UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
CENTRO DE BIOCIÊNCIAS
DEPARTAMENTO DE GENÉTICA
CURSO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS - BACHARELADO

MARIA CECÍLIA MAGALHÃES LUCKWU

Síndrome de Down: investigação cromossômica e molecular

Recife
2025

MARIA CECÍLIA MAGALHÃES LUCKWU

Síndrome de Down: investigação cromossômica e molecular

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Curso de Bacharelado em Ciências Biológicas da Universidade Federal de Pernambuco, como requisito parcial para obtenção do título de Bacharel em Ciências Biológicas.

Orientadora: Profa. Dra. Neide Santos

Coorientadora: Dra. Juliana Vieira de Barros Arcoverde

Recife

2025

Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor,
através do programa de geração automática do SIB/UFPE

Luckwu, Maria Cecília Magalhães.
Síndrome de Down: investigação cromossômica e molecular / Maria Cecília Magalhães Luckwu. - Recife, 2025.
58 p. : il., tab.

Orientador(a): Neide Santos
Cooorientador(a): Juliana Vieira de Barros Arcoverde
Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação) - Universidade Federal de Pernambuco, Centro de Biociências, Ciências Biológicas - Bacharelado, 2025.
Inclui referências, anexos.

1. Bandeamento G. 2. Cariótipo. 3. Citogenética. 4. Cromossomo Y. 5. Infertilidade. 6. Trissomia 21. I. Santos, Neide. (Orientação). II. Arcoverde, Juliana Vieira de Barros. (Coorientação). IV. Título.

570 CDD (22.ed.)

MARIA CECÍLIA MAGALHÃES LUCKWU

Síndrome de Down: investigação cromossômica e molecular

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Curso de Bacharelado em Ciências Biológicas da Universidade Federal de Pernambuco, como requisito parcial para obtenção do título de Bacharel em Ciências Biológicas.

Aprovado em: 19/03/2025

BANCA EXAMINADORA

_____

Profa. Dra. Neide Santos (Orientadora)

Universidade Federal de Pernambuco

_____

Msc. Aldianne Milene dos Santos Barbosa (Examinador Interno)

Universidade Federal de Pernambuco

_____

Dra. Palloma Lima de Oliveira (Examinador Externo)

Universidade Federal de Pernambuco

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus e à toda a espiritualidade, pela vida e por me guiar em cada passo dessa jornada.

Agradeço aos meus pais, Celia Maria de Magalhães Luckwu e João Sotero Luckwu Neto, pelo amor e educação que me deram desde criança, por me incentivarem a ler e buscar sempre mais conhecimento através dos estudos. Obrigada por sempre acreditarem nos meus sonhos e me incentivarem a ir cada vez mais longe. Agradeço aos meus irmãos, Júlio Henrique e Maria Clara, por serem meu apoio e por me permitirem dividir meu cotidiano com vocês. Agradeço às minhas avós, tias, tios, primos, todos que um dia acreditaram em mim e de alguma forma me influenciaram a ser o que sou hoje.

Agradeço a todas as professoras de biologia que passaram pela minha vida e me despertaram o amor pela área, mas especialmente a Profa. Adriana Bispo, que abriu as portas para mim no mundo da pesquisa e fez eu me encontrar na genética. Você é uma das minhas maiores inspirações científicas.

Agradeço profundamente à Universidade Federal de Pernambuco, por todo o apoio, aprendizado e crescimento acadêmico, e ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), pela concessão da bolsa PIBIC, que me permitiu realizar esse trabalho ao longo de dois anos.

Agradeço à minha orientadora, Profa. Neide Santos, por ter me acolhido na vida acadêmica como uma filha, me conduzindo pelo melhor caminho e mostrando que a carreira científica pode, sim, ser prazerosa. Agradeço por todos os puxões de orelha, mas também por todos os abraços que a senhora me deu durante esses três anos sob sua orientação. Agradeço à minha coorientadora, Dra Juliana Arcoverde, por toda a cooperação para realizar esse trabalho, desde as coletas de sangue dos indivíduos até a correção dos meus textos. Obrigada por ter dado início à pesquisa com síndrome de Down no laboratório, que me permitiu fazer esse trabalho, e por todos os ensinamentos. Agradeço também aos meus colegas de trabalho do Laboratório de Genética e Citogenética Animal e Humana (LGCAH), o qual posso dizer que foi minha segunda casa durante a graduação: Patrick, Julieta, Emilly, Marcos, Aldianne, Carla. As fofocas e cafezinhos tornaram o trabalho no laboratório muito mais leve e divertido. Não posso deixar de mencionar a profa. Vilma e seus

alunos, que também se tornaram meus colegas e trazem sempre um clima amistoso para o laboratório.

Agradeço aos meus amigos mais antigos: Marina, Vanessa, Ian, Clara, Maria Laura, Mariana, Luane, Wendler e Sara. Obrigada pela amizade e apoio de vocês durante todos esses anos, mesmo que muitas vezes à distância. E obrigada por acharem o meu trabalho incrível, mesmo sem entender quase nada do que eu faço.

Por fim, mas não menos importante, quero agradecer aos amigos que fiz ao longo desses cinco anos de graduação e a todas as pessoas que passaram pela minha vida e, de alguma forma, ajudaram a tornar essa jornada mais leve. Obrigada por estarem presentes nos momentos de alegria e de surtos (que não foram poucos), compartilhando risadas, festas, fofocas, lágrimas ou somente a companhia. Em especial, quero agradecer a Arthur Roberto (Arthurzão), Arthur Cabral (Arthurzinho), Nathan, Albean, Gabriel, Tawana, Daniel, Ewelyn, Débora, Victor, Mayza, Aísha, Lucas e todos os outros que eu, porventura, venha a esquecer.

Aos membros da banca examinadora, por terem aceitado o convite e pela dedicação ao avaliar este trabalho.

Às pessoas com síndrome de Down e aos seus responsáveis pela confiança em nós depositada ao permitir a realização deste trabalho. Aos profissionais envolvidos, especialmente os da GURI e a Dra Bárbara Gomes, médica da Endocrinologia Pediátrica do HC/UFPE, por contribuírem com este projeto.

A todos que fizeram parte desse caminho, mesmo os que foram embora, saibam que levo você em meu coração.

Eu não tenho nada pra dizer
Por isso eu digo
Eu não tenho muito o que perder
Por isso jogo
Eu não tenho hora pra morrer
Por isso sonho
(Coisas da Vida, Rita Lee, 1976).

RESUMO

A síndrome de Down (SD) é a cromossomopatia mais predominante em recém-nascidos, afetando 1:800 nascidos vivos. É a causa genética mais comum de deficiência intelectual e de neurodesenvolvimento. As manifestações citogenéticas da SD incluem trissomia livre (~95%), translocações Robertsonianas (~4%) e mosaicismo cromossômico (~1%). Indivíduos do sexo masculino com SD frequentemente apresentam infertilidade, esse mecanismo ainda não foi elucidado, mas sabe-se que o cromossomo Y possui alguns genes importantes na fertilidade. Este trabalho buscou definir o cariótipo e investigar a presença de sequências dos genes *SRY*, *TSPY*, *DAZ* e *AMGY* em indivíduos com SD da região metropolitana do Recife, Pernambuco. As preparações cromossômicas foram obtidas de cultura de linfócitos de 68 indivíduos, e cerca de 20 metáfases foram analisadas por bandeamento G por paciente. Para a investigação molecular, o DNA genômico foi isolado a partir dos leucócitos do sangue periférico e submetido à técnica de PCR convencional. A análise citogenética confirmou o cariótipo dos 68 indivíduos com SD, sendo 88,2% casos de trissomia livre, 8,8% mosaicismo e 2,9% translocação Robertsoniana. A proporção por sexo foi de 55,9% para o sexo masculino e 44,1% para o sexo feminino, com idade variando de 1-33 anos e uma média de ~8 anos. As sequências gênicas de 22 indivíduos do sexo masculino, com média de idade de 10 anos (1-15 anos), foram analisadas, dos quais 20 apresentaram trissomia livre, um apresentou mosaicismo e um apresentou translocação Robertsoniana. A investigação molecular revelou todas as sequências testadas intactas, não sendo possível uma associação com infertilidade nesses indivíduos. Sendo assim, evidenciamos a relevância da definição e caracterização citogenética dos indivíduos, bem como da investigação dos genes do Y, as quais podem ser importantes para construir medidas terapêuticas e preventivas na abordagem da síndrome de Down.

Palavras-chave: Bandeamento G; Cariótipo; Citogenética; Cromossomo Y; Infertilidade; Trissomia 21.

ABSTRACT

Down syndrome (DS) is the most prevalent chromosomal disorder in newborns, affecting 1 in 800 live births. It is the most common genetic cause of intellectual and neurodevelopmental disability. The cytogenetic manifestations of DS include free trisomy (~95%), Robertsonian translocations (~4%), and chromosomal mosaicism (~1%). Male individuals with DS often exhibit infertility; this mechanism has not yet been elucidated, but it is known that the Y chromosome contains some genes important for fertility. This study aimed to define the karyotype and investigate the presence of sequences of the genes *SRY*, *TSPY*, *DAZ*, and *AMGY* in individuals with DS from the metropolitan region of Recife, Pernambuco. Chromosomal preparations were obtained from lymphocyte cultures of 68 subjects, and about 20 metaphases were analyzed by G-banding per patient. For molecular investigation, genomic DNA was isolated from peripheral blood leukocytes and subjected to conventional PCR. Cytogenetic analysis confirmed the karyotype of the 68 individuals with DS, with 88.2% being free trisomy cases, 8.8% mosaicism, and 2.9% Robertsonian translocation. The sex ratio was 55.9% male and 44.1% female, with ages ranging from 1 to 33 years, and an average of ~8 years. The gene sequences of 22 male individuals, with an average age of 10 years (ranging from 1 to 15 years), were analyzed, of which 20 had free trisomy, one had mosaicism, and one had Robertsonian translocation. Molecular investigation revealed that all tested sequences were intact, and no association with infertility was found in these individuals. Thus, we highlight the importance of defining and characterizing the cytogenetics of individuals, as well as investigating Y chromosome genes, which may be crucial in developing therapeutic and preventive measures for Down syndrome.

Keywords: Karyotype; Cytogenetics; Y chromosome; Infertility; G Banding; Trisomy 21.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 –	Cariótipo 47,XY,+21 por bandeamento G. Fonte: LGCAH/UFPE.	**18**
Figura 2 –	Formas de ocorrência da meiose. (a) Meiose normal. (b) Não-disjunção na meiose I. (c) Não-disjunção na meiose II. Fonte: Adaptado de Jackson *et al*. (2018).	**19**
Figura 3 –	Fertilização de gametas. (a) A fertilização de um oócito normal com uma célula espermática normal leva à formação de um zigoto diploide (2n). (b) A fertilização de um oócito nulissômico leva à formação de um o zigoto monossômico para um cromossomo. (c, d) A fertilização de um oócito dissômico resulta em zigotos trissômicos. Fonte: Adaptado de Jackson *et al*. (2018).	**19**
Figura 4 –	Exemplo de translocação Robertsoniana envolvendo os cromossomos 14 e 21. Adaptado de Katagiri; Tamaki (2020).	**20**
Figura 5 –	Possíveis gametas para portadores de rob e configurações de zigotos após fecundação. Fonte: Adaptado de Kim *et al*. (2016).	**21**
Figura 6 –	Fatores de risco para a síndrome de Down. Fonte: Adaptado de Coppedè (2016).	**22**
Figura 7 –	Síndrome de Down. (a) Principais manifestações clínicas. (b) Fenótipo clássico da SD em uma criança do sexo feminino. Fonte: Adaptado de Antonarakis *et al*. (2020) e Moini; LoGalbo; Ahangari (2024).	**24**
Figura 8 –	Esquematização do cromossomo Y indicando os genes que codificam proteínas na região específica masculina do cromossomo Y. Fonte: Adaptado de Adaptado de Kido e Lau (2015).	**27**
Figura 9 –	Representação esquemática dos mecanismos moleculares do gene *DAZ*. (a) Homem saudável com espermatogênese normal; (b) Mecanismo patológico da deleção do AZFc. Fonte: Adaptado de Ou *et al*. (2024).	**32**

Figura 10 – Esquematização das regiões de microdeleções e deleções parciais do cromossomo Y. Fonte: Adaptado de Rabinowitz *et al*. (2021). **33**

Figura 11 – Eletroforese em gel de agarose utilizando os produtos da PCR com as sequências do cromossomo Y. A) Seta com S indicando a banda de 314 pb do *SRY*. B) Seta com T indicando a banda de 312 pb do *TSPY*. C) Seta com A indicando a banda de 367 pb do *AMGY* e seta com D indicando a banda de 210 pb do *DAZ*. A seta com B presente em todas as corridas indica a banda de 610 pb do gene da *β-globina*, usado como um controle positivo da reação. L (Ladder - marcador de peso molecular), escada de 100 pb. CN (Controle Negativo dos genes). CP (Controle Positivo dos genes). 1-4 (Pacientes com ST). BC (Reação em Branco). Fonte: LGCAH/UFPE. **37**

Figura 12 – Cariótipo com bandeamento G: 46,XY,+21,der(14;21)(q10;q10). Fonte: LGCAH/UFPE. **39**

Figura 13 – Cariótipo com bandeamento G 46,XY, dic(21),der(21;22)(q10;q10). Fonte: LGCAH/UFPE. **39**

Figura 14 – Translocações Robertsonianas com bandeamento C: A. +21der(14;21); B. +21der(21;22). Fonte: LGCAH/UFPE. **40**

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 –	Pares de *primers* utilizados para a amplificação dos genes *SRY*, *TSPY*, *AMGY*, *DAZ* e β-*globina*. Fonte: A autora (2024)	37
Tabela 2 –	Caracterização citogenética dos indivíduos com SD. Fonte: A autora (2024)	38
Tabela 3 –	Investigação dos genes *SRY*, *AMGY*, *DAZ* e *TSPY* do cromossomo Y em 25 indivíduos com SD do sexo masculino	41

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

21p	Braço curto do cromossomo 21
21q	Braço longo do cromossomo 21
AMELX	Gene da Amelogenina do X
AMGY	Gene da Amelogenina do Y
AZF	Fator de Azoospermia
DAZ	Deletado na Azoospermia
DDS	Distúrbios de diferenciação sexual
DM	Diabetes *mellitus*
DSCR	Região crítica para Síndrome de Down
FSH	Hormônio folículo-estimulante
GB	Gonadoblastoma
GBY	Gene de gonadoblastoma do cromossomo Y
GURI	Grupo Universitário de Reabilitação Infantil
HR-DSCR	Região altamente restrita para Síndrome de Down
HSA21	Cromossomo 21 Humano
ISCN	Sistema Internacional para Nomenclatura de Citogenômica Humana
LGCAH	Laboratório de Genética e Citogenética Animal e Humana
LH	Hormônio luteinizante
mRNA	Micro RNAs
MSY	Região específica do sexo masculino no Y
NAHR	Recombinação homóloga não alélica
PAR	Região pseudoautossômica
PCR	Reação em cadeia da polimerase
ROB	Translocação Robertsoniana
SCOS	Síndrome das células de Sertoli
SD	Síndrome de Down
SNP	Polimorfismo de base única
SRY	Região determinante do sexo no cromossomo Y
TSPY	Proteína específica do testículo ligada ao cromossomo Y
UFPE	Universidade Federal de Pernambuco

SUMÁRIO

1	**INTRODUÇÃO**	14
2	**OBJETIVOS**	16
2.1	Objetivo geral	16
2.2	Objetivos específicos	16
3	**REVISÃO DA LITERATURA**	17
3.1	Síndrome de Down	17
3.1.1	*Fatores de risco*	21
3.1.2	*Manifestações clínicas*	23
3.2	Cromossomo Y e fertilidade	25
3.2.1	*SRY*	27
3.2.2	*AMGY*	28
3.2.3	*TSPY*	29
3.2.4	*DAZ*	31
3.2.5	*Microdeleções*	32
3	**METODOLOGIA**	35
3.1	Seleção dos indivíduos	35
3.2	Cultura de linfócitos e análise citogenética	35
3.2.1	*Cultura de linfócitos e preparação cromossômica*	35
3.2.2	*Bandeamento G*	35
3.2.3	*Bandeamento C*	36
3.3	Extração de DNA e análise molecular	36
4	**RESULTADOS**	38
4.1	Caracterização citogenética	38
4.2	Integridade do cromossomo Y	40
5	**DISCUSSÃO**	42
6	**CONCLUSÕES**	46
	REFERÊNCIAS	47
	ANEXO A – Parecer do Comitê de Ética	54

1 INTRODUÇÃO

A Síndrome de Down (SD) é a causa genética mais comum de deficiência intelectual e é a cromossomopatia mais prevalente no mundo, com frequência de 1:800 nascidos vivos (Huang *et al*., 2024). A SD é caracterizada por uma cópia extra do cromossomo 21 no cariótipo humano e pode ocorrer em três formas principais: trissomia livre, responsável por aproximadamente 95% dos casos, na qual há uma cópia completa do cromossomo 21; translocação Robertsoniana, que corresponde a cerca de 4% dos casos e é caracterizada pela fusão entre cromossomos acrocêntricos, mais frequentemente entre os cromossomos 14 e 21; e mosaicismo cromossômico (~1% dos casos), no qual o indivíduo apresenta duas linhagens celulares, uma com o cariótipo normal (46,XX ou 46,XY) e outra com trissomia do 21 (Antonarakis *et al*., 2020).

