

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO MARANHÃO  
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE  
MESTRADO EM SAÚDE E AMBIENTE**

**Antonio Alberto Carvalho**

**CARACTERIZAÇÃO DE PACIENTES COM INDICAÇÃO CLÍNICA PARA  
CARIÓTIPO EM UM HOSPITAL DE REABILITAÇÃO (São Luís –MA)**

**São Luís  
2006**

**Antonio Alberto Carvalho**

**CARACTERIZAÇÃO DE PACIENTES COM INDICAÇÃO CLÍNICA PARA  
CARIÓTIPO EM UM HOSPITAL DE REABILITAÇÃO (São Luís –MA)**

Dissertação apresentada ao Mestrado em Saúde e Ambiente como requisito para obtenção do título de Mestre em Saúde e Ambiente.

Área de concentração: Biologia de Populações.  
Orientadora: Profa. Dra. Emygdia R.R.B.L. Mesquita

**São Luís  
2006**

**Antonio Alberto Carvalho**

**CARACTERIZAÇÃO DE PACIENTES COM INDICAÇÃO CLÍNICA PARA  
CARIÓTIPO EM UM HOSPITAL DE REABILITAÇÃO (São Luís –MA).**

Dissertação apresentada ao Mestrado em  
Saúde e Ambiente como requisito para  
obtenção do título de Mestre em Saúde e  
Ambiente.

Área de concentração: Biologia de Populações.

Comissão julgadora  
da  
Dissertação para obtenção do título de Mestre

**Prof. Dra. Emygdia Rosa do R. B. Pires Leal Mesquita** (Orientadora)  
Universidade Federal do Maranhão

**Profa. Dra. Alcione Miranda dos Santos**  
Universidade Federal do Maranhão

**Prof. Dr. Valdinar Sousa Ribeiro**  
Universidade Federal do Maranhão

**Prof. Dr. Rommel Mario Rodríguez Burbano**  
Universidade Federal do Pará

São Luís, junho de 2006.

À minha mãe Maria Cristina Carvalho (*in  
memorian*) pelo amor e dedicação, eu dedico.

À minha esposa Aurora Patrícia e às minhas filhas  
Raphaela e Renata, eu ofereço.

## AGRADECIMENTOS

A Deus pela oportunidade de realização deste trabalho.

À minha Orientadora, Profa. Dra. Emygdia, pela orientação e carinho durante todo o processo de execução do trabalho.

À minha família, esposa e filhas, por serem motivadoras dos meus esforços.

À bióloga Marina Francchini, pela colaboração e demonstração de amizade.

Às estatísticas Alcione Miranda e Joria, pela ajuda na análise dos dados.

À Farmacêutica Elizamy e aos Analistas de Sistema Fábio e João Marcelo, pela colaboração.

À bibliotecária Maria de Lourdes, pela ajuda na pesquisa dos dados de prontuário.

Aos meus colegas de trabalho, pela compreensão de minha ausência durante alguns momentos.

Ao Dr. Ricardo Kallil, Dr. Bruce e à Dra. Tereza Bunte, pelo apoio e incentivo em minha vida profissional.

Aos pacientes e à Instituição de saúde onde foram coletados os dados, sem os quais não seria possível a realização do trabalho.

E por fim, meus agradecimentos a todos aqueles que de forma direta ou indireta colaboraram com a execução do trabalho.

*“Há homens que lutam um dia e são bons.  
Há outros que lutam um ano e são melhores.  
Há os que lutam muitos anos e são muito bons.  
Porém, há os que lutam toda a vida.  
Esses são os imprescindíveis”.*

Bertolt Brecht

## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO</b> .....	<b>11</b>
<b>2 JUSTIFICATIVA</b> .....	<b>13</b>
<b>3 REFERENCIAL TEÓRICO</b> .....	<b>14</b>
<b>3.1 Distúrbios monogênicos</b> .....	<b>14</b>
<b>3.2 Distúrbios multifatoriais</b> .....	<b>14</b>
<b>3.3 Distúrbios cromossômicos</b> .....	<b>15</b>
3.3.1 Alterações cromossômicas numéricas .....	15
3.3.1.1 Euploidia.....	16
3.3.1.2 Aneuploidia .....	16
3.3.2 Alterações cromossômicas estruturais.....	18
3.3.2.1 Rearranjos cromossômicos não balanceados.....	18
3.3.2.1.1 Deleção cromossômica .....	19
3.3.2.1.2 Duplicação cromossômica.....	19
3.3.2.1.3 Cromossomo em anel .....	20
3.3.2.1.4 Isocromossomo .....	21
3.3.2.1.5 Cromossomo dicêntrico .....	22
3.3.2.2 Rearranjos cromossômicos balanceados .....	22
3.3.2.2.1 Inversão cromossômica .....	23
3.3.2.2.2 Translocação cromossômica.....	24
<b>3.4 Frequência das anomalias cromossômicas</b> .....	<b>25</b>
<b>3.5 Estudo citogenético</b> .....	<b>25</b>
3.5.1 Morfologia do cromossomo .....	26
3.5.2 Técnicas de bandamento.....	27
3.5.2.1 Técnica de bandamento Q .....	28
3.5.2.2 Técnica de bandamento G.....	28
3.5.2.3 Técnica de bandamento R.....	29
3.5.2.4 Técnica de bandamento C.....	29
3.5.2.5 Técnica de bandamento NOR.....	30
3.5.2.6 Técnica de bandamento de alta resolução .....	30

3.5.2.7 Técnica para identificação do X-frágil .....	30
3.5.2.8 Instabilidade cromossômica .....	31
3.5.2.9 Citogenética molecular .....	32
<b>3.6 Nomenclatura dos cromossomos .....</b>	<b>33</b>
<b>3.7 Indicação para o estudo citogenético .....</b>	<b>34</b>
3.7.1 Retardo mental.....	34
3.7.1.1 Fatores genéticos .....	35
3.7.1.2 Fatores pré-natais.....	36
3.7.1.3 Fatores neonatais .....	36
3.7.1.4 Fatores pós-natais .....	37
3.7.1.5 Fatores sócio-econômicos .....	37
3.7.2 Malformação congênita .....	37
3.7.3 Aborto espontâneo .....	39
<b>4 OBJETIVO .....</b>	<b>41</b>
4.1 Objetivo geral.....	41
4.2 Objetivos específicos.....	41
<b>5 CASUÍSTICA E MÉTODOS .....</b>	<b>42</b>
5.1 Levantamento bibliográfico.....	42
5.2 Estrutura do trabalho .....	42
5.3 Desenho.....	43
5.4 Local do estudo .....	43
5.5 Caracterização da amostra .....	43
5.6 Coleta e tratamento dos dados .....	44
5.7 Estudo citogenético .....	45
5.7.1 Coleta da amostra .....	45
5.7.2 Cultura temporária de linfócitos e obtenção de metáfases .....	45
5.7.3 Preparo de lâminas para o estudo citogenético.....	46
5.7.4 Análise microscópica.....	47
5.8 Análise estatística.....	48
5.8.1 Análise univariada .....	48
5.8.2 Análise multivariada.....	48

5.9 Viés de informação .....	49
5.10 Aspectos éticos .....	49
6 RESULTADOS .....	50
6.1 Caracterização da amostra .....	50
6.2 Caracterização do estudo citogenético.....	60
6.3 Análise de regressão logística .....	68
7 DISCUSSÃO .....	74
8 CONCLUSÃO.....	90
REFERÊNCIAS .....	91
ANEXO A – Lista de símbolos e abreviaturas, segundo ISCN 1995 .....	97

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Figura representativa dos mecanismos de não-disjunção, nas meioses I e II.....	17
Figura 2 - Figura representativa da formação de cromossomo com deleção .....	19
Figura 3 - Figura representativa da formação de cromossomo com segmento duplicado ..	20
Figura 4 - Figura representativa da formação de anel cromossômico.....	20
Figura 5 - Figura representativa da formação de isocromossomo.....	21
Figura 6 - Figura representativa da formação de cromossomo dicêntrico .....	22
Figura 7 - Figura representativa da formação de cromossomo com inversão.....	23
Figura 8 - Figura representativa de translocação recíproca.....	24
Figura 9 - Figura representativa de translocação Robertsoniana.....	25

