Bairro: Cidade Universitária **CEP:** 57.072-900
UF: AL **Município:** MACEIO
Telefone: (82)3214-1041 **E-mail:** comiteeeticaufal@gmail.com