As pessoas com SD apresentam um fenótipo bem específico, incluindo olhos amendoados, boca pequena e língua protusa, baixa estatura, ponte nasal achatada, orelhas pequenas e com baixa implantação, prega palmar transversa única, hipotonia muscular, entre outros traços (Agarwal Gupta; Kabra, 2014). Contudo, o quadro clínico da síndrome abrange diversas características fisiológicas que se apresentam de maneira heterogênea entre os indivíduos, como atraso cognitivo, problemas cardiológicos, maior risco de desenvolver doenças autoimunes (Alldred *et al*., 2021). Além disso, pessoas com SD apresentam algumas disfunções hormonais que levam a um quadro de infertilidade, especialmente em homens. Contudo, o mecanismo genético envolvido nesse processo ainda não foi elucidado. Entender esse mecanismo será um grande avanço para garantir uma melhor qualidade de vida desses indivíduos, bem como promover aconselhamento genético e o desenvolvimento de estratégias terapêuticas para casais que desejam ter filhos (Parizot *et al*., 2019).

O cromossomo Y, responsável pela fertilidade masculina, é um dos menores cromossomos do genoma humano e é dividido em um braço curto (Yp), um braço longo (Yq) e duas regiões pseudoautossômicas (PARs) (Colaco; Modi, 2018). No Yp estão localizados os genes *SRY*, e *TSPY*, responsáveis pela diferenciação celular do sistema reprodutor masculino, além do *AMGY*, amplamente utilizada como marcador do sexo masculino (She; Yang, 2017; Lau; Li; Kido, 2019; Syndercombe Court, 2021). Enquanto no Yq há a presença do gene *DAZ*, essencial para a espermatogênese, sua

ausência está fortemente associada a problemas de infertilidade masculina (Deng *et al*., 2023).

O projeto de Síndrome de Down teve início em 2020 no Laboratório de Genética e Citogenética Animal e Humana (LGCAH), com o objetivo de analisar o cariótipo dos indivíduos, determinar a incidência do mosaicismo cromossômico, e investigar associações entre polimorfismos genéticos e a susceptibilidade ao desenvolvimento de doenças autoimunes e inflamatórias nesses indivíduos. Embora não haja relatos de que indivíduos SD do sexo masculino apresentem distúrbio da diferenciação sexual (DDS), este estudo também buscou investigar se esses indivíduos apresentam as sequências gênicas do cromossomo Y – *SRY*, *TSPY*, *DAZ* e *AMGY* – intactas. Dessa forma, reforçamos a importância da caracterização citogenética e da investigação molecular dos genes do Y, cujos resultados podem contribuir para o redirecionamento de medidas terapêuticas e preventivas na abordagem da Síndrome de Down.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo geral

Realizar a investigação cromossômica e molecular de genes do cromossomo Y em indivíduos com Síndrome de Down da Região Metropolitana do Recife, Pernambuco.

2.2 Objetivos específicos

1. Determinar o cariótipo dos indivíduos;
2. Determinar a proporção de indivíduos do sexo masculino e feminino;
3. Determinar a frequência de mosaicismo cromossômico;
4. Investigar a presença de sequências gênicas *SRY*, *AMGY*, *TSPY* e *DAZ* do cromossomo Y nos indivíduos do sexo masculino.

3 REVISÃO DA LITERATURA

3.1 Síndrome de Down

A síndrome de Down (SD) é a trissomia autossômica mais frequente na população e a causa genética mais comum de deficiência intelectual e neurodesenvolvimento, afetando aproximadamente 1:800 nascidos vivos no mundo, devido à presença de uma cópia extra do cromossomo 21 (Rondal, 2020; (Huang *et al*., 2024)). A SD foi descrita pela primeira vez em 1866 por John Langdon Down, mas a sua associação com a trissomia do cromossomo 21 só foi elucidada quase 100 anos depois, em 1959, por Jérôme Lejeune (Sánchez-Pavón; Mendoza; García-Ferreyra, 2022).

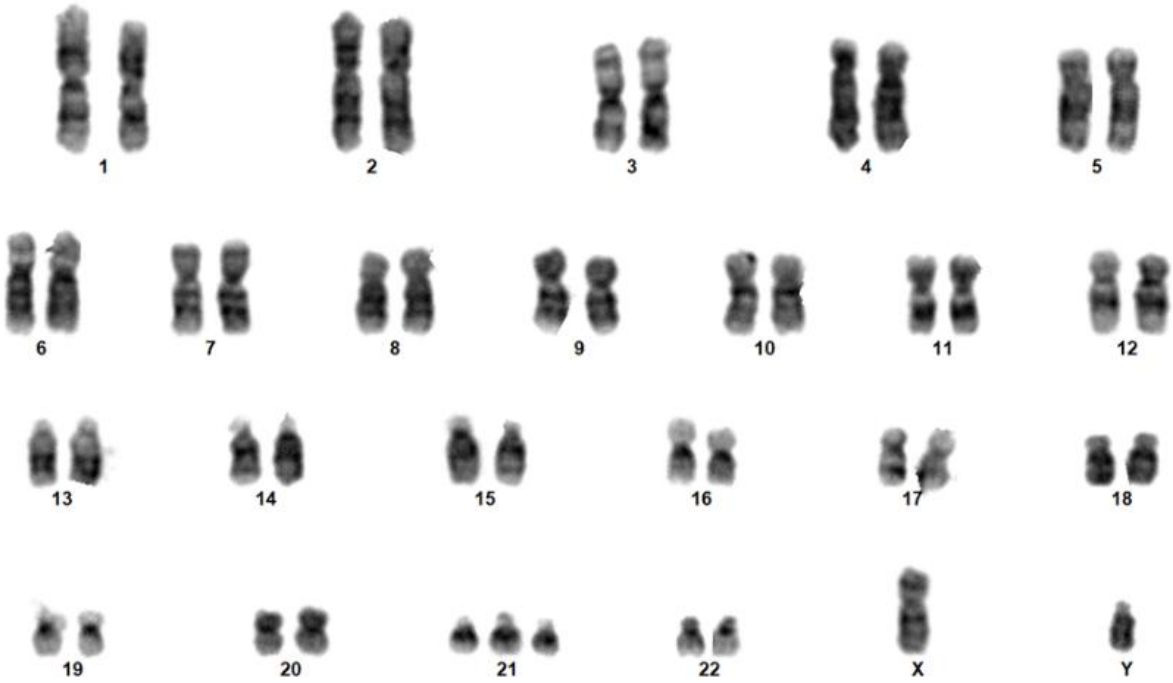
Com os avanços nos estudos relacionados à patofisiologia desta síndrome e ao melhor manejo dos distúrbios endócrinos, a expectativa de vida desses indivíduos aumentou significativamente, passando de uma idade média de 25 anos em 1983 para 60 anos em 2020 (Tsou *et al*., 2020). Além disso, há também diferenças étnicas na expectativa de vida, sendo um pouco menor em populações africanas e nativas americanas (De Graaf; Buckley; Skotko, 2017). Embora a SD ocorra em todas as populações, sua prevalência varia entre os países devido a fatores socioculturais e econômicos, incluindo a idade materna no momento da concepção, bem como a triagem pré-natal e as oportunidades ao aborto (Antonarakis *et al*., 2020).

O cromossomo 21 (HSA21) é o menor cromossomo autossomo humano, com 47 milhões de pares de bases e representando 1 a 1,5% do genoma humano. O fenótipo completo da SD resulta do aumento na atividade de produtos gênicos super expressos do HSA21. Apesar disso, a função da maioria desses genes e sua relação específica com as manifestações clínicas da SD ainda não são totalmente compreendidas (Redhead *et al*., 2023; Huang *et al*., 2024). Estudos identificaram uma região crítica para síndrome de Down (DSCR) localizada no braço longo do cromossomo 21 (21q), associada com as principais características clínicas na síndrome. No entanto, há evidências de que genes fora dessa região também contribuem para o fenótipo da SD (Cipriani *et al*., 2018). Mais recentemente, foi sugerida a existência de uma região altamente restrita (HR-DSCR), localizada em 21q22.13 e com apenas 34 kb, cujas duplicações são compartilhadas por todos os

indivíduos com SD e estão ausentes em pessoas com cariótipo normal (Pelleri *et al*., 2016).

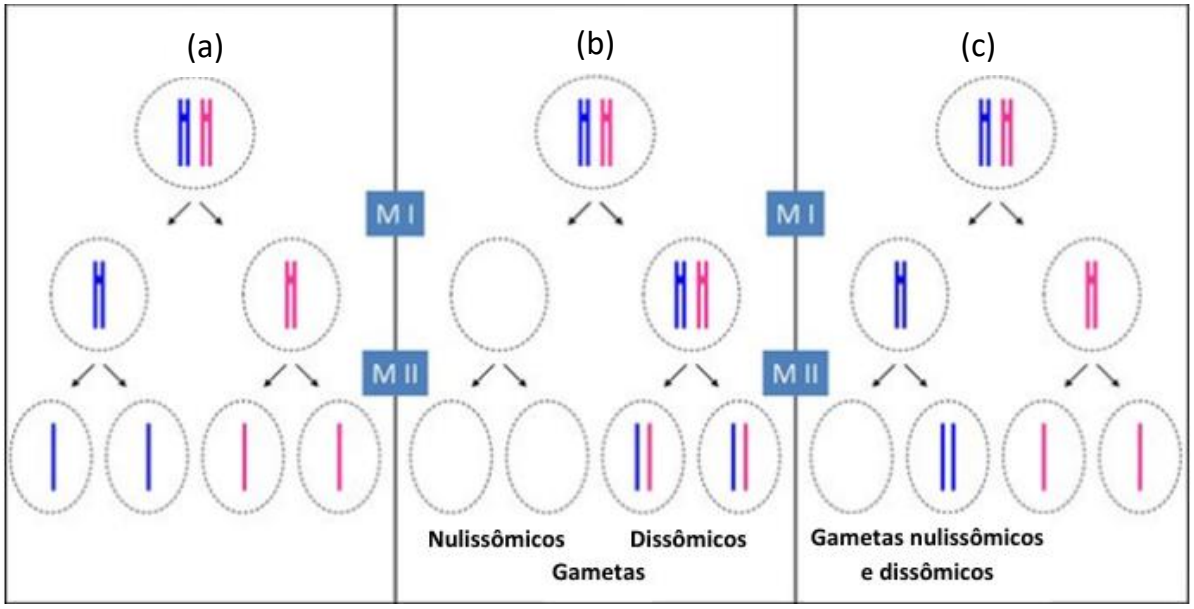
Existem três tipos de cariótipos associados ao diagnóstico da SD: a trissomia livre do 21, o mosaicismo cromossômico e a translocação Robertsoniana. A trissomia livre (47,XX,+21 ou 47,XY,+21) é caracterizada pela presença de uma cópia extra do cromossomo 21 e compreende cerca de 95% dos casos SD (Figura 1) (Antonarakis *et al*., 2020). Esse cariótipo resulta de um fenômeno meiótico chamado de não-disjunção (Figura 2), no qual os cromossomos replicados não se separam corretamente na divisão celular, gerando gametas com uma cópia adicional do cromossomo 21 (Figura 3). Após a fecundação, o zigoto formado apresentará três cópias desse cromossomo (Jackson *et al*., 2018).

Figura 1 – Cariótipo 47,XY,+21 por bandeamento G



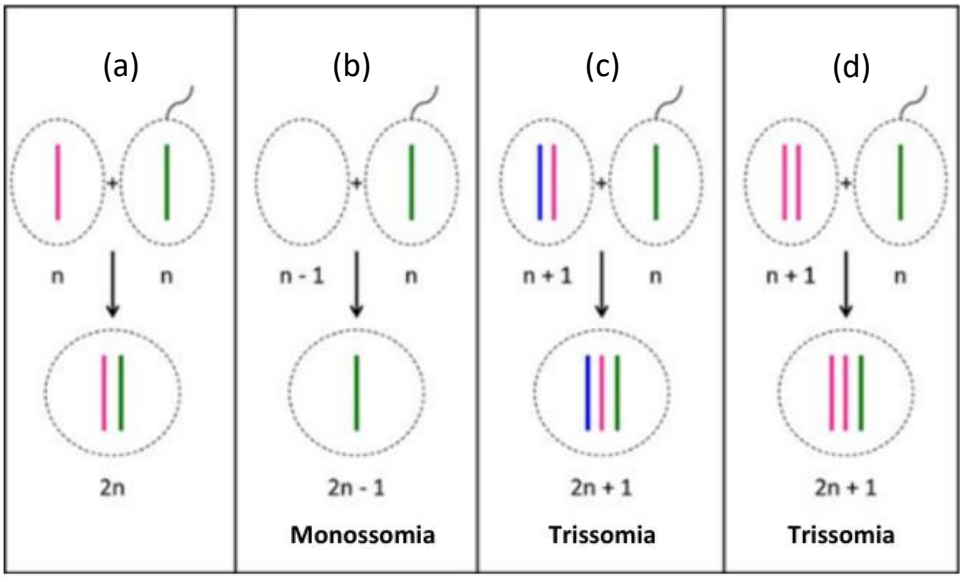
Fonte: LGCAH/UFPE.

Figura 2 – Formas de ocorrência da meiose. (a) Meiose normal. (b) Não-disjunção na meiose I. (c) Não-disjunção na meiose II.



Fonte: Adaptado de Jackson *et al*. (2018).

Figura 3 – Fertilização de gametas. (a) Fertilização de um oócito normal com uma célula espermática normal leva à formação de um zigoto diploide (2n). (b) Fertilização de um oócito nulissômico leva à formação de um zigoto com monossomia para um cromossomo. (c, d) Fertilização de um oócito dissômico resulta em zigotos com trissomia.



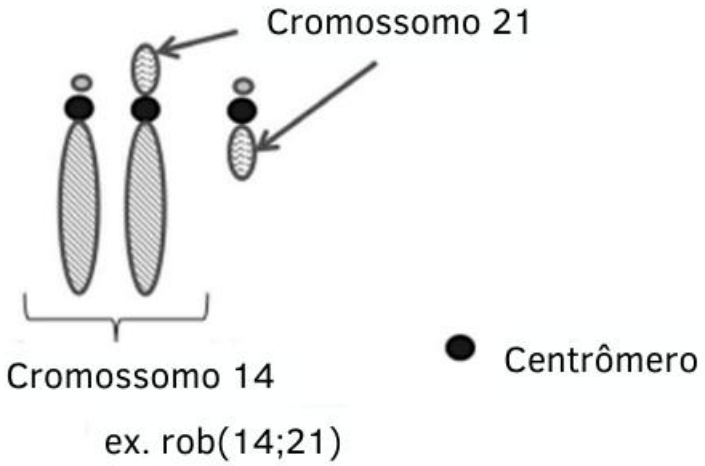
Fonte: Adaptado de Jackson *et al*. (2018).