## RESUMO

Neste estudo, são apresentados os resultados da avaliação citogenética de 694 pacientes, com suspeita de serem portadores de anomalia cromossômica, atendidos na Rede Sarah de Hospitais de Reabilitação – Unidade São Luís, no período de dezembro de 1996 a janeiro de 2005. Deste total, observou-se a presença de alterações cromossômicas em 221 casos (31,85%). As alterações autossômicas numéricas foram as mais freqüentes e representaram 46,15% dos resultados dos pacientes com cariótipo anômalo; as alterações estruturais 23,53% e as alterações nos cromossomos sexuais 8,60%. Resultados com variação da normalidade foram detectados em 21,72% das análises citogenéticas. A observação clínica de malformação congênita, retardo mental e a necessidade de diagnóstico de síndrome cromossômica conhecida, representaram conjuntamente 91,78% das indicações para a realização do estudo citogenético. Os resultados demonstram, ainda, que houve associação significativa entre a ocorrência de alterações numéricas e: a) entre idade materna superior a 35 anos (OR = 7,36; p = 0,001); e b) entre história de mães com aborto espontâneo prévio e filhos com resultado de cariótipo com alteração numérica (OR = 2,81; p = 0,004). Demonstrou-se, também, associação entre alterações cromossômicas estruturais e o nascimento de probandos do sexo feminino (OR = 4,06; p = 0,007). Concluiu-se que os critérios adotados para a indicação do estudo citogenético estão de acordo com os descritos na literatura, tendo a acurácia para o diagnóstico da síndrome de Down apresentado um índice de precisão de 100% e para o diagnóstico da síndrome de Turner uma acurácia de 42,86%. O estudo concluiu ainda que mães em idade avançada (>35 anos) apresentavam um risco maior para a ocorrência de abortamento espontâneo e risco aumentado para de ter filhos com alterações cromossômicas numéricas (OR = 3,56 e OR = 2,76 respectivamente).

**Palavras chaves:** citogenética, alteração cromossômica, cariótipo, cromossomopatia.

## **ABSTRACT**

This study presents the results of the cytogenetic evaluation of 694 patients, with suspicion to be carrying a chromosomopathy, taken care in the Sarah Hospital of Rehabilitation - Unit São Luís - MA - Brazil, in the period of December 1996 to January 2005. Of this total, it was observed presence of chromosomal aberrations in 221 cases (31.84%). The numerical abnormalities in autosome had been most frequent and had represented 46.15% of the results of the patients with karyotype anomalous; structural abnormalities 23.53% and the chromosomal aberrations in sexual chromosomes 8.60%. Results with polymorphic variation had been detected in 21.72% of the cytogenetic analysis. The clinical comment of congenital malformation, mental retardation and the necessity of diagnosis of known chromosomal syndrome, had jointly represented 91.78% of the indications for the accomplishment of the cytogenetic study. The results demonstrate, still, that it had significant association between the occurrence of numerical alterations, and: a) maternal age than 35 years (OR = 7.36; p = 0.001); and b) history of mothers with previous spontaneous abortion and children with result of karyotype with numerical alteration (OR = 2.81; p = 0.004). It was demonstrated, also, association between structural chromosomal alterations and the birth of female (OR = 4.06; p = 0.007). One concluded that the criteria adopted for the indication of the cytogenetic study are in accordance with described in literature, having the accuracy for the diagnosis of the syndrome of presented Down an index of 100% precision and for the diagnosis of the syndrome of Turner an accuracy of 42.86%. The study it still concluded that mothers in advanced age (>35 years), they presented a bigger risk for the occurrence of spontaneous abortion and increased risk stops to come to have children with autosomal numerical disorders (OR = 3.56 and OR = 2.76 respectively).

**Key words:** cytogenetics, karyotype, chromosomal aberrations, chromosomopathy.

## 1 INTRODUÇÃO

A genética humana vem adquirindo uma posição de destaque na sociedade e nos sistemas de saúde, em decorrência do desenvolvimento científico e tecnológico gerados nos últimos anos. Destaca-se também por apresentar uma relação estreita com diversas outras áreas de interesse médico (pediatria, endocrinologia, hematologia, ginecologia, obstetrícia, dermatologia, ortopedia, etc) e ciências básicas (biologia celular, biologia molecular, embriologia, etc).

A citogenética humana, área da genética que estuda os cromossomos e suas alterações, tornou-se uma ferramenta imprescindível na investigação diagnóstica de várias patologias (FERGUSON-SMITH; SMITH, 2002). Alterações extremamente sutis nos cromossomos podem ser detectadas e analisadas através de técnicas inovadoras, como as utilizadas pela citogenética molecular, por exemplo (TRASK, 2002).

As indicações para o estudo citogenético incluem a presença de retardo mental isolado ou associado a pelo menos três malformações, aborto de repetição, idade avançada dos pais e casos de cromossomopatia na família (FERGUSON-SMITH; SMITH, 2002; KONDO, 1980). Outras indicações seriam: confirmação ou exclusão de diagnóstico de síndrome cromossômica conhecida, anormalidades na diferenciação sexual e/ou no desenvolvimento sexual; baixa estatura em meninas, infertilidade, gravidez em mulheres com idade avançada e neoplasias (BARCH; KNUTSEN; SPURBECK, 1997; CONNOR; FERGUSON-SMITH, 1997; FERRARI et al., 1982; FERGUSON-SMITH; SMITH, 2002).

A demanda pela investigação diagnóstica dos distúrbios genéticos é crescente e bastante expressiva. Esta constatação decorre principalmente pelo acentuado valor que o diagnóstico genético representa e pela informação que o mesmo fornece ao médico e aos familiares do indivíduo afetado. Contudo poucos são os serviços públicos que realizam exames citogenéticos (ALBANO, 2000; SANTOS, 2000).

Nos países em situação de desigualdade social, como o Brasil, as doenças cromossômicas não recebem atenção adequada do poder público, em parte porque os principais problemas de saúde responsáveis pela morbi-mortalidade infantil são de origem sócio-econômica e ambiental, em consequência as doenças de causas presumivelmente não-evitáveis (ex. doenças genéticas), configuram-se como menos prioritárias para as ações de saúde (SANTOS, 2000).

As cromossomopatias são causas comuns de malformações congênitas; no entanto, no Brasil, as mesmas apresentam pouca importância relativa, apesar da demonstração de sua influência na mortalidade infantil vir aumentando ao longo dos anos (BREWER et al., 1998; SIMÕES, 2002). No plano nacional, a malformação congênita é responsável por apenas 10% do total dos óbitos infantis; sendo a região Sul a que apresenta as maiores proporções de óbitos relacionados à malformação congênita (16,5%), contra somente 5,7% no Nordeste (SIMÕES, 2002).

É importante salientar que, nos países onde a mortalidade infantil é baixa (<10%), a principal causa de morte relacionada a faixa etária de crianças com menos de um ano é a malformação congênita. No Brasil, nos últimos 25 anos, as anomalias congênitas passaram da quinta para a segunda maior causa de mortalidade infantil (LANSKY, 2002; SIMÕES, 2002).

Campos da Paz Jr. (2002) enfatiza que a assistência à saúde da população pode perfeitamente ser assumida como responsabilidade integral do Estado.

Os hospitais da Rede SARAH contam com um serviço especializado no diagnóstico de doenças genéticas desde o ano de 1987 (CARVALHO, 1994). Atualmente são realizados exames citogenéticos, bioquímicos genéticos e de biologia molecular, para a elucidação diagnóstica de uma variedade considerável de doenças genéticas e síndromes malformativas.

## 2 JUSTIFICATIVA

Levantamento realizado por Carvalho (1994), com vistas à detecção de cromossomopatias em hospitais da Rede SARAHA demonstrou um percentual elevado (36,79%) de alterações cromossômicas; atribuído, no estudo, à indicação criteriosa efetuada em ambulatório especializado em genética clínica, o que evidencia a necessidade de realização de exames citogenéticos em pacientes portadores de déficit no desenvolvimento neuropsicomotor e presença de malformações congênitas. Outros estudos, onde se observaram ocorrências elevadas de cromossomopatias, corroboram com este achado: Armendares et al. (1976) 33,10%; Youlton et al. (1984) 37,9% e Santos et al. (2004) 26%.

Em publicação recente, Santos et al. (2004) destacam a importância de se estudar as doenças genéticas em populações de países em desenvolvimento, principalmente em face da elevada frequência das mesmas e seu impacto na saúde dos indivíduos afetados.

Os hospitais da Rede SARAHA constituem um dos poucos serviços públicos no país com capacidade para atender à demanda atual de exames genéticos. Neste trabalho, propõe-se a caracterização da população atendida pelo ambulatório de genética clínica e pediatria do hospital SARAHA São Luís, com indicação para o exame de cariótipo no período de dezembro de 1996 a janeiro de 2005.