O mosaicismo cromossômico compreende aproximadamente 1% dos casos de SD. Essa condição genética é de origem pós-zigótica, caracterizada pela presença de duas ou mais linhagens celulares com cariótipos diferentes – nos casos de SD, uma trissômica e outra normal. O mosaicismo cromossômico surge como consequência de

erros na mitose, como a não segregação das cromátides-irmãs ou, menos frequentemente, a endorreduplicação (Taylor *et al*., 2014). Esses erros ocorrem porque, nos primeiros dias do desenvolvimento pós-zigótico, o ciclo celular ainda está em processo de regulação (Viotti, 2020). Diferentemente dos erros meióticos, cuja incidência aumenta com a idade materna ou paterna, os erros mitóticos parecem apresentar um risco uniforme ao longo da idade reprodutiva (McCoy *et al*., 2015).

Rearranjos cromossômicos envolvendo o braço longo do cromossomo 21 (21q), especialmente a translocação Robertsoniana (rob), são responsáveis por aproximadamente 4% dos casos de SD (Figura 4). Esses rearranjos ocorrem devido à fusão entre o braço longo do cromossomo 21 e outro cromossomo acrocêntrico, na maioria das vezes envolvendo o cromossomo 14 e raramente o 22, mas também o próprio 21 (Zhao *et al*., 2015; Antonarakis *et al*., 2020; Jaiswal; Kumar; Rai, 2021). O braço curto dos cromossomos acrocêntricos (13, 14, 15, 21 e 22), é rico em sequências repetitivas de DNA, e apresenta alto grau de instabilidade genômica. Um possível mecanismo para essa instabilidade e formação de translocações Robertsonianas pode ser o bloqueio na replicação pré-meiótica, causado por quebras na fita de DNA ou pela paralisação de forquilhas de replicação, que vão interferir na recombinação meiótica (Poot; Hochstenbach, 2021).

Figura 4 – Exemplo de translocação Robertsoniana envolvendo os cromossomos 14 e 21.

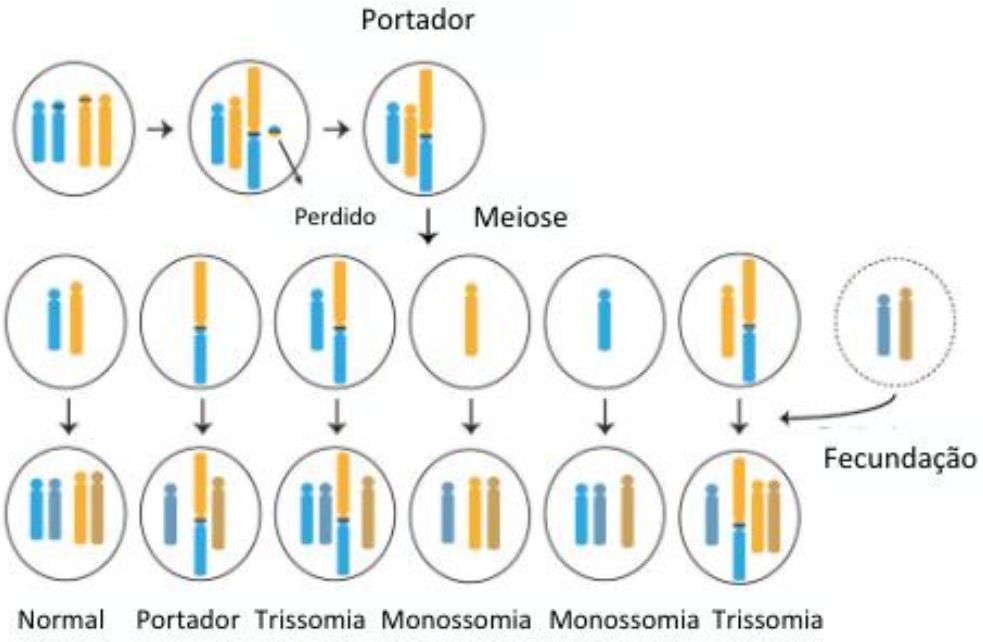


Fonte: Adaptado de Katagiri; Tamaki (2020).

O cariótipo de um portador de uma rob apresenta 45 cromossomos, com o cromossomo translocado apresentando os dois braços longos dos cromossomos

acrocêntricos envolvidos. Mães ou pais portadores de rob não apresentam alterações fenotípicas, mas possuem maior probabilidade de produzir gametas com aneuploidias (nulissômicos ou dissômicos) e sofrer abortos espontâneos. Quando um gameta dissômico fertiliza outro normal, leva à formação de um zigoto trissômico para o cromossomo envolvido, mas com um cariótipo com 46 cromossomos (Figura 5) (Zhao *et al*., 2015; Poot; Hochstenbach, 2021).

Figura 5 – Possíveis gametas para portadores de rob e configurações de zigotos após fecundação.



Fonte: Adaptado de Kim *et al*. (2016).

3.1.1 Fatores de risco

Assim como em outras trissomias autossômicas, o avanço da idade materna está diretamente relacionado a um aumento no risco de desenvolvimento de síndrome de Down. Esse risco está associado a uma maior probabilidade de falhas na segregação cromossômica durante a oogênese, seja na meiose I (não-disjunção de cromossomos homólogos) ou na meiose II (não-disjunção de cromátides irmãs) (Antonarakis *et al*., 2020).

Mulheres com mais de 35 anos apresentam uma probabilidade significativamente maior de terem filhos SD. Embora os mecanismos celulares e moleculares envolvidos nesse processo ainda não estejam completamente elucidados, as principais hipóteses envolvem: (1) erros de recombinação durante a

meiose dos oócitos; (2) acúmulos de danos no DNA ao longo do tempo; e (3) variações hormonais relacionadas à idade (Rowsey *et al*., 2013). Outras hipóteses indicam que a formação, o desenvolvimento e a sobrevivência até o nascimento de um indivíduo com trissomia do cromossomo 21 são considerados eventos multifatoriais, influenciados por modificações epigenéticas e fatores ambientais, como exposição à radiação, tabagismo, status socioeconômico e obesidade (Figura 6) (Coppedè, 2016). No caso de mosaicismo cromossômico na SD, aproximadamente dois terços dos casos estão relacionados à idade materna. Contudo, cerca de 33% dos casos de mosaicismo não são influenciados por esse fator, demonstrando a necessidade de investigar outros fatores de risco envolvidos (Morris, 2012).

Figura 6 – Fatores de risco para a síndrome de Down

Fonte: Adaptado de Coppedè (2016).

Outro fator de risco associado ao nascimento de crianças com SD envolve polimorfismos de base única (SNPs) em genes relacionados ao metabolismo do ácido fólico. Essa vitamina desempenha um papel essencial na síntese e no reparo do DNA, e deficiências nesse nutriente podem aumentar a probabilidade de erros durante a divisão celular. Os SNPs impactam o metabolismo do folato ao alterar a atividade das enzimas responsáveis por sua conversão e utilização. Essas modificações podem ter

consequências graves para a saúde reprodutiva, aumentando o risco de aneuploidias, incluindo a Síndrome de Down (Sukla *et al*., 2015; Hiraoka; Kagawa, 2017). Além disso, há indícios de que interações gene-nutriente podem amplificar esse risco em mulheres com baixa ingestão de ácido fólico. Todavia, a escassez de dados sobre questionários dietéticos na fase peri-concepcional dificulta a obtenção de conclusões definitivas. Atualmente, é recomendado a ingestão adequada de ácido fólico antes e durante a gravidez como uma estratégia eficaz para reduzir o risco de alterações cromossômicas (Coppedè, 2016).

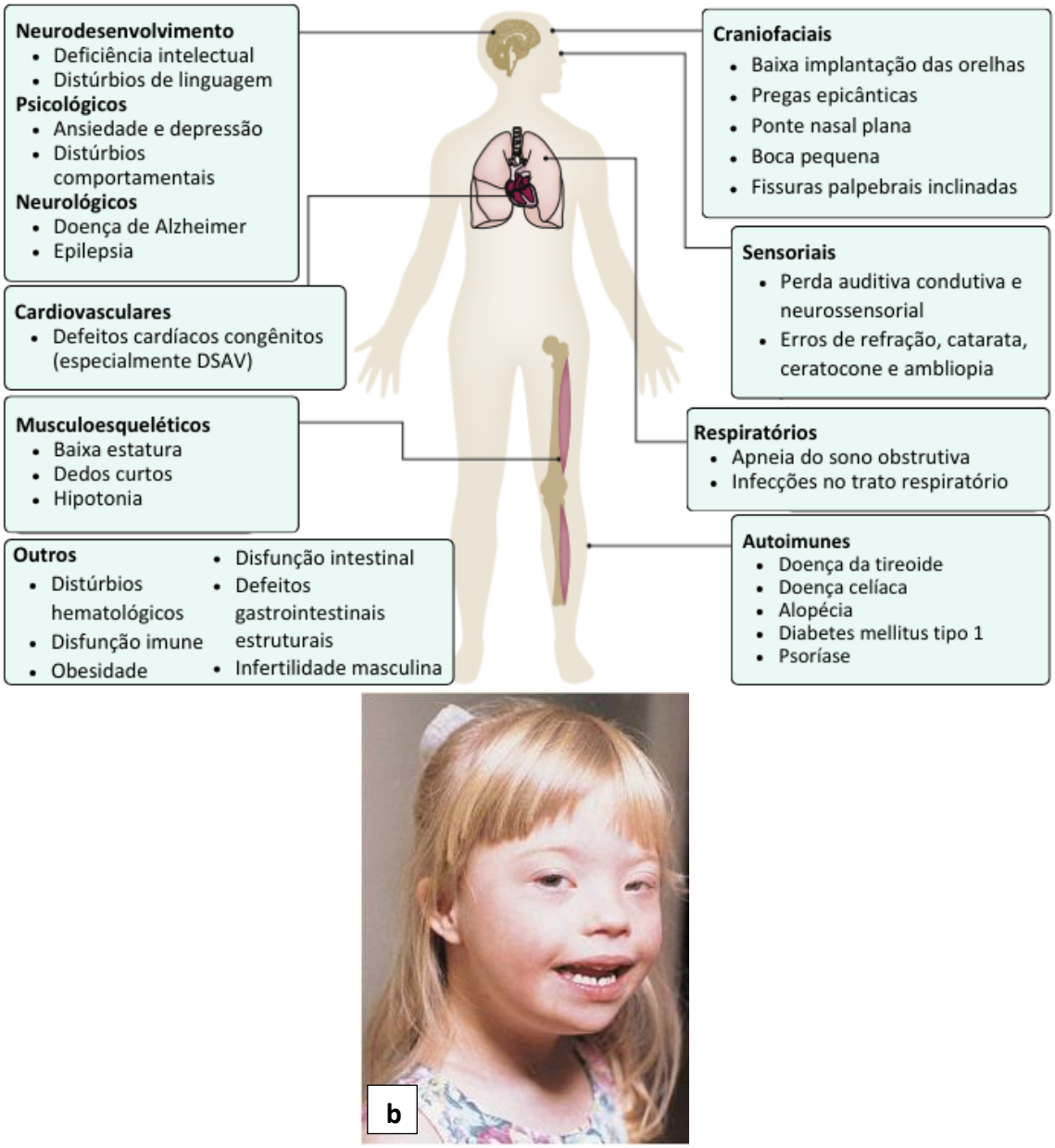
Os fatores de risco associados à idade paterna ainda são bastante controversos, principalmente no que diz respeito aos mecanismos moleculares envolvidos. Curiosamente, a maioria dos erros na meiose masculina ocorrem durante a meiose II, enquanto apenas um terço ocorre na meiose I (Donate *et al*., 2016). O estilo de vida dos pais também desempenha um papel importante no aumento do risco de desenvolvimento de SD. Hábitos como tabagismo, consumo de álcool, obesidade e exposição a pesticidas e poluentes podem aumentar a probabilidade de produção de espermatozoides com aneuploidias. Enquanto dietas ricas em ácido fólico, peixes, frutas e vegetais podem reduzir esse risco (Punjabi *et al*., 2022).

3.1.2 Manifestações clínicas

Os achados clínicos da SD são múltiplos e heterogêneos. Algumas condições necessitam de intervenções imediatas logo após o nascimento, enquanto outras acompanham o indivíduo ao longo de sua vida (Bull, 2020). Entre as características mais comuns, estão: deficiência intelectual, alterações craniofaciais, tônus muscular fraco (hipotonia) na infância, bem como doenças cardíacas congênitas, apneia obstrutiva do sono, doença celíaca, doenças endócrinas e autoimunes. Além disso, o fenótipo clássico da SD inclui olhos amendoados, língua protusa e outras particularidades (Figura 7) *(*Alldred *et al*., 2021).

Figura 7 – Síndrome de Down. (a) Principais manifestações clínicas. (b) Fenótipo clássico da SD em uma criança do sexo feminino.

a



Fonte: Adaptado de Antonarakis *et al*. (2020) e Moini; Logalbo; Ahangari (2024).

Além das características comuns a todos os indivíduos com SD, há diversos fenótipos associados que variam em gravidade e penetrância. Essa variabilidade provavelmente resulta de uma interação complexa entre fatores genéticos, epigenéticos, ambientais e eventos estocásticos (Cipriani *et al*., 2018). Além disso, pessoas com SD frequentemente passam por um processo de envelhecimento precoce, que afeta principalmente o sistema nervoso central, cardiovascular e imunológico (Ciccarone *et al*., 2018; Arcoverde *et al*., 2024). Do ponto de vista genético e molecular, esse envelhecimento é caracterizado por altos níveis de

biomarcadores de idade, encurtamento dos telômeros e padrões de metilação no DNA (Kozlov; Franceschi; Vedunova, 2024). O acompanhamento desses indivíduos na fase adulta representa um desafio significativo, uma vez que há escassez de especialistas e protocolos adequados para tratar as demandas e sintomas associados ao envelhecimento acelerado, que ocorre muito antes do observado na população em geral (Alldred *et al*., 2021).

Entre as manifestações endócrinas da SD, destacam-se o alto risco de desenvolvimento de hipotireoidismo, disfunções no eixo hipotálamo-hipófise e diabetes *mellitus* (DM). Alterações na composição corporal desses indivíduos, como a obesidade, também são muito prevalentes e podem agravar as disfunções endócrinas (Whooten; Schmitt; Schwartz, 2018; Metwalley; Farghaly, 2022). No sistema genital, homens com SD apresentam maior risco de desenvolver: microlitíase testicular, uma condição em que se formam múltiplas calcificações microintratubulares no testículo, e criptorquidia, a ausência de um ou ambos os testículos na bolsa escrotal. Essas condições estão fortemente associadas à infertilidade e aumento do risco de câncer testicular (Pedersen *et al*., 2016; Ranchin *et al*., 2024).

Além disso, pessoas com SD podem enfrentar problemas de infertilidade devido a alterações no desenvolvimento genital e disfunções hormonais (principalmente no FSH e LH), que podem levar a uma puberdade precoce (Pedersen *et al*., 2016). Mulheres frequentemente apresentam irregularidades menstruais e menopausa precoce, enquanto homens têm a qualidade do sêmen comprometida, decorrente de disfunções nas células de Sertoli e Leydig. Contudo, os mecanismos genéticos subjacentes a essas alterações ainda não estão muito bem elucidados. A compreensão desses mecanismos é essencial para orientar indivíduos com SD e suas famílias, garantindo uma melhor qualidade de vida (Parizot *et al*., 2019).