### **3 REFERENCIAL TEÓRICO**

Em geral, uma doença genética resulta da ação combinada de fatores genéticos e ambientais, entretanto a determinação do papel deste ou daquele fator nem sempre está bem definido. Três tipos principais de doenças causadas com uma participação efetiva de fatores genéticos podem ser mencionados: distúrbios monogênicos; distúrbios multifatoriais e distúrbios cromossômicos (THOMPSON; MCINNES; WILLARD, 1993).

#### **3.1 Distúrbios monogênicos**

São distúrbios causados por mutação em um único gene. A mutação pode estar presente em apenas um dos cromossomos de um par (alelo mutante) acompanhado de um alelo normal no cromossomo correspondente (homólogo) ou em ambos os cromossomos do par. Tais distúrbios apresentam padrão de herança mendeliana, constituindo em sua maioria doenças de ocorrência rara. São comuns a utilização dos termos dominante, recessivo e herança ligada ao X, na descrição do tipo de herança para este grupo de doença. São exemplos desta categoria a neurofibromatose, a fenilcetonúria, a hemofilia, dentre outras (NORA; FRASER, 1991; THOMPSON; MCINNES; WILLARD, 1993).

#### **3.2 Distúrbios multifatoriais**

Os distúrbios ditos multifatoriais ocorrem em decorrência da combinação de pequenas modificações na informação genética associadas a fatores ambientais, que juntas predis põem o indivíduo a uma doença. Em geral são distúrbios que se apresentam em mais de um membro da

família, mas não exibem os mesmos padrões de herança típicos dos distúrbios monogênicos. Podem ser classificadas nesta categoria a diabetes mellitus e algumas formas de câncer (NORA; FRASER, 1991; THOMPSON; MCINNES; WILLARD, 1993).

### **3.3 Distúrbios cromossômicos**

Os distúrbios cromossômicos resultam de alterações na composição final do conjunto de cromossomos do indivíduo. A expressão fenotípica das doenças cromossômicas é, por consequência, o resultado de alterações em múltiplos genes.

As cromossomopatias humanas são causas de defeitos do fenótipo sexual (ex. síndrome de Turner), de retardo mental (ex. síndrome de Down), de malformações múltiplas complexas (ex. síndrome de Patau) e de neoplasias (ex. leucemia mielóide crônica) (NORA; FRASER, 1991; PASTERNAK, 2002; THOMPSON; MCINNES; WILLARD, 1993).

Alterações cromossômicas, de um modo mais amplo, podem resultar basicamente de dois tipos de anomalias: anomalias numéricas e anomalias estruturais. As mesmas podem ocorrer de forma isolada ou simultânea.

#### **3.3.1 Alterações cromossômicas numéricas**

As alterações cromossômicas numéricas são os distúrbios cromossômicos mais observados na prática clínica, apresentando uma ocorrência de 3 a 4% em todas as gestações clinicamente reconhecidas (HAMILTON; WYNshaw-BORIS, 2003).

Erros na distribuição dos cromossomos durante a fase de divisão celular e no processo meiótico podem produzir células com ausência de alguns cromossomos ou com presença de

exemplares cromossômicos extras (PASTERNAK, 2002). Classificam-se em euploidia e aneuploidia.

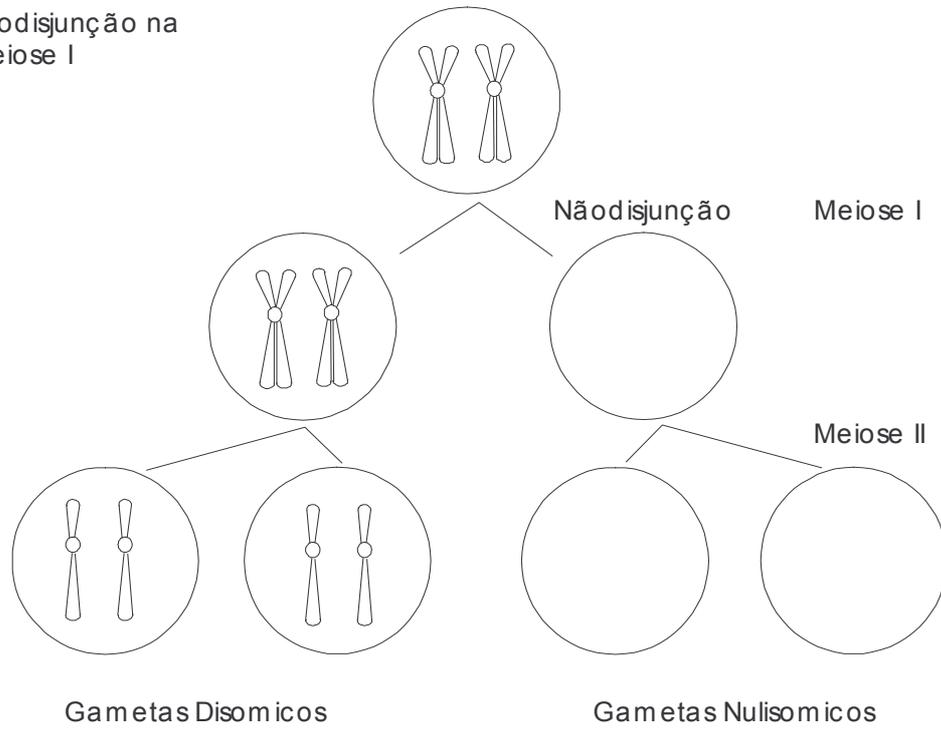
### 3.3.1.1 Euploidia

Quando uma célula apresenta múltiplo exato de seu número haplóide ( $n$ ) de cromossomos ela é descrita como euplóide. Excetuando o número diplóide ( $2n$ ), normal nas células somáticas humanas, observa-se às vezes a ocorrência de triploidia ( $3n$ ) e tetraploidia ( $4n$ ) em células neoplásicas e fetos natimortos (NORA; FRASER, 1991; PASTERNAK, 2002; THOMPSON; MCINNES; WILLARD, 1993).

### 3.3.1.2 Aneuploidia

Aneuploidia é o termo utilizado para designar uma alteração no número de cromossomos que não represente múltiplo exato do valor haplóide. É sem dúvida a ocorrência mais comum e clinicamente significativa dos distúrbios cromossômicos e decorre de um fenômeno de não-disjunção durante o processo de divisão celular ou pode ainda resultar de um retardo anafásico, fenômeno proveniente da demora na migração de um cromossomo para o pólo celular durante a anáfase (Figura 1). Em geral o fenômeno de não-disjunção apresenta sua frequência aumentada quando associado ao aumento da idade das mães. As formas mais comuns são a trissomia (presença de um cromossomo extra, ex.  $47,XX,+21$ ) e a monossomia (ausência de um cromossomo, ex.  $45,X$ ) (GARDNER; SUTHERLAND, 1996; NORA; FRASER, 1991; THOMPSON; MCINNES; WILLARD, 1993).

a) Não-disjunção na Meiose I



b) Não-disjunção na Meiose II

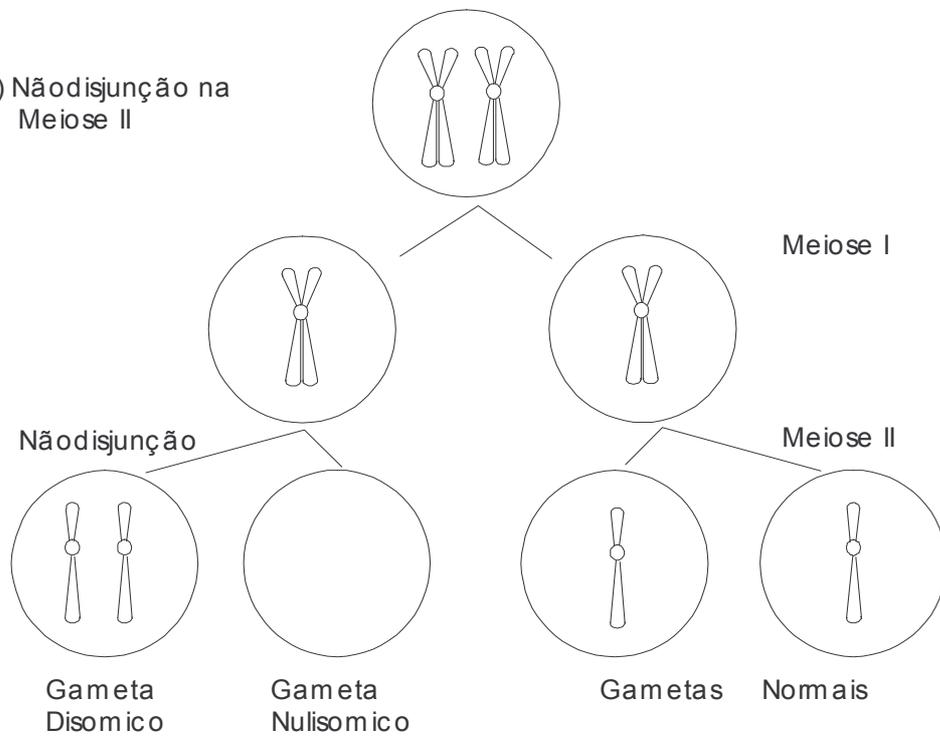


Figura 1: figura representativa dos mecanismos de não-disjunção, nas meioses I e II .