3.2 Cromossomo Y e fertilidade

O cromossomo Y é acrocêntrico e composto por duas regiões pseudoautossômicas (PARs), um braço curto (Yp) e um braço longo (Yq), separados por um centrômero (Figura 8). Enquanto o Yp e as PARs são predominantemente eucromáticas, a maior parte do Yq é constituída por heterocromatina, exceto pela porção próxima ao centrômero. A porção eucromática do cromossomo Y é também chamada de MSY (Região específica do sexo masculino no Y) (Colaco; Modi, 2018).

As regiões PAR1 e PAR2 representam cerca de 5% do cromossomo Y e podem se recombinar com o cromossomo X durante a meiose. Enquanto a região MSY, que corresponde aos 95% restantes, não passa por recombinação (Rabinowitz *et al*., 2021).

O cromossomo Y é um dos menores cromossomos do genoma humano, com aproximadamente 62,5 milhões de pares de bases, representando cerca de 2 a 3% do genoma haploide (Dhanoa; Mukhopadhyay; Arora, 2016). Por muito tempo, aproximadamente 50% de sua constituição genética permaneceu desconhecida devido à sua estrutura complexa e altamente variável, caracterizada por sequências invertidas em tandem (palíndromos). Essa complexidade dificultava o estudo de rearranjos estruturais, tais como duplicações e deleções, especialmente em regiões associadas com a fertilidade masculina (Xu; Pang, 2022). Em 2023, o cromossomo Y foi completamente sequenciado, permitindo uma compreensão mais abrangente da variação genética e da evolução humana. Esse avanço abriu caminho para estudos de associação entre fenótipos e genótipos relacionados a diversas características e doenças (Rhie *et al*., 2023).

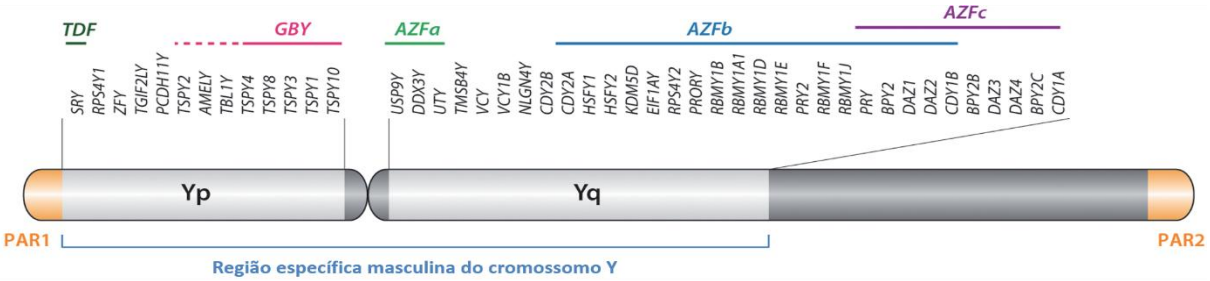
O cromossomo Y desempenha um papel crucial na saúde reprodutiva masculina e na espermatogênese, pois abriga genes essenciais, como o *SRY* – responsável pela determinação sexual – e outros localizados na região denominada Fator de Azoospermia (AZF) – associada à infertilidade masculina, como o gene *DAZ*. Além disso, o cromossomo Y contém reguladores sensíveis a dosagens gênica, que são importantes em vários processos fisiológicos. Sendo assim, a expressão equilibrada desses genes é fundamental para manter suas funções normais (Colaco; Modi, 2018; Rhie *et al*., 2023).

No braço curto do cromossomo Y (Yp) estão localizados os genes *TSPY* e *AMGY*. O *TSPY* exerce um papel tanto na multiplicação quanto na diferenciação das células germinativas do sistema reprodutor masculino. Enquanto o *AMGY*, embora não esteja diretamente ligado à saúde reprodutiva masculina, é amplamente utilizado na área forense para identificação sexual baseada em DNA, sendo um importante marcador genético do cromossomo Y (Masaia; Xue, 2017; Lau; Li; Kido, 2019).

A infertilidade é definida como a incapacidade de conceber após um ano de tentativas de relações sexuais sem proteção (Akhavizadegan, 2024). Essa condição afeta cerca de 15% da população mundial e, apesar de ser uma condição multifatorial, aproximadamente 15% dos casos estão associados a fatores genéticos, enquanto o

restante relaciona-se com criptorquidia, varicocele ou neoplasia testicular (Rabinowitz *et al*., 2021). A infertilidade masculina se manifesta por defeitos na concentração ou na qualidade do sêmen, sendo 90% dos casos caracterizados por oligozoospermia (baixa concentração de espermatozoides no sêmen) ou azoospermia (ausência total de espermatozoides). Os outros 10% envolvem defeitos na motilidade ou morfologia dos espermatozoides (Kumar; Singh, 2015).

Figura 8 – Esquematização do cromossomo Y indicando os genes que codificam proteínas na região específica masculina do cromossomo Y.



Fonte: Adaptado de Adaptado de Kido e Lau (2015).

De acordo com Sudhakar; Shah; Gajbhyie (2021), os principais fatores genéticos relacionados com a infertilidade masculina são: defeitos de genes únicos ou múltiplos (responsáveis por 15% das causas genéticas); genes específicos associados à infertilidade; alterações ou microdeleções no cromossomo Y e, variantes de novo e variantes patogênicas autossômicas recessivas ligadas a hipogonadismo hipogonadotrófico congênito.

3.2.1 SRY

O gene *SRY* (Região determinante do sexo no cromossomo Y), localizado no braço curto do cromossomo Y, na região p11.2 (Figura 8), é composto por um único éxon. Ele codifica o domínio proteico denominado *HMG box*, que tem a capacidade de se ligar e dobrar sequências específicas do DNA. O *HMG box* é a única região altamente conservada em mamíferos, o que sugere que a proteína SRY atua como um fator de transcrição estrutural, modulando a expressão de genes-alvo relacionados a determinação sexual (Ohnesorg; Vilain; Sinclair, 2014). Do ponto de vista filogenético, estudos comparativos apontam que o gene *SRY* evoluiu a partir do gene autossômico *SOX3* entre aproximadamente 166 e 148 milhões de anos atrás. Esse

novo gene se fixou rapidamente no cromossomo Y ao longo da evolução (She; Yang, 2017).

O gene *SRY* atua como o principal regulador na determinação do sexo, integrando as cascatas genéticas responsáveis pelo desenvolvimento dos testículos masculinos. Seu gene-alvo melhor caracterizado na gônada masculina é o *SOX9* (localizado em 17q24.3), sendo a principal função do *SRY* regular a expressão desse gene nos precursores das células de Sertoli, o que consequentemente ativa genes específicos e promove a diferenciação testicular (Vining *et al*., 2021). Além disso, o *SRY* desempenha um papel importante na mediação de vias de sinalização mutuamente antagônicas, regulando o estabelecimento das células de Sertoli e o desenvolvimento dos cordões testiculares. Como também, ele é essencial para vários eventos morfogenéticos iniciais, como a migração precoce das células mesonéfricas específicas dos testículos e a glicogênese dos precursores das células de Sertoli (She; Yang, 2017).

A transcrição do gene *SRY* é regulada por alguns fatores de transcrição essenciais para garantir o desenvolvimento masculino em mamíferos XY, incluindo *WT1*, *GATA4*, *NR5A1*. Além disso, modificações epigenéticas desempenham um papel fundamental na regulação da expressão desse gene, alterando a estrutura da cromatina sem modificar a sequência do DNA (Hirata *et al*., 2023). Alterações estruturais no cromossomo Y, como inversões ou deleções, também podem afetar o *SRY*, levando ao seu silenciamento ou à redução de sua expressão. Quando ocorre uma desregulação na expressão desse gene, podem surgir diversas consequências para a saúde reprodutiva masculina, como distúrbios da diferenciação sexual (DDS), reversão sexual e infertilidade (Okashita; Tachibana, 2021).

3.2.2 AMGY

O gene *AMGY* (gene da Amelogenina do Y, também chamado de *AMELY*) está localizado na região Yp11.2 (Figura 8) e possui um homólogo no cromossomo X (*AMELX*). Ambos os genes são responsáveis por sintetizar a Amelogenina, uma proteína envolvida na biomineralização do esmalte dentário. Enquanto o *AMELX* é responsável por 90% da produção dessa proteína, o *AMGY* contribui com os 10% restantes (Colaco; Modi, 2018; Dash; Rawat; Das, 2020).

Além de sua função fisiológica, o gene *AMELY* é amplamente utilizado na genética forense como um marcador para determinação sexual, devido à sua homologia com o *AMELX*, sua localização no cromossomo Y e sua distinção em relação ao homólogo no cromossomo X. Em análises forenses de identificação sexual, por meio da amplificação desses genes por PCR, mulheres irão apresentar apenas o fragmento do *AMELX*, enquanto homens irão apresentar fragmentos dos dois genes (Das *et al*., 2019).

Contudo, deleções do gene *AMELY* são relativamente frequentes na população mundial, devido à instabilidade da região do cromossomo Y onde ele está localizado. Sendo assim, homens com deleções nesse gene podem ser erroneamente genotipado como mulheres, o que pode comprometer as análises forenses em casos judiciais, a comparação de bancos de dados de DNA e a credibilidade das investigações (Xie *et al*., 2014; Massaia; Xue, 2017; Syndercombe Court, 2021).

O estudo de homens com deleções no gene *AMGY*, também é relevante porque, além da perda desse gene, outros genes adjacentes no braço curto do cromossomo Y podem acabar sendo excluídos. Há evidências de que a deleção do *AMGY* está associada à redução de cópias no *cluster TSPY*, que compreende aproximadamente 700 kb do Yp (Dash; Rawat; Das, 2020; Syndercombe Court, 2021).

3.2.3 TSPY

O gene *TPSY* (Proteína específica do testículo ligada ao cromossomo Y) está localizado na região Yp11.2 (Figura 8) e possui um homólogo no cromossomo X (*TSPX*). O *TSPY* foi um dos primeiros genes a serem isolados no cromossomo Y, e seu homólogo *TSPX*, recebeu esse nome para indicar que ambos se originaram do mesmo gene ancestral presente nos cromossomos proto-X e proto-Y, compartilhando uma organização semelhante de íntrons e éxons (Colaco; Modi, 2018). Contudo, ao longo da evolução dos cromossomos sexuais, o *TSPY* se especializou em funções do sexo masculino, enquanto o *TSPX* manteve as funções do gene ancestral (Lau; Li; Kido, 2019).

O *TSPY* é um gene amplicônico que se repete de 30 a 60 vezes na região MSY do cromossomo Y. A maioria de suas unidades transcricionais possui 2,8 kb de tamanho e está organizada em repetições em tandem de 20,3 kb com 98% de homologia. O *TSPY* contém o maior número de cópias de sequências repetitivas

codificadoras de proteínas no cromossomo Y, e possivelmente em todo o genoma humano. Esse gene é expresso nas pré-espermatogônias e gonócitos nos testículos embrionários, bem como em espermatogônias e espermatócitos, nos testículos adultos. Seus níveis de expressão são dependentes de dosagem, e o seu número de cópias varia polimorficamente entre indivíduos (Paladhi *et al*., 2022; Rhie *et al*., 2023).

Esse gene desempenha um papel importante na regulação da diferenciação e proliferação das espermatogônias, bem como na divisão meiótica. Sua expressão é regulada por modificações epigenéticas, como a metilação do DNA (Baroni *et al*., 2019). Embora as funções exatas do *TSPY* ainda não tenham sido esclarecidas, sabe-se que a proteína codificada por ele é capaz de se ligar a ciclinas mitóticas do tipo B. Essa interação aumenta as atividades de fosforilação enzimática e quinases associadas, indicando que o gene *TSPY* está envolvido na regulação do ciclo celular (Rho *et al*., 2023).

Além de suas funções normais, o *TSPY* está situado no lócus do gene do gonadoblastoma do cromossomo Y (*GBY*), o que o torna um proto-oncogene candidato à predisposição ao gonadoblastoma (GB). O GB é uma neoplasia não-invasiva que ocorre em mulheres com disgenesia gonadal, comumente associada à presença de um cromossomo Y no cariótipo. Essa condição é caracterizada como uma lesão precursora de tumores do tipo germinoma. Devido a isso, o lócus *GBY* foi proposto associado a genes expressos nas células germinativas, os quais predispõem ao desenvolvimento de tumores malignos nessas células. Esse é o único lócus oncogênico no cromossomo Y, e estudos indicam uma alta expressão do gene *TSPY* em pacientes com gonadoblastoma, câncer de próstata ou infertilidade (Lau; Li; Kido, 2019; Vogt *et al*., 2019).

Recentemente, Paladhi *et al*. (2022) reportaram, pela primeira vez, uma mutação no gene *TSPY* associada a casos de azoospermia e oligozoospermia em homens. Além disso, os autores observaram diferenças significativas na distribuição no número de cópias desse gene entre homens com diferentes fenótipos de infertilidade, mesmo na ausência de deleções na região AZF. Apesar desses achados, muitos resultados sobre a associação entre gene *TSPY* e a infertilidade masculina ainda são controversos, provavelmente devido à alta taxa de variação no número de cópias desse gene.

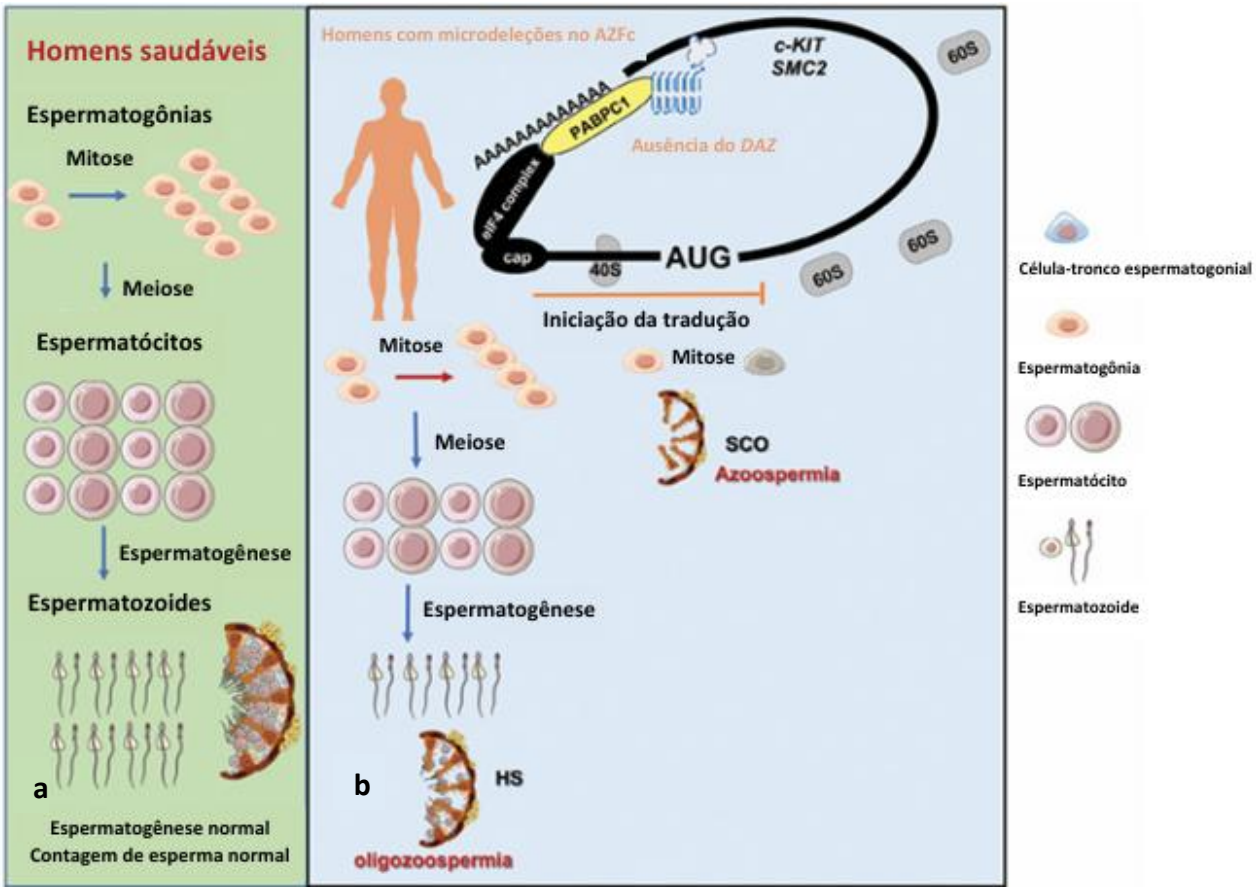
3.2.4 DAZ

O gene *DAZ* (Deletado na Azoospermia) pertence a uma família de genes altamente conservada e essencial para a fertilidade em diversos animais, incluindo humanos. Ele se originou a partir de uma translocação e amplificação de outro gene dessa família durante a evolução dos primatas (Fu *et al*., 2015). Em humanos, o gene *DAZ* está localizado no braço longo do cromossomo Y, mais especificamente em Yq11.223 (Figura 8), dentro do lócus AZFc. Ele apresenta quatro cópias organizadas em repetições palindrômicas, distribuídas em dois clusters: *DAZ1* e *DAZ2* / *DAZ3* e *DAZ4* (Deng *et al*., 2023).

O gene *DAZ* codifica uma proteína de ligação ao RNA e é expresso em espermatogônias, espermatócitos imaturos e maduros, além de células pós-meióticas, revelando seu papel crítico na progressão da meiose e no desenvolvimento das células gonadais masculinas (Colaco; Modi, 2018). Essa proteína também é expressa no epitélio germinativo e na cauda dos espermatozoides, indicando uma relação com a motilidade espermática (Deng *et al.*, 2023). As funções moleculares do *DAZ* estão associadas à regulação da expressão gênica, organização da cromatina, síntese proteica e ligação de ácidos nucleicos (Colaco; Modi, 2019). No entanto, os mecanismos moleculares específicos desse gene na espermatogênese ainda não estão elucidados, principalmente porque ele não pode ser usado em modelos animais, como camundongos. Experimentos são realizados utilizando o gene *DAZL* (localizado em 3p24.3), seu homólogo autossômico, mas há limitações quanto a sua homologia e às funções biológicas entre esses genes (Ou *et al*., 2024).

Cerca de 13% dos casos de oligozoospermia e azoospermia estão associados com deleções no gene *DAZ* (Nongthombam; Malini, 2023). A ausência de cópias desse gene parece levar à perda ou degeneração das células germinativas, comprometendo a espermatogênese e resultando em quadros de baixa concentração ou qualidade do sêmen (Sen *et al*., 2015). De acordo com Ou *et al*. (2024), a deleção do *DAZ* acarreta uma regulação negativa expressiva de mRNAs associados a marcadores de proliferação e diferenciação celular. Como consequência, as espermatogônias não conseguem se desenvolver de maneira eficaz, resultando em falha espermatogênica, levando à oligozoospermia e azoospermia (Figura 9).

Figura 9 – Representação esquemática dos mecanismos moleculares do gene *DAZ*. (a) Homem saudável com espermatogênese normal; (b) Mecanismo patológico da deleção do AZFc.

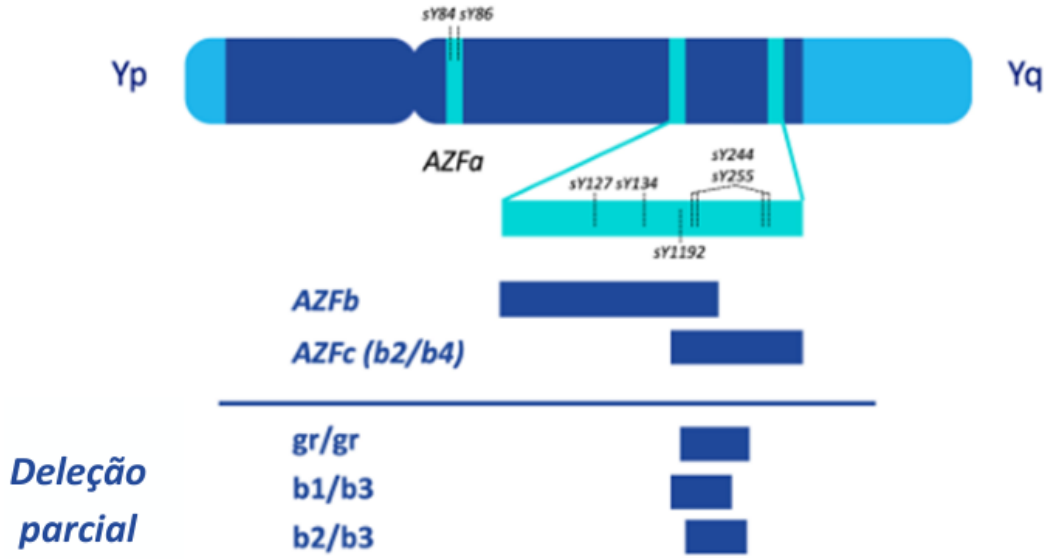


Fonte: Adaptado de Ou *et al*. (2024).

3.2.5 Microdeleções

Em 1976, foi proposta uma associação entre a região MSY e a infertilidade masculina, após a observação de deleções no Yq em homens azoospermáticos, sugerindo a existência de um lócus chamado AZF (fator de azoospermia), localizado em Yq11 (Colaco; Modi, 2019). Posteriormente, esse lócus foi subdividido em três sub-regiões: AZFa, AZFb e AZFc (Figura 10) e uma possível quarta região AZFd, localizada entre AZFb e AZFc, mas sua presença ainda é controversa (Yu *et al*., 2015). Enquanto as regiões AZFa e AZFb são essenciais para o início da espermatogênese, a região AZFc é fundamental para a conclusão do processo. A deleção da região AZFc é a mais comum entre homens inférteis com azoospermia e oligozoospermia (Sudhakar; Shah; Gajbhyie, 2021).

Figura 10 – Esquema das regiões de microdeleções e deleções parciais do cromossomo Y



Fonte: Adaptado de Rabinowitz *et al*. (2021).

Cerca de 25% da eucromatina da região MSY é constituída por sequências amplicônicas (elementos genômicos dinâmicos e repetitivos) organizadas em oito grupos de estruturas palindrômicas (sequências simétricas) praticamente idênticas. Essas sequências passam por conversão genética frequente, um processo de transferência não recíproca de material genético que foi responsável por manter sua conservação entre diversas espécies de mamíferos (Rabinowitz *et al*., 2021). Contudo, a alta homogeneidade dessas sequências palindrômicas facilita a ocorrência de recombinação homóloga não alélica (NAHR), que é a principal causa de microdeleções na região AZF. Além disso, a NAHR pode levar a alterações estruturais no cromossomo Y, como inversões e deleções (Deng *et al*., 2023).

Deleções no lócus AZF são responsáveis por cerca de 14% dos casos de oligozoospermia e azoospermia em todo o mundo, apesar desses dados serem bem heterogêneos, devido a diferenças geográficas e étnicas (Waseem *et al*., 2020; Rabinowitz *et al*., 2021). A deleção completa da região AZFa está associada a azoospermia e a síndrome das células de Sertoli (SCOS), enquanto as microdeleções em AZFb resultam na falha de maturação dos espermatozoides. A região AZFc é a mais dinâmica das três, e deleções nessa região podem causar vários danos ao

sêmen, levando a quadros de oligozoospermia e azoospermia nos pacientes (Kamiński *et al*., 2020).

É possível a ocorrência de microdeleções parciais no lócus AZFc: como gr/gr, b1/b3, b2/b3 e b2/b4 (Figura 10). Essas deleções não removem completamente a região, mas reduzem o número de cópias dos genes presentes nela. Normalmente, essas deleções resultam na perda de duas cópias do gene *DAZ*, uma cópia do gene *CDY1* e uma cópia de *BPY2* (Colaco; Modi, 2018). A deleção do segmento b2/b4 é considerada um fator de alto risco para o desenvolvimento de oligozoospermia severa, pois leva à perda das quatro cópias do gene *DAZ* (Deng *et al*., 2023).

3 METODOLOGIA

3.1 Seleção dos indivíduos com Síndrome de Down

Os 68 indivíduos clinicamente diagnosticados com síndrome de Down foram recrutados no Grupo Universitário de Reabilitação Infantil (GURI) e por contato direto com responsáveis de pessoas com SD, utilizando um grupo no aplicativo WhatsApp criado especificamente para este fim no período de agosto/2021 a agosto/2024. Todos os participantes são residentes da Região Metropolitana do Recife, Pernambuco, com idade de 1 a 33 anos e média de ~8 anos. Este trabalho foi aprovado pelo Comitê de Ética do Centro de Ciências da Saúde/CCS/UFPE (CAAE 58177422.2.0000.5208) (Anexo 1).

3.2 Cultura de linfócitos e análise citogenética

3.2.1 Cultura de linfócitos e preparação cromossômica

As preparações cromossômicas foram obtidas a partir da cultura de linfócitos do sangue periférico. Para cada indivíduo, foram coletados aproximadamente 5 mL de sangue em tubos *vacutainer* com heparina. Em seguida, foram utilizados dois tubos cônicos estéreis de 15 ml (tipo Falcon), nos quais foram adicionados 4 ml do meio RPMI 1690 (GIBCO), 1 ml de soro bovino fetal (GIBCO), 0,2 ml de fitohemaglutinina (INVITROGEN) e 0,5 ml de sangue total. Os tubos foram mantidos em estufa a 37 °C. Após 70 horas de incubação, foi adicionado 0,1 ml de colchicina 0,0016% (SIGMA). Ao completar 72 horas de cultivo, foi realizado o choque hipotônico com KCl (0,075 M) previamente aquecido a 37 °C. Os tubos foram mantidos em banho-maria a 37 °C por 20 minutos, centrifugados e o material fixado em *Carnoy* (metanol-ácido acético 3:1). Para a preparação das lâminas, foram depositadas duas gotas da suspensão em cada lâmina.

3.2.2 Bandeamento G

Após a preparação das lâminas, estas foram envelhecidas por cinco dias para a realização do bandeamento G. Nesta etapa, as lâminas foram mergulhadas em uma

solução de tripsina 0,12% previamente aquecida a 37 °C por ~12 segundos e em seguida mergulhadas em soro fisiológico 0,9% para interromper a reação. Após secagem completa, as lâminas foram coradas com Giemsa 5%.

Cerca de 20 metáfases foram analisadas por indivíduo através do bandeamento G para a definição do cariótipo. Em casos de mosaicismo cromossômico, esse número foi aumentado para 30 metáfases. A captura de imagens dos cariótipos foi realizada com o sistema CytoVision com aumento de 1.000x em objetiva de 100x. Os cromossomos foram identificados e classificados de acordo com o Sistema Internacional para Nomenclatura de Citogenômica Humana (ISCN) de 2022.

3.2.3 Bandeamento C

O bandeamento C foi utilizado nos casos de translocação Robertsoniana identificados por bandeamento G, para identificar a heterocromatina constitutiva e verificar se os cromossomos envolvidos eram monocêntricos ou dicêntricos.

Para o bandeamento C, as lâminas foram envelhecidas por três dias e, em seguida, mergulhadas solução de HCl 0,1N por 30 minutos à temperatura ambiente. Após esse período, foram lavadas com H_2O destilada e imersas em uma solução de BaOH 5% a 60 °C por 30 a 60 segundos. Posteriormente, as lâminas foram lavadas rapidamente em solução HCl 0,1N e H_2O destilada, respectivamente. Em seguida, foram imersas em solução 2xSSC a 60 °C por 45 minutos e coradas com Giemsa a 5% por 10 minutos.

3.3 Extração de DNA e análise molecular

A investigação molecular foi realizada em 22 indivíduos SD do sexo masculino. O DNA genômico foi isolado a partir dos linfócitos de sangue periférico, utilizando os kits de extração de DNA *IllustraTM Blood GenomicPrep Mini Spin* (GE Healthcare) e *QIAamp DNA Mini Kit* (QIAGEN), seguindo os protocolos dos fabricantes.

A PCR foi realizada para *screening* do material do cromossomo Y, utilizando pares de *primers* específicos para amplificação de sequências dos genes *SRY*, *TSPY*, *AMGY* e *DAZ* (Tabela 1). Como controle interno de amplificação, foi utilizado um par de *primer* para o gene *β-globina*. Além disso, como controles da reação, foram

utilizadas amostras de DNA de um homem (46,XY) e de uma mulher (46,XX) com cariótipos normais.

Tabela 1 – Pares de *primers* utilizados para a amplificação dos genes *SRY*, *TSPY*, *AMGY*, *DAZ* e *β-globina*.

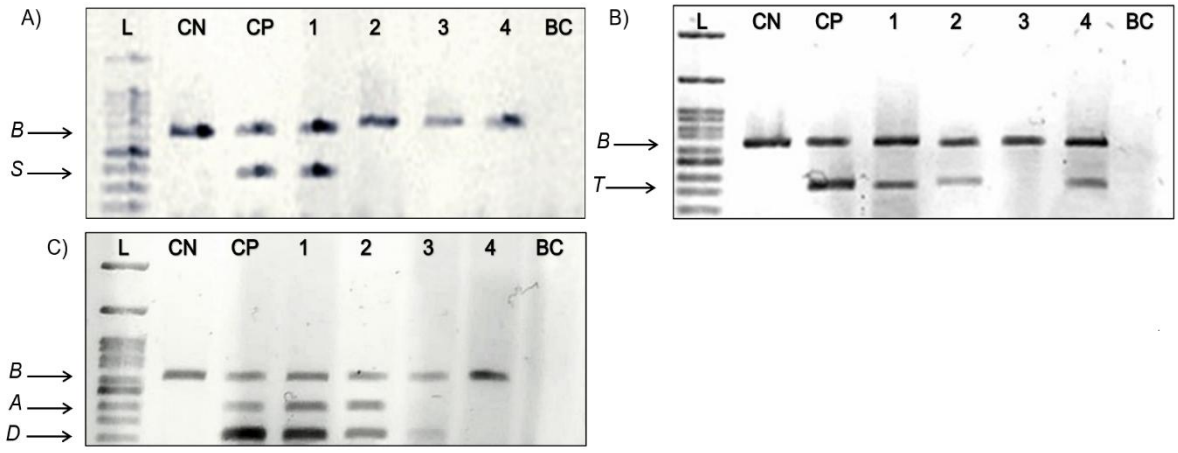
Gene	Sequência dos *primers*	Temp	Fragmentos (pb)
SRY	F: 5' GGA ATT CCC TAA CTC TAA GTA TCA GTG T 3' R: 5'GGA ATT CCG CAA ACT GCA ATT CTT CGG C 3'	58º C	314
TSPY	F: 5' GGC TTC TCA TTC CAC TCC AA 3' R: 5'CCT CTT CAG GTG GCT TCA TC 3'	60º C	312
AMGY	F: 5' AGC TTG GTT CTA TCC CAT CC 3' R: 5' ACA TTT GTC AGC AGC TTG TG 3'	64º C	367
DAZ	F: 5' TAA ATC TGT TGG ATC CTC TCA GC 3' R: 5' CAC AGA ACC AGG TTC TAA ATA AAC A 3'	64º C	210
β-Globina	F: 5' CCT GAG AGC TTG CTA GTG ATT 3' R: 5' TAG TCC CAC TGT GGA CTA CTT 3'	58-64º C	610

Temp = temperatura de anelamento.

Fonte: A autora (2023).

Os produtos da reação de PCR foram submetidos à eletroforese em gel (Figura 11) de agarose a 1%, contendo 1 µl de *DSView™ Nucleic Acid Stain* (Sinapse Inc.). As amostras foram coradas com 1,5 µl de *6x Gel Loading Dye* (Sinapse Inc.) para permitir a comparação das amostras com os fragmentos do cromossomo Y.