Geralmente a perda de um cromossomo apresenta maior repercussão que o ganho, sendo quase sempre letal à espécie humana. Outro aspecto importante é que tanto a perda como o ganho de um cromossomo autossomo tem conseqüências mais graves que a perda ou o ganho de um cromossomo sexual (GARDNER; SUTHERLAND, 1996; PASTERNAK, 2002; THOMPSON; McINNES; WILLARD, 1993; YONG et al., 2003).

### 3.3.2 Alterações cromossômicas estruturais

As alterações estruturais constituem outro importante grupo de alterações cromossômicas e estão presentes em aproximadamente 0,0025% dos nascidos vivos (HAMILTON; WYNshaw-BORIS, 2003). Este tipo de distúrbio resulta de quebras cromossômicas, seguidas de reconstituição dos fragmentos quebrados.

Os rearranjos estruturais podem ser definidos como não balanceados (quando há alteração na quantidade de material genético) e balanceados (quando não ocorre alteração na quantidade de material genético) (THOMPSON; McINNES; WILLARD, 1993).

#### 3.3.2.1 Rearranjos cromossômicos não balanceados

Em geral produzem um fenótipo alterado. São exemplos destas alterações, as deleções cromossômicas, as duplicações, o cromossomo em anel, o isocromossomo e os cromossomos dicêntricos.

### 3.3.2.1.1 Deleção cromossômica

Resulta de quebras cromossômicas que podem ocorrer no corpo do cromossomo ou em região terminal, o que invariavelmente leva a perda de material genético (Figura 2). O portador de uma deleção cromossômica é conseqüentemente hemizigótico para as informações no segmento correspondente ao homólogo normal. O tamanho da deleção e os genes envolvidos determinam a viabilidade e o fenótipo do indivíduo afetado (FERGUSON-SMITH; SMITH, 2002; THOMPSON; MCINNES; WILLARD, 1993). A síndrome de Cri-du-Chat é um exemplo deste tipo de alteração.

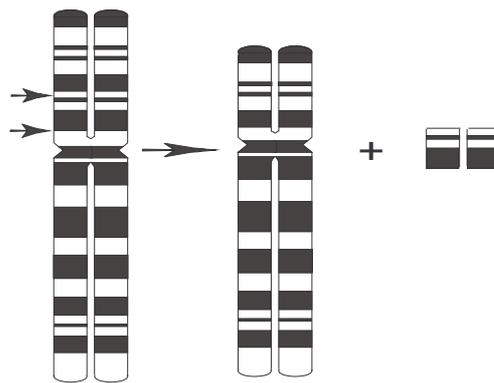


Figura 2: Figura representativa da formação de cromossomo com deleção.

### 3.3.2.1.2 Duplicação cromossômica

Em geral as duplicações parecem produzir fenótipos menos graves que as deleções; embora possam originar-se de mecanismo semelhante ao que origina as deleções (Figura 3). Podem ainda originar-se por segregação anormal na meiose em um portador de translocação balanceada ou inversão cromossômica (FERGUSON-SMITH; SMITH, 2002; THOMPSON; MCINNES; WILLARD, 1993).

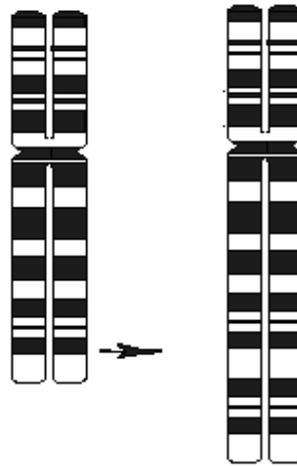


Figura 3: Figura representativa da formação de cromossomo com segmento duplicado.

#### 3.3.2.1.3 Cromossomo em anel

O cromossomo em anel é o resultado de duas quebras simultâneas em um único cromossomo e posterior união das extremidades rompidas (Figura 4). São eventos raros e bastante instáveis, porém foram relatados casos de cromossomo em anel em todos os cromossomos humanos (FERGUSON-SMITH; SMITH, 2002; THOMPSON; MCINNES; WILLARD, 1993).

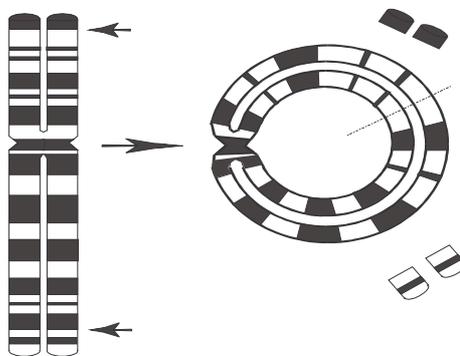


Figura 4: Figura representativa da formação de anel cromossômico.

### 3.3.2.1.4 Isocromossomo

O isocromossomo é um cromossomo no qual um braço está ausente e o outro se encontra duplicado. Acontece quando a divisão ocorre no sentido transversal ao invés do longitudinal; em consequência, os cromossomos resultantes apresentam dois braços duplicados (dois braços curtos ou dois braços longos) e ausência do outro braço (Figura 5). Constituem uma deleção e uma duplicação, simultâneas. Como consequência o indivíduo afetado apresenta trissomia para um dos segmentos cromossômicos e monossomia para o outro. Na maioria dos casos, a ocorrência de isocromossomo é letal. O isocromossomo mais comum e bem documentado é o isocromossomo do braço longo do cromossomo X, 46,X,i(X) (FERGUSON-SMITH; SMITH, 2002; NORA; FRASER, 1991; THOMPSON; MCINNES; WILLARD, 1993).

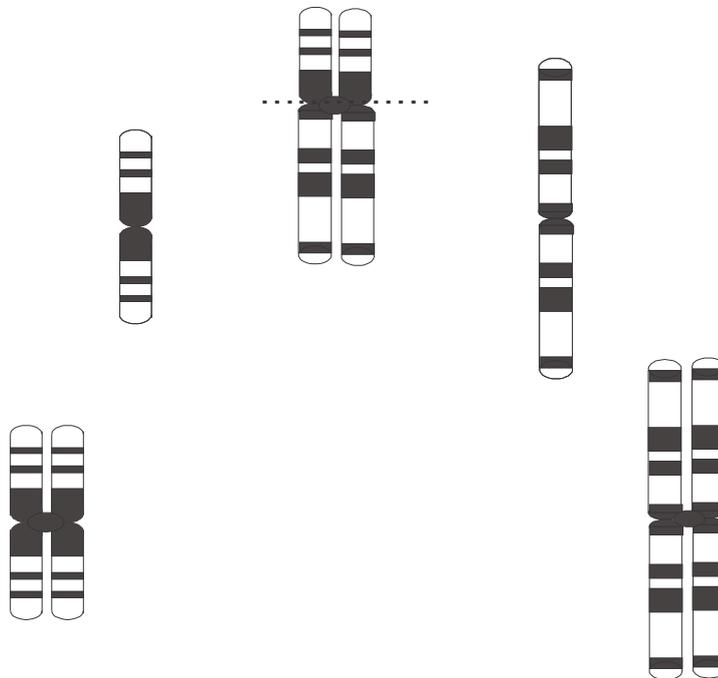


Figura 5: Figura representativa da formação de isocromossomo.

### 3.3.2.1.5 Cromossomo dicêntrico

Ocorre quando um cromossomo anômalo apresenta dois centrômeros, pela junção de dois segmentos cromossômicos (Figura 6). Constituem eventos raros e freqüentemente se quebram durante a anáfase; porém, caso os dois centrômeros se localizem próximos um do outro, ou se um for inativado o cromossomo dicêntrico pode se tornar estável e perpetuar-se para a célula filha (THOMPSON; MCINNES; WILLARD, 1993).