Figura 11 – Eletroforese em gel de agarose utilizando os produtos da PCR com as sequências do cromossomo Y. A) Seta com *S* indicando a banda de 314 pb do *SRY*. B) Seta com *T* indicando a banda de 312 pb do *TSPY*. C) Seta com *A* indicando a banda de 367 pb do *AMGY* e seta com *D* indicando a banda de 210 pb do *DAZ*. A seta com B presente em todas as corridas indica a banda de 610 pb do gene da β-globina, usado como um controle positivo da reação. L (Ladder - marcador de peso molecular), escada de 100 pb. CN (Controle Negativo dos genes). CP (Controle Positivo dos genes). 1-4 (Pacientes com ST). BC (Reação em Branco).



Fonte: Laboratório de Genética e Citogenética Animal e Humana – LGCAH/UFPE.

4 RESULTADOS

4.1 Caracterização citogenética

Nesse estudo, dos 68 indivíduos com SD cariotipados, 55,9% foram do sexo masculino e 44,1% do sexo feminino, numa proporção de 1,2:1. A idade dos indivíduos variou de 1 a 33 anos, com uma média de aproximadamente 8 anos.

A análise dos cariótipos revelou que a trissomia livre do cromossomo 21 ocorreu em 88,24% dos casos, o mosaicismo cromossômico em 8,82% e a translocação Robertsoniana em 2,94% dos indivíduos (Tabela 2).

Tabela 2 – Caracterização citogenética dos indivíduos com SD

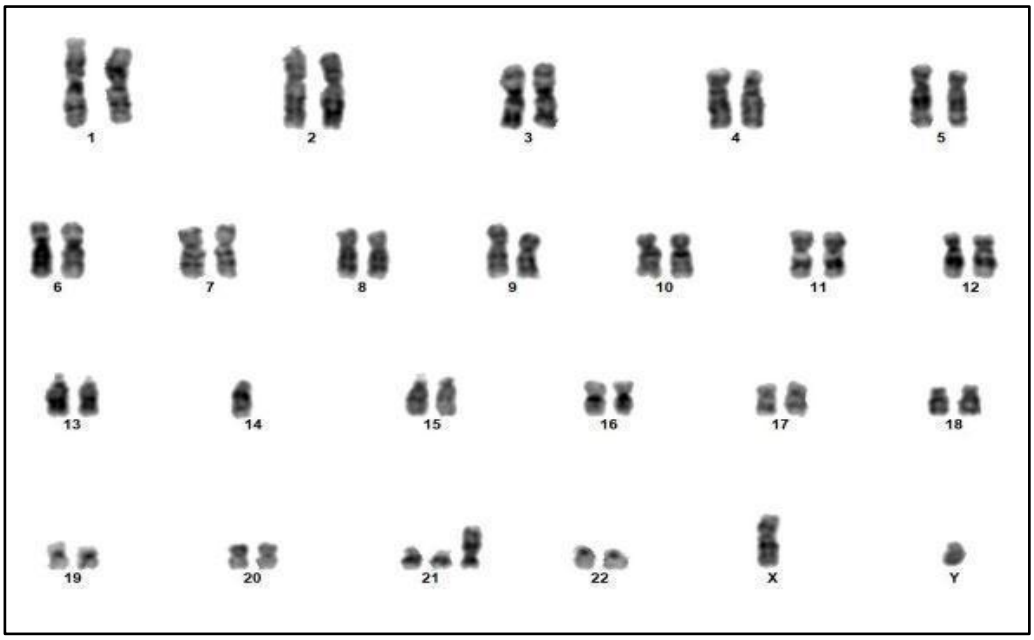
Cariótipos	Número de indivíduos	Percentual (%)	% Total
47,XY,+21	32	47,06	88,24
47,XX,+21	28	41,18	
47,XY,+21/46,XY	3	4,41	8,82
47,XX,+21/46,XX	1	1,47	
47,XY,+21/47,XXY	1	1,47	
47,XX,+mar[13]/47,XX,+21[9]/48,XX,+2mar[3]/49,XX,+3mar[2]/46,XX[3]	1	1,47	
47,XY,+dic(21),der(21;22)(q10;q10)	1	1,47	2,94
47,XY,+21,der(14;21)(q10;q10)	1	1,47	
Total	**68**	**100**	**100**

Fonte: A autora (2024).

No estudo, foram identificados dois casos de translocação Robertsoniana, com os seguintes cariótipos: 46,XY,+21,der(14;21)(q10;q10)[20] e 46,XY,+21,der(21;22)(q10;q10)[20] (Figuras 15 e 16). Após realização do bandeamento C, foi possível detectar que a translocação der(14;21) manteve o cromossomo monocêntrico, enquanto der(21;22) gerou um cromossomo dicêntrico (Figura 17), alterando a nomenclatura do cariótipo para 46,XY,+dic(21),der(21;22)(q10;q10)[20].

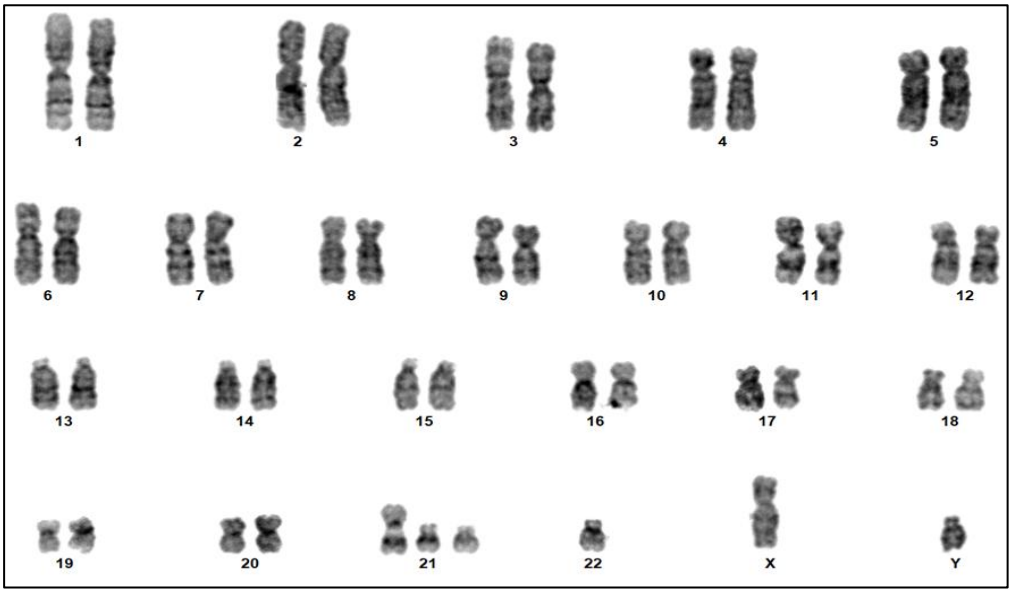
Entre os achados citogenéticos, um indivíduo de 12 anos apresentou o cariótipo 48,XXY,+21, caracterizando um caso de Síndrome de Down-Klinefelter.

Figura 12 – Cariótipo com bandeamento G: 46,XY,+21,der(14;21)(q10;q10)



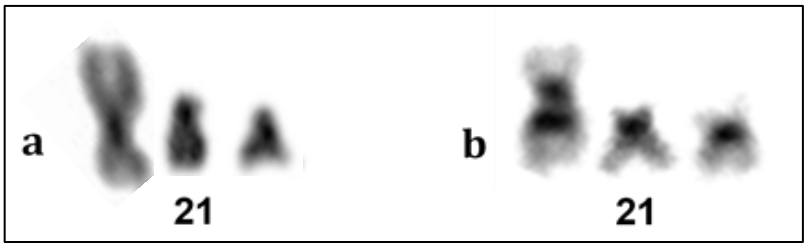
Fonte: LGCAH/UFPE.

Figura 13 – Cariótipo com bandeamento G 46,XY,dic(21),der(21;22)(q10;q10)



Fonte: LGCAH/UFPE.

Figura 14 – Translocações Robertsonianas com bandeamento C. (a). +21der(14;21); (b). +21der(21;22)



Fonte: LGCAH/UFPE.

4.2 Investigação molecular dos genes do cromossomo Y

As análises moleculares para avaliar a integridade dos genes do cromossomo Y foram realizadas em 22 indivíduos com SD, com idade variando de 1 a 15 anos e uma média de 10 anos. Nesse grupo, a trissomia livre foi observada em 90,9% dos casos (20 indivíduos), a translocação Robertsoniana em 0,05% (um indivíduo) e o mosaicismo cromossômico em 0,05% (um indivíduo). A investigação molecular por PCR convencional revelou resultados positivos para todas as sequências gênicas testadas – *SRY*, *AMGY*, *DAZ* e *TSPY* (Tabela 3). Nos outros 16 indivíduos não foi possível realizar a investigação dos genes do Y.

Tabela 3 – Investigação dos genes *SRY*, *AMGY*, *DAZ* e *TSPY* do cromossomo Y em 25 indivíduos com SD do sexo masculino

Indivíduos SD	Cariótipos	*SRY*	*AMGY*	*DAZ*	*TSPY*
01	47,XY,+21[20]	+	+	+	+
02	47,XY,+21[20]	+	+	+	+
03	47,XY,+21[20]	+	+	+	+
04	47,XY,+21[20]	+	+	+	+
05	47,XY,+21[20]	+	+	+	+
06	47,XY,+21[20]	+	+	+	+
07	47,XY,+21[20]	+	+	+	+
08	47,XY,+21,der(21;22)(q10;q10)[20]	+	+	+	+
09	47,XY,+21[20]	+	+	+	+
10	47,XY,+21[20]	+	+	+	+
11	47,XY,+21[20]	+	+	+	+
12	47,XY,+21[20]	+	+	+	+
13	47,XY,+21[20]	+	+	+	+
14	47,XY,+21[20]	+	+	+	+
15	47,XY,+21 [20]	+	+	+	+
16	47,XY,+21 [20]	+	+	+	+
17	47,XY,+21[20]	+	+	+	+
18	47,XY,+21[20]	+	+	+	+
19	47,XY,+21[48]/46,XY[2]	+	+	+	+
20	47,XY,+21[20]	+	+	+	+
21	47,XY,+21[20]	+	+	+	+
22	47,XY,+21[20]	+	+	+	+

Fonte: A autora (2024).

5 DISCUSSÃO

Em nosso estudo, a distribuição dos cariótipos dos 68 indivíduos analisados foi de 88,24% para trissomia livre, 8,82% para mosaicismo cromossômico e 2,94% para translocação Robertsoniana. No trabalho realizado por Chandra *et al*. (2010), com uma amostra de 1.020 indivíduos, as frequências observadas foram semelhantes às do nosso estudo com 83,8% para trissomia livre, 10,8% para mosaicismo cromossômico e 5% para translocações Robertsonianas. Esses dados sugerem que as discrepâncias nas frequências podem não estar diretamente relacionadas ao tamanho da amostra.

De modo geral, a trissomia livre do cromossomo 21 está presente em aproximadamente 95% dos casos de SD, enquanto a translocação Robertsoniana e o mosaicismo cromossômico são menos frequentes, representando cerca de 5% e 2% dos casos, respectivamente (Vičić *et al*., 2017; Jaiswal; Kumar; Rai, 2021). As variações nessas porcentagens podem estar relacionadas a diferenças na prevalência de nascimentos de crianças com SD entre países, influenciadas por fatores como a idade materna, o diagnóstico pré-natal da SD e a interrupção de gestações afetadas (Yaqoob *et al*., 2019).

Entre os 68 indivíduos analisados neste estudo, 38 (55,9%) eram do sexo masculino e 30 (44,1%) do sexo feminino, resultando em uma proporção de 1,2:1. Essa distribuição está em concordância com outros resultados encontrados por Flores-Ramirez *et al*. (2015) e John; Gayathri; Sahasranam (2022). Embora haja variações nas proporções de sexo relatadas em estudos citogenéticos na SD – como 1,1:1 ou 1,3:1 – essas diferenças provavelmente refletem variações populacionais (Flores-Ramirez *et al*., 2015).

Um achado relevante no nosso estudo foi a identificação de dois casos de translocação Robertsoniana – rob(14;21) e rob(21;22). A translocação Robertsoniana envolve a fusão de dois cromossomos acrocêntricos, como o cromossomo 21 com outros acrocêntricos (13, 14, 15, 21 ou 22). As alterações mais comuns são rob(14:21) e rob(21:21), sendo a fusão com o cromossomo 22 mais rara (Zhao *et al*., 2015).

No caso identificado da rob(21;22), além ser uma alteração rara, foi possível identificar a presença de um cromossomo dicêntrico, ou seja, a presença de dois centrômeros pela identificação da heterocromatina constitutiva evidenciada pelo bandeamento C. Cromossomos dicêntricos, gerados a partir de translocação

Robertsoniana, resultam de quebras nos dois braços curtos, com perda do material cromossômico remanescente durante as divisões celulares subsequentes (Alhalabi *et al*., 2018). A presença de múltiplos centrômeros em um único cromossomo pode causar uma interação anormal com o fuso mitótico, resultando em instabilidade cromossômica durante a mitose (Sato *et al*., 2012). Contudo, estudos recentes demonstram que mecanismos epigenéticos são capazes de induzir a inativação do centrômero adicional, mitigando esse problema (Kuse; Ishii, 2023).

Outro achado citogenético relevante em nossa pesquisa foi um indivíduo com cariótipo compatível para as síndromes de Down e Klinefelter (48,XXY,+21). Na literatura, há relatos de 67 casos de crianças com síndrome de Down-Klinefelter (48,XXY,+21) e um único caso com o cariótipo 47,XY,+i(X)(q10) (Pinti *et al*., 2020; Gunasekaran *et al*., 2024). Os achados clínicos desses casos se restringem às características da SD, com especulações sobre possíveis manifestações futuras da síndrome de Klinefelter (SK), uma vez que a SK se manifesta principalmente na puberdade (Alallah *et al*., 2022; Al Motawa *et al*., 2022). Embora seja conhecido que esses indivíduos são inférteis e tenham risco de desenvolver tumores testiculares, não há muitas investigações sobre a fertilidade masculina na SD e ainda menos sobre a integridade do cromossomo Y. No caso do paciente descrito em nosso estudo a investigação dos genes do Y será realizada.

A infertilidade masculina na síndrome de Down se baseia em apenas seis casos de fecundação descritos na literatura, sendo três fecundações espontâneas e três por meio de tecnologias de reprodução assistida (Aghajanova *et al*., 2015, 2016; Parizot *et al*., 2019). Essa infertilidade está associada a disfunções nas células de Sertoli e de Leydig, levando a uma falha na espermatogênese e resultando em azoospermia ou oligozoospermia, apesar de uma puberdade aparentemente normal (Whooten; Schmitt; Schwartz, 2018).

Apesar do conhecimento sobre a fisiologia dessa condição, os mecanismos moleculares que levam à infertilidade ainda são desconhecidos e, além disso pouco investigados. Por essa razão, este estudo representa uma das primeiras iniciativas na investigação das causas genéticas da infertilidade masculina na SD. As microdeleções do cromossomo Y representam a segunda causa genética mais comum de infertilidade masculina, ficando atrás apenas da síndrome de Klinefelter (Witherspoon; Dergham; Flannigan, 2021). A perda espontânea de informação genética nesse cromossomo ocorre naturalmente devido ao *crossing over*

desbalanceado com o cromossomo X. Além disso, o cromossomo Y contém muitas sequências repetitivas, o que contribui para sua grande instabilidade genômica, e carece de mecanismos de reparo por recombinação, fatores responsáveis pela maioria das microdeleções (Archana *et al*., 2023).