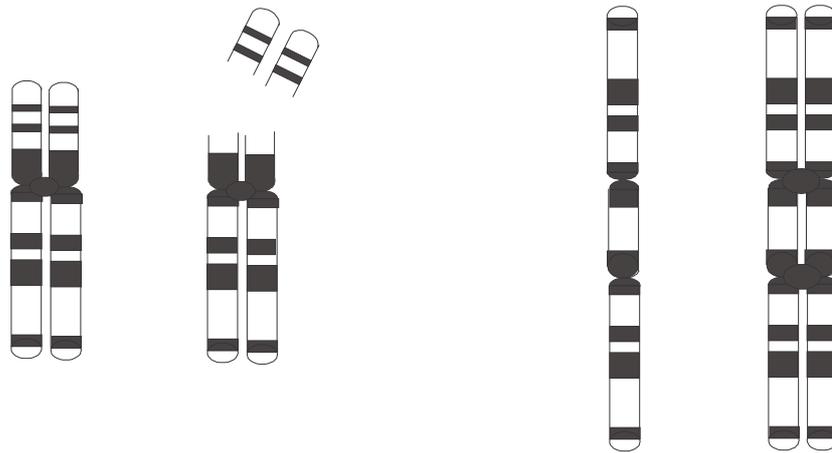


Figura 6: Figura representativa da formação de cromossomo dicêntrico.

### 3.3.2.2 Rearranjos cromossômicos balanceados

Em geral o resultado de um rearranjo cromossômico balanceado não produz alteração fenotípica, devido às informações genéticas permanecerem inalteradas. Entretanto, os indivíduos portadores deste tipo de alteração genética, têm elevado risco de vir a gerar filhos apresentando um cariótipo com rearranjo não-balanceado (THOMPSON; MCINNES; WILLARD, 1993). São exemplos desta categoria de anomalia cromossômica as inversões e as translocações.

### 3.3.2.2.1 Inversão cromossômica

Ocorre quando um cromossomo se quebra em duas posições e o segmento intermediário gira em um ângulo de  $180^\circ$  para em seguida voltar a unir-se ao restante do cromossomo (Figura 7). As inversões podem envolver o centrômero (inversões pericêntricas) ou não (inversões paracêntricas) (NORA; FRASER, 1991; THOMPSON; MCINNES; WILLARD, 1993). O portador de uma inversão pode não apresentar nenhum problema genético; porém tem um risco aumentado de produzir uma prole com distúrbios cromossômicos, devido à dificuldade que o cromossomo invertido apresenta em emparelhar-se com seu homólogo normal durante a meiose (FERGUSON-SMITH; SMITH, 2002; PASTERNAK, 2002; NORA; FRASER, 1991; THOMPSON; MCINNES; WILLARD, 1993).

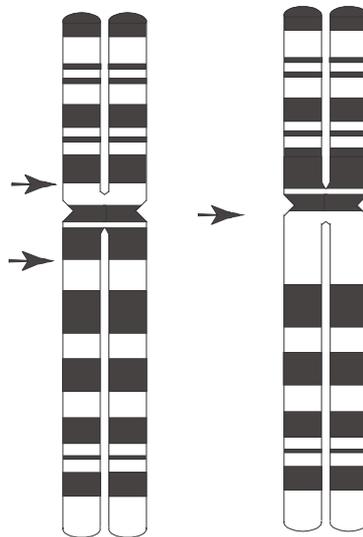


Figura 7: Figura representativa da formação de cromossomo com inversão.

### 3.3.2.2.2 Translocação cromossômica

Ocorre quando dois cromossomos, não homólogos, trocam materiais genéticos. São denominadas duas formas: a) translocação recíproca, quando envolve a troca de segmentos entre cromossomos não homólogos (Figura 8) e b) translocação Robertsoniana, quando resulta da fusão de dois cromossomos acrocêntricos próximo à região do centrômero (Figura 9) (FERGUSON-SMITH; SMITH, 2002; NORA; FRASER, 1991; THOMPSON; MCINNES; WILLARD, 1993).

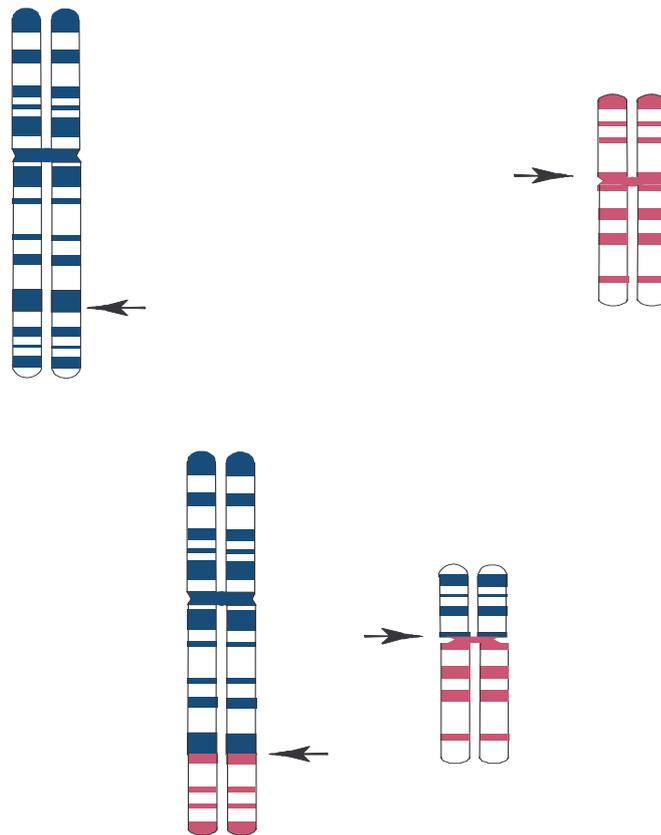


Figura 8: figura representativa de translocação recíproca.

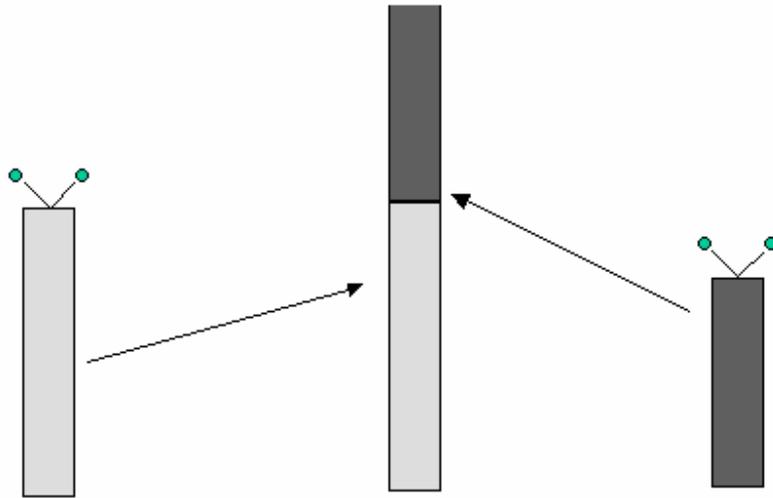


Figura 9: figura representativa de translocação Robertsoniana.

### 3.4 Frequência das anomalias cromossômicas

Estima-se que as anomalias cromossômicas ocorram em no mínimo 7,5% de todas as concepções e estejam presentes em aproximadamente 50% dos abortos espontâneos e 0,6% na população em geral (CONNOR; FERGUSON-SMITH, 1991 apud SANTOS, 2000).

### 3.5 Estudo citogenético

O estudo citogenético constitui a base para o entendimento das doenças de causas cromossômicas e uma das ferramentas mais tradicionais da genética humana. O foco deste tipo de investigação é o cromossomo e as informações obtidas são capazes de auxiliar no esclarecimento

etiológico de várias condições mórbidas, tais como: câncer, aborto espontâneo, retardo mental e síndromes malformativas (BARCH; KNUTSEN; SPURBECK, 1997; BAYANI; SQUIRE, 2001).

A primeira etapa do estudo citogenético é a estimulação da divisão celular, período em que os cromossomos tornam-se mais evidentes. O material para o estudo pode ser obtido a partir de preparações celulares que se dividam espontaneamente (ex. células da medula óssea, células tumorais, células da vilosidade coriônica, etc.) e a partir de preparações celulares que necessitam de estímulo para se dividirem (ex. linfócitos do sangue periférico, células do líquido amniótico, fibroblasto, etc.) (BARCH; KNUTSEN; SPURBECK, 1997). As preparações que utilizam o sangue periférico são de escolha pelo seu baixo custo e por propiciarem maior conforto e menos risco à saúde do paciente.

### 3.5.1 Morfologia do cromossomo

O cromossomo metafásico típico é formado por duas cromátides irmãs, cada uma delas oriunda do processo de duplicação da cromatina. As cromátides se encontram presas por uma região delgada, chamada centrômero (constricção primária). O centrômero, por sua vez, divide as cromátides em dois braços cromossômicos, denominados em braço curto ou “p” (do francês *petit* = pequeno) e braço longo ou “q” (por ser a próxima letra do alfabeto) (BARCH; KNUTSEN; SPURBECK, 1997; THARAPEL, 1999; THOMPSON; McINNES; WILLARD, 1993).