Essas microdeleções estão frequentemente associadas a casos de azoospermia e oligozoospermia, quadros comuns em indivíduos com síndrome de Down (Akhavizadegan, 2024). Em uma população chinesa de 4.714 homens inférteis, Chen *et al*. (2023a,b) identificaram que 48,84% (2.302 indivíduos) apresentavam alterações na contagem de espermatozoides (azoospermia, oligozoospermia ou criptozoospermia) e 3,31% (156 indivíduos) apresentaram microdeleções no cromossomo Y. No nosso estudo não encontramos deleções em nenhum dos genes analisados, corroborando com os achados na literatura (Yasin *et al*., 2014; Kalantari *et al*., 2023). Esses resultados reforçam a necessidade de investigar outros mecanismos genéticos e epigenéticos que possam contribuir para a infertilidade em indivíduos SD, além do cromossomo Y.

Existem poucos estudos envolvendo alterações cromossômicas sexuais na síndrome de Down, e este será o terceiro a ser registrado na literatura. Em 2014, Yasin *et al*. investigaram a integridade do cromossomo Y de 22 homens com SD e nenhum apresentou microdeleções. Kalantari *et al*. (2023) realizaram um estudo de coortes com 10.388 homens inférteis (com quadros de azoospermia e oligozoospermia), entre os quais apenas dois tinham síndrome de Down e apresentavam o cromossomo Y conservado.

Diferenças na integridade do cromossomo Y podem existir entre DNA sanguíneo e espermático, uma vez que ambos possuem origens embriológicas distintas, nesse contexto, o DNA espermático está mais suscetível a danos causados por estresse oxidativo (Archana *et al*., 2023). Dessa forma, seria importante fazer uma avaliação complementar de DNA espermático dos indivíduos. O exame de microdeleções e o aconselhamento genético são fundamentais para casais com problemas de fertilidade que desejam ter filhos, pois essa alteração pode ser evitada na prole através das tecnologias de reprodução assistida (Lee *et al*., 2024).

Além disso, estudos recentes sugerem que a infertilidade na SD pode estar relacionada a genes localizados no cromossomo 21, como o gene *DYRK1A*, que desempenha um papel crucial na diferenciação das espermatogônias (Liu *et al*., 2017; Dard *et al*., 2021). Outras hipóteses incluem a desregulação do sistema imunológico,

uma vez que indivíduos com SD apresentam uma resposta imune hiperativa, o que pode contribuir para a infertilidade (Chen *et al*., 2023; Zimmer *et al*., 2024).

Em conclusão, embora nosso estudo não tenha identificado deleções nos genes do cromossomo Y, ele abre caminho para investigações futuras sobre outros fatores genéticos e epigenéticos envolvidos na infertilidade masculina na SD. A compreensão desses mecanismos é essencial para o aconselhamento genético e o desenvolvimento de estratégias terapêuticas para casais que desejam ter filhos.

6 CONCLUSÕES

1. O cariótipo foi definido para todos os indivíduos com SD incluídos na amostra, com a trissomia livre presente em 88,24% dos casos, o mosaicismo cromossômico em 8,82% e a translocação Robertsoniana em 2,94% dos indivíduos;
2. A proporção entre os indivíduos masculinos e femininos foi de 1,2:1, se apresentando em concordância com a literatura;
3. A frequência do mosaicismo cromossômico foi de 8,8%, apresentando-se mais alta do que relata a literatura, com cerca de 2,2%;
4. A análise molecular confirmou a integridade dos genes do cromossomo Y nos 22 indivíduos com SD investigados, evidenciado a integridade para todos os genes.

REFERÊNCIAS

AGARWAL GUPTA, N.; KABRA, M. Diagnosis and management of Down syndrome. **The Indian Journal of Pediatrics**, v. 81, p. 560-567, 2014.

AGHAJANOVA, L. *et al.* Birth of a healthy child after preimplantation genetic screening of embryos from sperm of a man with non-mosaic Down syndrome. **Journal of Assisted Reproduction and Genetics**, v. 32, p. 1409–1413, 2015.

AGHAJANOVA, L. *et al.* Birth of a healthy child after pre-implantation genetic screening of embryos from sperm of a man with nonmosaic Down syndrome. **Journal of Assisted Reproduction and Genetics**, v. 33, p. 675, 2016.

AKHAVIZADEGAN, H. Male Genetic Evaluation in Infertility, Recurrent Abortion and Recurrent in Vitro Fertilization Failure; A Clinical Approach. **Urology journal**, v. 21, n. 4, p. 221–225, 2024.

AL MOTAWA, M. N. *et al*. Rare double aneuploidy (Down-Klinefelter syndrome): a case report. **Cureus**, v. 14, n. 11, 2022.

ALALLAH, J. *et al*. Down-Klinefelter syndrome (48,XXY,+21) in a Saudi neonate: a case report and literature review. **Cureus**, v. 14, n. 4, 2022.

ALHALABI, N. *et al.* De novo balanced robertsonian translocation rob (22;22)(q10; q10) in a woman with recurrent pregnancy loss: A Rare Case. **Journal of Reproduction & Infertility**, v. 19, n. 1, p. 61, 2018.

ALLDRED, M. J. *et al.* Aging with Down Syndrome-Where Are We Now and Where Are We Going? **Journal of clinical medicine**, v. 10, n. 20, 2021.

ANTONARAKIS, S. E. *et al.* Down syndrome. **Nature Reviews Disease Primers**, v. 6, n. 1, p. 9, 2020.

ARCHANA, S. *et al*. The comparison of Y chromosome microdeletion incidence in blood DNA and sperm cell DNA. **Molecular Biology Reports**, v. 50, n. 2, p. 1203-1208, 2023.

ARCOVERDE, J. V. De B. *et al.* Expression profile of inflammasome genes in individuals with Down syndrome. **Genetics and Molecular Biology**, v. 47, n. 4, p. e20230339, 2024.

BARONI, T. *et al.* On the origin of testicular germ cell tumors: from gonocytes to testicular cancer. **Frontiers in endocrinology**, v. 10, p. 343, 2019.

BULL, M. J. Down Syndrome. **The New England journal of medicine**, v. 382, n. 24, p. 2344–2352, 2020.

CHANDRA, N. *et al.* Cytogenetic evaluation of down syndrome: A review of 1020 referral cases. **International Journal of Human Genetics**, v. 10, n. 1–3, p. 87–93, 2010.

CHEN, D. *et al*. Y chromosome microdeletions in Chinese men with infertility: prevalence, phenotypes, and intracytoplasmic sperm injection outcomes. **Reproductiv Biology and Endocrinology**, v. 21, n. 1, 2023a.

CHEN, J. *et al.* Microbiology and immune mechanisms associated with male infertility. **Frontiers in immunology**, v. 14. p. 1139450, 2023b.

CICCARONE, F. *et al.* DNA methylation dynamics in aging: how far are we from understanding the mechanisms? **Mechanisms of ageing and development**, v. 174, p. 3–17, 2018.

CIPRIANI, G. *et al.* Aging With Down Syndrome: The Dual Diagnosis: Alzheimer's Disease and Down Syndrome. **American Journal of Alzheimer's Disease and other Dementias**, v. 33, n. 4, p. 253–262, 2018.

COLACO, S.; MODI, D. Genetics of the human Y chromosome and its association with male infertility. **Reproductive biology and endocrinology**, v. 16, p. 1–24, 2018.

COLACO, S.; MODI, D. Consequences of Y chromosome microdeletions beyond male infertility. **Journal of assisted reproduction and genetics**, v. 36, p. 1329-1337, 2019.

COPPEDÈ, F. Risk factors for Down syndrome. **Arch Toxicol**, v. 3, p. 2917–2929, 2016.

DARD, R. *et al.* DYRK1A Overexpression in Mice Downregulates the Gonadotropic Axis and Disturbs Early Stages of Spermatogenesis. **Genes**, v. 12, n. 11, 2021.

DASH, H. R.; RAWAT, N.; DAS, S. Alternatives to amelogenin markers for sex determination in humans and their forensic relevance. **Molecular biology reports**, v. 47, n. 3, p. 2347-2360, 2020.

DAS, P. P. *et al.* Establishing gene Amelogenin as sex-specific marker in yak by genomic approach. **Journal of Genetics**, v. 98, p. 7, 2019.

DENG, C. Y. *et al.* Microdeletions and vertical transmission of the Y-chromosome azoospermia factor region. **Asian journal of andrology**, v. 25, n. 1, p. 5–12, 2023.

DHANOA, J. K.; MUKHOPADHYAY, C. S.; ARORA, J. S. Y-chromosomal genes affecting male fertility: A review. **Veterinary world**, v. 9, n. 7, p. 783, 2016.

DONATE, A. *et al.* Paternal age and numerical chromosome abnormalities in human spermatozoa. **Cytogenetic and Genome Research**, v. 148, n. 4, p. 241–248, 2016.

FLORES-RAMÍREZ, F. *et al*. Cytogenetic profile in 1,921 cases of trisomy 21 syndrome. **Archives of medical research**, v. 46, n. 6, p. 484-489, 2015.

FU, X.-F. *et al.* DAZ family proteins, key players for germ cell development. **International journal of biological sciences**, v. 11, n. 10, p. 1226, 2015.

GRAAF, G. DE; BUCKLEY, F.; SKOTKO, B. G. Estimation of the number of people with Down syndrome in the United States. **Genetics in Medicine**, v. 19, p. 439–447, 2017.

GUNASEKARAN, Pradeep Kumar et al. Down-Klinefelter Syndrome With Concurrent Double Aneuploidy in an Indian Child. **Cureus**, v. 16, n. 3, 2024.

HIRAOKA, M.; KAGAWA, Y. Genetic polymorphisms and folate status. **Congenital anomalies**, v. 57, n. 5, p. 142–149, 2017.

HUANG, T. *et al*. Chromosomal and cellular therapeutic approaches for Down syndrome: A research update. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, p. 150664, 2024.

JACKSON, M. *et al.* The genetic basis of disease. **Essays in Biochemistry**, v. 62, p. 643–723, 2018.

JAISWAL, Sushil Kumar; KUMAR, Ashok; RAI, Amit Kumar. Molecular cytogenetic classification of down syndrome and screening of somatic aneuploidy in mothers. **Cytogenetic and Genome Research**, v. 161, n. 8–9, p. 397–405, 2021.

JOHN, S. T.; GAYATHRI, K.; SAHASRANAM, K. V. Cytogenetic patterns, congenital heart disease, and thyroid dysfunction in children with Down syndrome. **The Journal of Pediatrics**, v. 245, p. 196-200, 2022.

KALANTARI, H. *et al.* Bridging the Gap between AZF Microdeletions and Karyotype: Twelve Years' Experience of an Infertility Center. **The World Journal of Men's Health**, v. 41, n. 3, p. 659, 2023.

KAMIŃSKI, P. *et al.* External and genetic conditions determining male infertility. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 21, n. 15, p. 5274, 2020.

KATAGIRI, Y.; TAMAKI, Y. Genetic counseling prior to assisted reproductive technology. **Reproductive Medicine and Biology**, v. 20, n. 2, p. 133-143, 2020.

KIM, S. *et al*. Mechanisms of germ line genome instability. **Seminars in Cell and Developmental Biology**, v. 54, p. 177–187, 2016.

KOZLOV, G.; FRANCESCHI, C.; VEDUNOVA, M. Intricacies of Aging and Down Syndrome. **Neuroscience & Biobehavioral Reviews**, p. 105794, 2024.

KUMAR, N.; SINGH, A. K. Trends of male factor infertility, an important cause of infertility: A review of literature. **Journal of human reproductive sciences**, v. 8, n. 4, p. 191–196, 2015.

KUSE, R.; ISHII, K. Flexible Attachment and Detachment of Centromeres and Telomeres to and from Chromosomes. **Biomolecules**, v. 13, n. 6, p. 1016, 2023.

LAU, Y. F.; LI, Y.; KIDO, T. Battle of the sexes: contrasting roles of testis-specific protein Y-encoded (TSPY) and TSPX in human oncogenesis. **Asian journal of andrology**, v. 21, n. 3, p. 260–269, 2019.

LEE, T. H. *et al*. An analysis of Y-chromosome microdeletion in infertile Korean men with severe oligozoospermia or azoospermia. **Investigative and Clinical Urology**, v. 65, n. 1, p. 77, 2024.

LI, L. *et al.* High frequency of Y chromosome microdeletions in male infertility patients with 45,X/46,XY mosaicism. **Brazilian journal of medical and biological research**, v. 53, n. 3, 2020.

LIU, Y. *et al.* Overexpression of DYRK1A, a Down Syndrome Candidate gene, Impairs Primordial Germ Cells Maintenance and Migration in zebrafish. **Scientific reports**, v. 7, n. 1, 2017.

MASSAIA, A.; XUE, Y. Human Y chromosome copy number variation in the next generation sequencing era and beyond. **Human Genetics**, v. 136, p. 591-603, 2017.

MCCOY, R. C. *et al.* Evidence of selection against complex mitotic-origin aneuploidy during preimplantation development. **PLoS genetics**, v. 11, n. 10, p. e1005601, 2015.

METWALLEY, K. A.; FARGHALY, H. S. Endocrinal dysfunction in children with Down syndrome. **Annals of pediatric endocrinology & metabolism**, v. 27, n. 1, p. 15, 2022.

MOINI, J.; LOGALBO, A.; AHANGARI, R. Chapter 2 - Genetics and behavior. *Em*: MOINI, J.; LOGALBO, A.; AHANGARI, R. (Org.). **Foundations of the Mind, Brain, and Behavioral Relationships**. [S.l.]: Elsevier, 2024, p. 11–37.

MORRIS, J. K. Trisomy 21 mosaicism and maternal age. **American Journal of Medical Genetics Part A**, v. 158, n. 10, p. 2482–2484, 2012.

NONGTHOMBAM, P. D.; MALINI, S. S. Association of DAZL polymorphisms and DAZ deletion with male infertility: a systematic review and meta-analysis. **Genes & Genomics**, v. 45, n. 6, p. 709–722, 2023.

OHNESORG, T.; VILAIN, E.; SINCLAIR, A. H. The genetics of disorders of sex development in humans. **Sexual Development**, v. 8, n. 5, p. 262-272, 2014.

OKASHITA, N.; TACHIBANA, M. Transcriptional regulation of the Y-linked mammalian testis-determining gene SRY. **Sexual Development**, v. 15, n. 5-6, p. 351-359, 2021.

OU, N. *et al*. Primate-Specific DAZ Regulates Translation of Cell Proliferation-Related mRNAs and is Essential for Maintenance of Spermatogonia. **Advanced Science**, v. 11, n. 29, p. 2400692, 2024.

PALADHI, P. *et al.* Novel mutations of TSPY1 gene associate spermatogenic failure among men. **Reproductive Sciences**, v. 29, n. 4, p. 1241–1261, 2022.

PARIZOT, E. *et al.* Down syndrome and infertility: what support should we provide? **Journal of Assisted Reproduction and Genetics**, v. 36, p. 1063–1067, 2019.

PEDERSEN, M. R. *et al.* Testicular microlithiasis and testicular cancer: review of the literature. **International urology and nephrology**, v. 48, p. 1079–1086, 2016.

PELLERI, M. C. *et al.* Systematic reanalysis of partial trisomy 21 cases with or without Down syndrome suggests a small region on 21q22. 13 as critical to the phenotype. **Human molecular genetics**, v. 25, n. 12, p. 2525–2538, 2016.

PINTI, E. *et al.* What should we consider in the case of combined Down-and 47, XY,+ i (X)(q10) Klinefelter syndromes? The unique case of a male newborn and review of the literature. **BMC pediatrics**, v. 20, p. 1–8, 2020.

POOT, M.; HOCHSTENBACH, R. Prevalence and phenotypic impact of Robertsonian translocations. **Molecular syndromology**, v. 12, n. 1, p. 1–11, 2021.

PUNJABI, U. *et al.* Sperm as a carrier of genome instability in relation to paternal lifestyle and nutritional conditions. **Nutrients**, v. 14, n. 15, p. 3155, 2022.