Com base na localização do centrômero, os cromossomos podem ser classificados em: a) metacêntrico (o centrômero está localizado no meio do cromossomo, em consequência tanto o braço longo como o braço curto, apresentam tamanhos semelhantes); b) submetacêntrico (o centrômero é excêntrico e divide o cromossomo em duas partes nitidamente desiguais) e c) acrocêntrico (o centrômero está localizado próximo a uma das extremidades; caracteriza-se

também por apresentar um apêndice denominado de “satélite”) (BARCH; KNUTSEN; SPURBECK, 1997; THARAPEL, 1999; THOMPSON; McINNES; WILLARD, 1993).

A porção terminal do cromossomo é denominada de telômero. Esta possui seqüências próprias de DNA, conservadas em várias espécies, com algumas poucas exceções. Em muitos eucariotos os telômeros consistem de repetições de um hexanucleotídeo (TTAGGG) e estas repetições apresentam um papel importante na conservação da estrutura do cromossomo; isso porque a cada ciclo celular o telômero impede que os cromossomos se combinem uns com os outros, o que geraria uma variedade considerável de cromossomos anômalos. A repetição desta seqüência de bases evita ainda o encurtamento indefinido do cromossomo, o que pode causar a exclusão de genes ativos (BARCH; KNUTSEN; SPURBECK, 1997; KNIGHT; FLINT, 2000). O telômero apresenta também importância no processo de envelhecimento e gênese de alguns tipos de câncer (THARAPEL, 1999).

Para a identificação e análise do conjunto cromossômico (cariótipo) vários métodos de bandamento são empregados rotineiramente nos laboratórios de citogenética. Serão descritas abaixo as técnicas mais utilizadas.

### 3.5.2 Técnicas de bandamento

Os métodos empregados em citogenética têm apresentado uma evolução considerável nas últimas décadas. As primeiras observações sobre os cromossomos foram feitas a partir de material vegetal por Eduard Strasburger em 1875, e posteriormente por Walther Fleming em material animal em 1888. Em 1923, Painter divulgou como sendo 48 o número de cromossomos da espécie humana e este fato permaneceu como verdadeiro por três décadas, quando Tjio e

Levan em 1956 definiram o número diplóide de nossa espécie, 46 cromossomos (BARCH; KNUTSEN; SPURBECK, 1997; THARAPEL,1999).

Cada par de cromossomos apresenta um padrão específico de bandamento, o que possibilita a identificação dos mesmos com precisão. As bandas são, em geral, demarcações claras e escuras que se apresentam de maneiras distintas em decorrência das técnicas de bandamento (PASTERNAK, 2002).

#### 3.5.2.1 Técnica de bandamento Q

Embora o bandamento Q não seja utilizado rotineiramente em muitos laboratórios de citogenética, ele é útil na identificação específica dos cromossomos, bem como na identificação de rearranjos cromossômicos. Outras vezes pode-se utilizar a banda Q para se diferenciar cromossomos maternos de cromossomos fetais, ou de doadores de receptores. Neste método os cromossomos são tratados, depois de fixados em lâmina de vidro, com quinacrina-mostarda ou compostos semelhantes e em seguida examinados por microscopia de fluorescência. Os cromossomos coram-se num padrão específico de bandas brilhantes e opacas (bandas Q); as bandas brilhantes correspondem quase exatamente às bandas escuras, do bandamento G (BARCH; KNUTSEN; SPURBECK, 1997). Esta técnica é bastante difundida entre os franceses (THARAPEL,1999).

#### 3.5.2.2 Técnica de bandamento G

É sem dúvida a técnica mais utilizada dentro do laboratório de citogenética, devido principalmente por dispensar o uso do microscópio de fluorescência e pela qualidade das bandas

obtidas. Esta técnica combina o uso da coloração de Giemsa (GTG) ou Wright (GTW) e o tratamento com a enzima tripsina, produzindo um padrão de banda semelhante ao produzido pela banda Q. Por este método, os cromossomos, depois de fixados em lâmina de vidro, são tratados com tripsina, para a desnaturação das proteínas cromossômicas, em seguida são corados pela coloração de Giemsa ou Wright. Cada par de cromossomos cora-se num padrão típico de bandas claras e escuras (BARCH; KNUTSEN; SPURBECK, 1997).

#### 3.5.2.3 Técnica de bandamento R

Técnica utilizada na identificação de deleções ou translocações que envolvam a região terminal do cromossomo. Esta técnica produz um padrão de bandamento que é o reverso ao obtido pela técnica G ou Q. Neste método os cromossomos, depois de fixados em lâmina de vidro, são desnaturados pelo calor na presença de um tampão e então corados pela coloração de Giemsa ou Wright (BARCH; KNUTSEN; SPURBECK, 1997).

#### 3.5.2.4 Técnica de bandamento C

A técnica de bandamento C destina-se à identificação de variantes polimórficas nos cromossomos, assim como visualização do aumento ou diminuição de região de heterocromatina e inversão ou rearranjos no cromossomo 9. Ela também pode ser útil na identificação de cromossomo marcador. Consiste basicamente na coloração de região rica em heterocromatina, como o centrômero, região heterocromática e região de satélite dos cromossomos. Nesta técnica os cromossomos, depois de fixados em lâmina de vidro, são tratados em uma solução de hidróxido de Bário a 5% a uma temperatura que pode variar entre 50 a 60°C, corados pela

coloração de Giemsa ou Wright e posteriormente visualizados em microscopia convencional (BARCH; KNUTSEN; SPURBECK, 1997).

#### 3.5.2.5 Técnica de bandamento NOR

Técnica útil na identificação de cromossomo marcador de origem não conhecida e no estudo de heteromorfismo cromossômico. Cora as regiões organizadoras de nucléolos localizadas nos cromossomos acrocêntricos. Consiste na utilização de uma solução de nitrato de Prata a 50%, a uma temperatura de 70°C e posteriormente corados pela coloração de Giemsa ou Wright, para melhor visualização (BARCH; KNUTSEN; SPURBECK, 1997).

#### 3.5.2.6 Técnica para obtenção de cromossomos em alta resolução

Nesse tipo de técnica obtêm-se cromossomos num estágio inicial da mitose (prófase ou prometáfase) que estão ainda em uma condição relativamente não-condensada. Os cromossomos obtidos demonstram nível de resolução entre 500 e 2000 bandas. É utilizada, principalmente nos casos onde há necessidade de identificação de microdeleções (ex. síndrome de Prader Willi e síndrome de Angelman) (BARCH; KNUTSEN; SPURBECK, 1997).

#### 3.5.2.7 Técnica para identificação do X-frágil

A expressão do sítio frágil no cromossomo X depende de condições especiais de cultura. Sendo demonstradas altas frequências em meios com deficiência de ácido fólico e timidina, pode-se também induzir a expressão do sítio frágil com a adição de metotrexato (um inibidor do

metabolismo do ácido fólico), ou de fluorodeoxiuridina (um inibidor da enzima timidilato sintetase). As metodologias mais utilizadas são: a) cultura em meio TC-199, sem ácido fólico, por 96 horas; e b) cultura em meio RPMI 1640 por 96 horas, adicionando-se metotrexato ou fluorodeoxiuridina 24 horas antes da retirada da cultura (BARCH; KNUTSEN; SPURBECK, 1997).

Atualmente utiliza-se com mais frequência a citogenética molecular, em particular a hibridação *in situ*, para a caracterização do X-frágil. Esta se baseia no fato de que seqüências de fita simples de DNA ou RNA marcadas (sondas), ligam-se ao DNA ou RNA celular (em investigação), sob condições especiais, formando híbridos estáveis, revelando desta forma a região pesquisada (BARCH; KNUTSEN; SPURBECK, 1997).

#### 3.5.2.8 Instabilidade cromossômica

Um grupo de síndromes caracterizadas por instabilidade cromossômica ou deficiência no reparo do DNA (ex., ataxia telangiectasia, síndrome de Bloom, anemia de Fanconi, e xeroderma pigmentoso), onde os pacientes afetados comumente apresentam anomalias cromossômicas e têm uma elevada predisposição para o câncer.

A metodologia empregada se baseia na sensibilidade das células para algumas substâncias capazes de induzir quebras cromossômicas, em especial a mitocina C. Para melhor avaliação deste método, recomenda-se a utilização simultânea de uma amostra controle com material de indivíduo normal, como forma de garantir a qualidade do exame citogenético.

### 3.5.2.9 Citogenética molecular

Citogenética molecular se refere a uma ferramenta que utiliza técnicas bioquímicas modernas para a visualização local (*in situ*), por hibridação. Esta tecnologia permitiu que fosse possível identificar alterações cromossômicas específicas tanto em células no estágio de metáfase como em células em estágios iniciais de divisão. A técnica mais difundida é o FISH (fluorescence *in situ* hybridization) ou hibridação *in situ* por fluorescência, que se caracteriza por permitir a localização exata de uma seqüência gênica específica. É utilizada na identificação de anomalias cromossômicas, e é especialmente útil no mapeamento genético (BARCH; KNUTSEN; SPURBECK, 1997, SALMAN; JHANWAR; OSTRER, 2004).

Outras técnicas, como a cariotipagem espectral (SKY) e a hibridação genômica comparativa (HCG), também são úteis para a identificação de alterações cromossômicas. A cariotipagem espectral é uma técnica de citogenética molecular que mostra cada cromossomo com uma cor diferente, permitindo a diferenciação inequívoca de cada par. Combina a espectroscopia de Fourier, a câmera captadora de imagem e a microscopia óptica para medir simultaneamente todos os pontos no espectro de emissão da amostra na faixa visível e próxima do infravermelho. O que distingue a cariotipagem espectral dos outros sistemas de FISH multicoloridos é a aquisição e análise da imagem. Já a hibridação genômica comparativa consiste na extração de DNA celular (DNA teste), bem como de DNA normal para controle, e a marcação de ambos com fluorocromos diferentes. Depois, os dois são co-hibridizados em cromossomos normais. Como resultado obtém-se uma coloração padrão em todos os cromossomos. As seqüências cromossômicas que estiverem hiperexpressas, polissomia ou amplificação, apresentarão coloração mais intensa, enquanto aquelas que estiverem hipoexpressas, monossomia ou deleção, resultarão em coloração mais clara que o controle.

### 3.6 Nomenclatura dos cromossomos

O desenvolvimento das técnicas de bandamento possibilitou a identificação não só do cromossomo individualmente, pelo seu tamanho e localização do centrômero, mas propiciou a visualização de bandas específicas em cada um deles. Por conseguinte, a revelação destes detalhes cromossômicos introduziu algumas modificações na terminologia utilizada até o final dos anos de 1960 (BARCH; KNUTSEN; SPURBECK, 1997, THARAPEL,1999).

Após o IV Congresso Internacional de Genética Humana em Paris (1971), adotou-se uma série de símbolos e abreviaturas para a denominação e descrição dos cromossomos. Em 1977 foi criado um sistema internacional para nomenclatura em citogenética humana (International System for Human Cytogenetic Nomenclature ou ISCN), com o intuito de padronizar a nomenclatura utilizada. Em 1994, ocorreram novas modificações e a introdução de novos símbolos e abreviaturas para a descrição dos cromossomos humanos e suas alterações (BARCH; KNUTSEN; SPURBECK, 1997; THARAPEL,1999). Atualmente a nomenclatura em vigor é a descrita pelo ISCN 1995 (MITELMAN,1995).

As regras básicas para a descrição do cariótipo estabelecem que o número de cromossomos deve ser primeiramente mencionado, seguido dos cromossomos sexuais, separados por vírgula. Desta forma, a descrição do cariótipo para a espécie humana foi definida como 46,XX (para o sexo feminino) e 46,XY (para o sexo masculino). As anomalias cromossômicas, quando presentes, serão descritas após a designação do sexo, separadas por vírgula e utilizando os símbolos que denotam a anomalia; como por exemplo, 47,XX,+21 (cariótipo feminino com trissomia do cromossomo 21) (BARCH; KNUTSEN; SPURBECK,1997; MITELMAN,1995; THARAPEL,1999).

### 3.7 Indicação para o estudo citogenético

As anomalias cromossômicas formam um componente importante da carga genética deletéria na espécie humana, acometendo uma parcela significativa da população geral (BARCH; KNUTSEN; SPURBECK, 1997; CONNOR; FERGUSON-SMITH, 1997; FERRARI et al., 1982). Estudos demonstram uma relação estreita entre as anomalias cromossômicas com um amplo espectro de doenças e situações de interesse para a saúde humana, dentre elas destacamos: a confirmação ou exclusão de síndrome cromossômica conhecida; retardo no desenvolvimento neuropsicomotor; distúrbio no desenvolvimento sexual; infertilidade; recorrência de aborto espontâneo; retardo mental e malformação congênita (BARCH; KNUTSEN; SPURBECK, 1997; CONNOR; FERGUSON-SMITH, 1997; FERRARI et al., 1982; FERGUSON-SMITH; SMITH, 2002).

Serão mencionadas a seguir, as três principais indicações para o estudo citogenético: o retardo mental, a malformação congênita e o aborto espontâneo.

#### 3.7.1 Retardo mental

O retardo mental (RM) é um dos mais graves e sérios problemas de saúde pública encontrados em nossa sociedade. De acordo com a Organização Mundial de Saúde, a população total de indivíduos com RM nos países industrializados é de aproximadamente 3% (KING et al., 1997).

O RM é caracterizado por limitações significativas na função intelectual e comprometimento de pelo menos duas ou mais habilidades inerentes à vida humana: comunicação, cuidado pessoal, lazer, ocupação profissional, capacidade de aprendizagem, saúde e segurança (RAYMOND, 2004).

O atraso no desenvolvimento global como habilidade motora (fina e grossa), linguagem, dificuldade na socialização e dificuldade na percepção visual são sugestivos de RM. Entretanto, estes achados isoladamente não devem ser apontados como diagnóstico de RM, mas indicam a necessidade de uma investigação mais consistente (CAPUTE; ACCARDO, 1996; KING et al., 1997).

O RM pode ser causado por qualquer circunstância que prejudique o desenvolvimento do cérebro antes do nascimento, durante o nascimento ou nos primeiros anos de vida. Em aproximadamente 40% dos casos, a causa do retardo mental não é definida. Contudo, sabe-se que tanto fatores ambientais quanto fatores genéticos (predisposição familiar), freqüentemente estão envolvidos na gênese e em certos casos coexistem em um único indivíduo (RAYMOND, 2002; RAYMOND, 2004).

A causa do RM pode compreender diversos fatores etiológicos que podem ser divididos como decorrentes de: fatores genéticos; fatores físico-ambientais (fatores pré-natais, fatores neonatais e fatores pós-natais) e fatores sócio-econômicos (RAYMOND, 2004).

#### 3.7.1.1 Fatores genéticos

Correspondem a aproximadamente 8-15% de todos os casos, este total inclui as causas cromossômicas e as monogênicas. A relativa maioria do sexo masculino (1,3-1,7:1), na população afetada, sugere que genes ligados ao cromossomo X apresentam uma participação significativa na etiologia do RM decorrente de fatores genéticos (RAYMOND, 2002; RAYMOND, 2004).

As anomalias cromossômicas são freqüentemente encontradas quando se estuda RM em população não selecionada. Este fato se deve à comprovação de que as anomalias cromossômicas conduzem, com raras exceções (ex: translocações balanceadas), a um quadro de retardo mental.

Estudos demonstram que dentre as alterações citogenéticas encontradas em indivíduos com RM, a trissomia do cromossomo 21 ou síndrome de Down é a mais comum (CAPONE, 2001; RAYMOND, 2002).

Outras causas comuns são o RM devido a microdeleções cromossômicas, como as que ocorrem, por exemplo, nas síndromes de Cri-du-Chat (5p15.2-p15.3), Prader-Willi (15q11-q13), Angelman (15q11-q13), Di George (22q11.21-q11.23), dentre outras (RAYMOND, 2004).

Outro dado importante, é que mulheres que apresentam RM leve e sem anomalias, podem levar uma vida relativamente normal e, no entanto, serem portadoras de anomalias genéticas significativas e relativamente comuns que fazem com que elas corram um risco maior de ter filhos gravemente afetados (HOLMES, 1993).

#### 3.7.1.2 Fatores pré-natais

O uso de álcool ou de drogas pela mãe durante o período gestacional aumenta o risco da criança vir a apresentar RM. Outros fatores de risco incluem: o fumo, desnutrição, intoxicação, doença infecciosa (ex. toxoplasmose, sífilis, rubéola, citomegalovirose, etc.) (CAPUTE; ACCARDO, 1996; CROEN; GREYER; SELVIN, 2001; HOLMES, 1993).

#### 3.7.1.3 Fatores neonatais

A prematuridade e o baixo peso ao nascimento predizem, em geral, problemas mais graves que todas as outras circunstâncias. As dificuldades do recém-nascido observadas durante o trabalho de parto tais como: parto laborioso, anóxia, também podem ser causa de RM (CAPUTE; ACCARDO, 1996; CROEN; GREYER; SELVIN, 2001; RAYMOND, 2004).