RABINOWITZ, M. J. *et al.* Y-chromosome microdeletions: a review of prevalence, screening, and clinical considerations. **The Application of Clinical Genetics**, p. 51–59, 2021.

RANCHIN, B. *et al.* Kidney and urological involvement in Down syndrome: frequent, underestimated, but associated with impaired quality of life and risk of kidney failure. **Pediatric Nephrology**, v. 39, n. 2, p. 347–355, 2024.

REDHEAD, Y. *et al*. Craniofacial dysmorphology in Down syndrome is caused by increased dosage of Dyrk1a and at least three other genes. **Development**, v. 150, n. 8, p. dev201077, 2023.

RHIE, A. *et al.* The complete sequence of a human Y chromosome. **Nature**, v. 621, n. 7978, p. 344–354, 2023.

RHO, N. Y. *et al.* Testis-Specific Protein Y-Encoded (TSPY) Is Required for Male Early Embryo Development in Bos taurus. **International journal of molecular sciences**, v. 24, n. 4, p. 3349, 2023.

RONDAL, J. A. Down syndrome: A curative prospect? **AIMS neuroscience**, v. 7, n. 2, p. 168, 2020.

ROWSEY, R. *et al*. Germline mosaicism does not explain the maternal age effect on trisomy. **American Journal of Medical Genetics Part A**, v. 161, n. 10, p. 2495-2503, 2013.

SÁNCHEZ-PAVÓN, E.; MENDOZA, H.; GARCÍA-FERREYRA, J. Trisomy 21 and assisted reproductive technologies: a review. **JBRA Assisted Reproduction**, v. 26, n. 1, p. 129, 2022.

SATO, H. *et al.* Article Epigenetic Inactivation and Subsequent Heterochromatinization of a Centromere Stabilize Dicentric Chromosomes. **Current Biology**, v. 22, p. 658–667, 2012.

SEN, S. *et al.* Susceptibility of gr/gr rearrangements to azoospermia or oligozoospermia is dependent on DAZ and CDY1 gene copy deletions. **Journal of assisted reproduction and genetics**, v. 32, n. 9, p. 1333–1341, 2015.

SHE, Z. Y.; YANG, W. X. Sry and SoxE genes: How they participate in mammalian sex determination and gonadal development? **Seminars in cell & developmental biology**, v. 63, p. 13–22, 2017.

SUDHAKAR, D. V. S.; SHAH, R.; GAJBHIYE, R. K. Genetics of Male Infertility - Present and Future: A Narrative Review. **Journal of human reproductive sciences**, v. 14, n. 3, p. 217–227, 2021.

SUKLA, K. K. *et al.* Role of folate-homocysteine pathway gene polymorphisms and nutritional cofactors in Down syndrome: A triad study. **Human reproduction**, v. 30, n. 8, p. 1982–1993, 2015.

SYNDERCOMBE COURT, D. The Y chromosome and its use in forensic DNA analysis. **Emerging topics in life sciences**, v. 5, n. 3, p. 427–441, 2021.

TAYLOR, T. H. *et al.* The origin, mechanisms, incidence and clinical consequences of chromosomal mosaicism in humans. **Human reproduction update**, v. 20, n. 4, p. 571–581, 2014.

TSOU, A. Y. *et al*. Medical care of adults with Down syndrome: a clinical guideline. **Jama**, v. 324, n. 15, p. 1543-1556, 2020.

VIČIĆ, A. *et al.* Prenatal diagnosis of Down syndrome: A 13-year retrospective study. **Taiwanese Journal of Obstetrics and Gynecology**, v. 56, n. 6, p. 731–735, 2017.

VINING, B. *et al*. Diverse regulation but conserved function: SOX9 in vertebrate sex determination. **Genes**, v. 12, n. 4, p. 486, 2021.

VIOTTI, M. Preimplantation genetic testing for chromosomal abnormalities: aneuploidy, mosaicism, and structural rearrangements. **Genes**, v. 11, n. 6, p. 602, 2020.

VOGT, P. H. *et al.* Gonadoblastoma Y locus genes expressed in germ cells of individuals with dysgenetic gonads and a Y chromosome in their karyotypes include DDX3Y and TSPY. **Human reproduction (Oxford, England)**, v. 34, n. 4, p. 770–779, 2019.

WASEEM, A. S. *et al.* AZF deletions in Indian populations: original study and meta-analyses. **Journal of Assisted Reproduction and Genetics**, v. 37, p. 459–469, 2020.

WHOOTEN, R.; SCHMITT, J.; SCHWARTZ, A. Endocrine manifestations of Down syndrome. **Current opinion in endocrinology, diabetes, and obesity**, v. 25, n. 1, p. 61–66, 2018.

WITHERSPOON, L.; DERGHAM, A.; FLANNIGAN, R. Y-microdeletions: a review of the genetic basis for this common cause of male infertility. **Translational Andrology and Urology**, v. 10, n. 3, p. 1383, 2021.

XIE, J. *et al.* Deletion mapping of the regions with AMELY from two Chinese males. **Legal Medicine**, v. 16, n. 5, p. 290–292, 2014.

XU, Y.; PANG, Q. Repetitive DNA sequences in the human Y chromosome and male infertility. **Frontiers in Cell and Developmental Biology**, v. 10, p. 831338, 2022.

YAQOOB, M. *et al.* Congenital heart disease and thyroid dysfunction in Down syndrome reported at Children`s Hospital, Lahore, Pakistan. **The Turkish journal of pediatrics**, v. 61, n. 6, p. 915–924, 2019.

YASIN, S. R. *et al.* Genomic integrity of the Y chromosome sequence-tagged-sites in infertile and D own syndrome Jordanian males. **Andrologia**, v. 46, n. 7, p. 770–776, 2014.

YU, X. W. *et al.* Y chromosome azoospermia factor region microdeletions and transmission characteristics in azoospermic and severe oligozoospermic patients. **International Journal of Clinical and Experimental Medicine**, v. 8, n. 9, p. 14634, 2015.

ZHAO, W.-W. *et al.* Robertsonian translocations: an overview of 872 Robertsonian translocations identified in a diagnostic laboratory in China. **PLoS One**, v. 10, n. 5, p. e0122647, 2015.

ZIMMER, J. *et al.* Low androgen signaling rescues genome integrity with innate immune response by reducing fertility in humans. **Cell death & disease**, v. 15, n. 1, 2024.

ANEXO A – Parecer do Comitê de Ética

UFPE - UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO - CAMPUS RECIFE - UFPE/RECIFE

PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: Avaliação de polimorfismos e expressão de genes relacionados às doenças autoimunes/inflamatórias em pacientes com síndrome de Down

Pesquisador: JULIANA VIEIRA DE BARROS ARCOVERDE

Área Temática:

Versão: 2

CAAE: 58177422.2.0000.5208

Instituição Proponente: CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 5.482.843

Apresentação do Projeto:

Trata-se de um projeto de doutorado apresentado pela Discente Juliana Vieira de Barros Arcoverde, regularmente matriculada no Programa de Pós-Graduação em Genética, CB, UFPE, sob a orientação da Prof.ª Drª Neide Santos Co-orientação da Prof.ª Drª Jaqueline de Azevedo Silva.

Objetivo da Pesquisa:

OBJETIVO GERAL

Investigar associações entre polimorfismos dos genes NLRP1, NLRP3, PTPN22, CTLA-4 e VDR coma susceptibilidade ao desenvolvimento de doenças autoimunes/inflamatórias e o perfil de expressão de marcadores moleculares do inflamassoma em pacientes com síndrome de Down (SD).

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

1. Estratificar os pacientes em categorias de acordo com o cariótipo;
2. Verificar se existe associação entre os polimorfismos, rs2670660 (NLRP1); rs35829419, rs10754558, rs12239046, rs4925659 (NLRP3); rs2476601 (PTPN22); rs231775, rs3087243 (CTLA-4); rs2228570 e rs11568820 (VDR) com a susceptibilidade no desenvolvimento de doenças autoimunes/inflamatórias crônicas em pacientes com síndrome de Down;
3. Avaliar os níveis de expressão dos genes Nlrp1 e Nlrp3, VDR, PTPN22 e CTLA-4 em pacientes SD e controles;
4. Avaliar os níveis de expressão de IL-1, IL-18 e IL-6 em pacientes SD e nos controles.

Endereço: Av. das Engenhasria, s/n, 1º andar, sala 4 - Prédio do Centro de Ciências da Saúde
Bairro: Cidade Universitária **CEP:** 50.740-600
UF: PE **Município:** RECIFE
Telefone: (81)2126-8588 **Fax:** (81)2126-3163 **E-mail:** cephumanos.ufpe@ufpe.br

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

RISCOS: a pesquisadora refere o risco inerente à coleta de sangue para realiação dos exames e descreveu a minmização de forma adequada. Foi anexado termo de compromisso e confidencialidade.

BENEFÍCIOS: A pesquisadora refere que este trabalho não trará benefícios diretos aos pacientes, mas, a partir da análise nas diferenças entre os genes relacionados com doenças autoimunes/inflamatórias será possível um melhor entendimento do papel desses genes no aumento dessas doenças em pessoas com síndrome de Down, visando a definição de futuras estratégias terapêuticas, em busca de tratamentos mais eficazes.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

O tema é importante. O estudo será do tipo transversal, analítico com comparação de grupos (caso – controle) com amostras independentes constando de dados nominais (genótipo). Nesse estudo serão analisados 200 pacientes clinicamente diagnosticados com a síndrome de Down provenientes de ONGs (foi anexada a carta de anuência do GURI). Outras ONGs ainda estão sendo contactadas.

Serão coletados de cada participante 8 ml de sangue em tubos contendo heparina e EDTA. No momento da coleta será feito um pequeno questionário sobre resultados de exames de rotina, como hemograma e exames hormonais.

O material extraído das amostras de sangue, caracterizado como biorepositório, ficará guardado num freezer no Laboratório de Genética e Citogenética Animal e Humana (LGCAH), sob a responsabilidade da pesquisadora/professora Neide Santos, no endereço: Av. Prof. Moraes Rego, 1235, Departamento de Genética – Cidade Universitária, Recife, Pernambuco. CEP: 50670-901, pelo período de mínimo 5 anos após o término da pesquisa. Os dados coletados através dos questionários nesta pesquisa ficarão armazenados em pastas de arquivos no computador do laboratório citado anteriormente.

Na amostra do grupo controle serão utilizados DNA de indivíduos saudáveis, sem SD e sem doenças autoimunes/inflamatórias crônicas, disponibilizados pelo Laboratório de Biologia Molecular do Laboratório de Imunopatologia Keizo Asami (LIKA) e um segundo grupo controle de indivíduos com SD, sem doenças autoimunes/inflamatórias crônicas triados a partir da amostra de pacientes (A triagem será feita por meio de um pequeno questionário para a obtenção dos dados de exame de rotina, como hemograma e exames hormonais).

O cronograma apresentado está coerente com a pesquisa. O orçamento apresentado é de R$ 18.490,00 e será de responsabilidade da pesquisadora principal.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Foram anexados: 1 - Folha de rosto; 2 - Declaraçao de vínculo da aluna com a Pós; 3 - Termo de compromisso e confidencialidade; 4 - Lattes das pesquisadoras; 5 - Projetos detalhado e projeto modelo plataforma; 6 - TCLE para maiores de 18 anos, TCLE para responsáveis por menores de 18 anos e TALE; 7 - Carta de anuência do LIKA (local que disponibilizará o DNA dos controles saudáveis); 8 - Carta de anuência do GURI, uma das ONGs que participará da pesquisa.

Recomendações:

Não há.

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Aprovado.

Considerações Finais a critério do CEP:

As exigências foram atendidas e o protocolo está APROVADO, sendo liberado para o início da coleta de dados. Informamos que a APROVAÇÃO DEFINITIVA do projeto só será dada após o envio do Relatório Final da pesquisa. O pesquisador deverá fazer o download do modelo de Relatório Final para enviá-lo via "Notificação", pela Plataforma Brasil. Siga as instruções do link "Para enviar Relatório Final", disponível no site do CEP/CCS/UFPE. Após apreciação desse relatório, o CEP emitirá novo Parecer Consubstanciado definitivo pelo sistema Plataforma Brasil.

Informamos, ainda, que o (a) pesquisador (a) deve desenvolver a pesquisa conforme delineada neste protocolo aprovado, exceto quando perceber risco ou dano não previsto ao voluntário participante (item V.3., da Resolução CNS/MS Nº 466/12).

Eventuais modificações nesta pesquisa devem ser solicitadas através de EMENDA ao projeto, identificando a parte do protocolo a ser modificada e suas justificativas.

Para projetos com mais de um ano de execução, é obrigatório que o pesquisador responsável pelo Protocolo de Pesquisa apresente a este Comitê de Ética relatórios parciais das atividades desenvolvidas no período de 12 meses a contar da data de sua aprovação (item X.1.3.b., da Resolução CNS/MS Nº 466/12).

O CEP/CCS/UFPE deve ser informado de todos os efeitos adversos ou fatos relevantes que alterem o curso normal do estudo (item V.5., da Resolução CNS/MS Nº 466/12). É papel do/a pesquisador/a assegurar todas as medidas imediatas e adequadas frente a evento adverso grave ocorrido (mesmo que tenha sido em outro centro) e ainda, enviar notificação à ANVISA – Agência

Nacional de Vigilância Sanitária, junto com seu posicionamento.

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_PROJETO_1671322.pdf	21/06/2022 17:57:55		Aceito
Outros	Carta_anuencia_LIKA.pdf	21/06/2022 17:57:19	JULIANA VIEIRA DE BARROS ARCOVERDE	Aceito
Outros	Carta_anuencia_GURI.jpg	21/06/2022 17:56:44	JULIANA VIEIRA DE BARROS ARCOVERDE	Aceito
Outros	CARTA_RESPOSTA.docx	21/06/2022 17:53:41	JULIANA VIEIRA DE BARROS ARCOVERDE	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TALEMenor7a18.doc	21/06/2022 17:51:20	JULIANA VIEIRA DE BARROS ARCOVERDE	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLEResponsaveismenores.doc	21/06/2022 17:51:04	JULIANA VIEIRA DE BARROS ARCOVERDE	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLEMaiores18.doc	21/06/2022 17:50:47	JULIANA VIEIRA DE BARROS ARCOVERDE	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	PROJETO_JulianaVieira.docx	21/06/2022 17:49:58	JULIANA VIEIRA DE BARROS ARCOVERDE	Aceito
Outros	DISPENSA_CARTADEANUENCIA.docx	26/04/2022 13:44:55	JULIANA VIEIRA DE BARROS ARCOVERDE	Aceito
Outros	Termo_confidencialidade.docx	26/04/2022 13:44:27	JULIANA VIEIRA DE BARROS ARCOVERDE	Aceito
Outros	declaracao_20193009811.pdf	25/04/2022 21:23:34	JULIANA VIEIRA DE BARROS ARCOVERDE	Aceito
Outros	CurriculoLattes_NeideSantos.pdf	25/04/2022 21:22:50	JULIANA VIEIRA DE BARROS ARCOVERDE	Aceito

Outros	CurriculoLattes_JulianaVieiradeBarrosArcoverde.pdf	25/04/2022 21:22:35	JULIANA VIEIRA DE BARROS ARCOVERDE	Aceito
Outros	CurriculoLattes_JaquelinedeAzevedoSilva.pdf	25/04/2022 21:22:22	JULIANA VIEIRA DE BARROS ARCOVERDE	Aceito
Outros	CurriculoLattes_CarlaFernandesdosSantos.pdf	25/04/2022 21:22:06	JULIANA VIEIRA DE BARROS ARCOVERDE	Aceito
Folha de Rosto	folhaDeRosto.pdf	25/04/2022 21:16:25	JULIANA VIEIRA DE BARROS ARCOVERDE	Aceito

Situação do Parecer:
Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:
Não

RECIFE, 22 de Junho de 2022

Assinado por:
LUCIANO TAVARES MONTENEGRO
(Coordenador(a))