#### 3.7.1.4 Fatores pós-natais

Doenças da infância como sarampo, meningites, encefalites e intoxicação por metais pesados, podem danificar o cérebro e causar RM (CAPUTE; ACCARDO, 1996; CROEN; GREETHER; SELVIN, 2001).

#### 3.7.1.5 Fatores sócio-econômicos

Alguns estudos apontam para uma relação causal entre o grau de escolaridade e condições econômicas da mãe com a etiologia do RM (CROEN; GREETHER; SELVIN, 2001).

#### 3.7.2 Malformação congênita

Malformações são anormalidades morfológicas de órgãos ou partes do corpo que surgem devido a um distúrbio no processo normal de desenvolvimento durante o período embrionário (CLAYTON-SMITH; DONNAI, 2002).

Aproximadamente 15-20% de todas as concepções apresentam algum tipo de malformação e cerca de 3% cursam com malformações severas, a maioria das quais trazem consigo repercussões graves para a sobrevivência, ocasionando mortes, internações hospitalares, retardo mental, procedimentos cirúrgicos, limitações motoras e acompanhamento terapêutico ao longo de toda vida (BRENT, 2004; CLAYTON-SMITH; DONNAI, 2002).

A etiologia das malformações pode ser dividida em três grupos importantes: causas genéticas, causas ambientais e causas multifatoriais.

A maioria das causas de malformações permanece desconhecida (65-75%) e uma proporção significativa destes casos apresenta, provavelmente, algum componente genético importante (CLAYTON-SMITH; DONNAI, 2002; HOLMES, 1993).

Fenda palatina, anencefalia, espinha bífida, hipospadia, hérnia inguinal, pé torto, entre outras malformações, por exemplo, podem pertencer tanto ao grupo de malformação de causa multifatorial, assim como de doença poligênica (BRENT, 2004; HOLMES, 1993). Contudo, erros ocorridos durante a morfogênese, muitos deles ocorridos nas três primeiras semanas de vida intrauterina, podem ter como consequência algum tipo de malformação, sem que haja uma influência ou relação a fatores genéticos ou ambientais (HOLMES, 1993; SMITH, 1989).

Grande parte dos indivíduos que apresentam malformação por causas multifatoriais é, em muitos casos, o único membro afetado de suas famílias. Entretanto, as famílias de pessoas afetadas apresentam um risco aumentado (10 a 40 vezes) de recorrência, quando comparados à população geral (HOLMES, 1993).

Outro fator importante de malformação congênita é atribuído à exposição a agentes teratogênicos durante a gravidez (agentes infecciosos, agentes físicos, fatores metabólicos maternos e agentes químicos). Os tipos de malformações resultantes e o risco de ocorrência de malformação dependem do tempo de exposição e da dose absorvida. O período do desenvolvimento embrionário em que ocorreu a exposição determinará quais estruturas serão as mais suscetíveis aos efeitos deletérios da droga ou do produto químico e a capacidade de reparo dos danos pelo embrião (BRENT, 2004; FRIEDMAN; HANSON, 2002; SMITH, 1989).

Em geral, as anomalias cromossômicas são causas comuns de malformações ou em outros casos predisõem a ocorrência de malformação dentro de uma mesma família (BARCH; KNUTSEN; SPURBECK, 1997; BRENT, 2004; CLAYTON-SMITH; DONNAI, 2002; HOLMES, 1993; SMITH, 1989).

### 3.7.3 Aborto espontâneo

Aproximadamente 15 a 20% de todas as gestações reconhecidas evoluem para aborto espontâneo antes da vigésima semana de gestação. A incidência de casos com ocorrência de aborto espontâneo de repetição varia entre 2 a 5%, sendo a presença de alguma anomalia cromossômica em um dos genitores relatado em 5 a 7% dos casos (DANIELY et al., 1996). Um significativo volume destes casos é causado pela presença de anomalias cromossômicas balanceadas em um dos genitores, o que pode ter como consequência: produção de gametas e/ou embriões com cromossomos anômalos, esterilidade, concepção de crianças malformadas, e por fim aborto espontâneo (CHANDLEY et al. 1975). Este fato justifica a realização da investigação citogenética em genitores com história prévia de aborto espontâneo ou com dificuldade em ter filhos.

Estudos demonstram que mulheres com história de abortamento prévio tem aproximadamente 25 a 30% de risco de recorrência de um novo abortamento; além disso, o risco relativo para abortamento espontâneo, aumenta a cada perda subsequente (HATASAKA; VERNER, 1994).

Uma das principais dificuldades para o esclarecimento dos fatores associados à ocorrência do aborto espontâneo é a subnotificação do mesmo e a falta de investigação apropriada dos casos notificados. Dentre as causas implicadas na etiologia do aborto espontâneo, pode-se citar: a) causas genéticas (mutações gênicas, alterações cromossômicas); b) causas endócrinas (diabete, disfunção da tireóide, defeitos da fase lútea); c) causas anatômicas (septo uterino, adesões intrauterinas, incompetência cervical, útero bicorno); d) causas químicas (fármacos, tabaco, álcool, cafeína, drogas ilícitas); e) causas infecciosas (clamídia, citomegalovírus, toxoplasmose, sífilis, brucelose, rubéola); f) causas imunológicas (anticoagulante lúpico, síndrome

antifosfolípides); e g) causas hematológicas (anticorpo anticardiolipina, deficiências da antitrombina III, proteínas C e S, mutação Fator V de Leiden) (SCROGGINS et al., 2000; WILCOX et al., 1988).

As anomalias cromossômicas constituem causas diretas de aborto espontâneo e representam cerca de 50% dos motivos etiológicos do aborto. As trissomias autossômicas são os achados mais usuais (52%), seguido das poliploidias (21%) e da monossomia do cromossomo X (13%), os casos restantes tem como motivo alterações cromossômicas estruturais e casos com mosaicismo (GODDIJN; LESCHOT, 2000; HASSOLD et al., 1980).

As trissomias mais comuns são as dos cromossomos 13, 14, 15, 16, 18, 21 e 22, sendo a trissomia do 16 a forma mais freqüente. Para a maioria das anomalias cromossômicas numéricas, os resultados são ambíguos, por exemplo, a maioria das trissomias envolve o fenômeno de não-disjunção materna e a maioria dos resultados de monossomia dos cromossomos sexuais envolve a perda de um cromossomo sexual de origem paterna e a maioria de tetraploidias deriva-se dos erros no início da divisão celular (CHANDLEY et al., 1975; ZARAGOZA et al. 1994).

## **4 OBJETIVOS**

### **4.1 Objetivo geral**

- Caracterizar a ocorrência de alterações cromossômicas entre os pacientes atendidos na Rede Sarah de Hospitais de Reabilitação (Unidade São Luis) referendados para realização do cariótipo.

### **4.2 Objetivos específicos**

A) Identificar as alterações cromossômicas mais frequentes entre os pacientes atendidos pelo ambulatório de genética clínica e pediatria do hospital SARAHA São Luís, no período de dezembro de 1996 a janeiro de 2005.

B) Identificar os motivos clínicos mais frequentes para a solicitação do exame citogenético na população estudada.

C) Identificar os fatores de riscos associados à ocorrência de alterações cromossômicas, na população estudada.

## **5 CASUÍSTICA E MÉTODOS**

### **5.1 Levantamento bibliográfico**

As referências bibliográficas, utilizadas como suporte para a composição do referencial teórico do trabalho, foram obtidas através da leitura em livros textos das áreas de genética, citogenética e afins; e da busca pela rede mundial de computadores (internet), utilizando-se as palavras chaves de maior interesse para o tema (ex. cromossomopatia, síndromes malformativas, cromossomo, citogenética, cariótipo), os termos utilizados para a pesquisa foram escritos nos idiomas português e inglês. Os sítios de busca utilizados foram: a) revistas especializadas (Genetics and Molecular Biology, Human Genetics, Clinical Genetics, Nature Review Genetics, Journal of Medical Genetics, e New England Journal of Medicine) e b) banco de dados (MedLine Pubmed, SciElo, IBICT, e CAPES). A busca pelas referências bibliográficas teve como limite temporal o período compreendido entre os anos de 1995 a 2005. Entretanto, algumas referências de relevância foram utilizadas (quando indicado), fora do período pré-estabelecido.

### **5.2 Estrutura do trabalho**

O trabalho obedeceu às normas estabelecidas pela ABNT (Associação Brasileira de Normas Técnicas).

A ABNT define Dissertação como sendo: “documento que representa o resultado de um trabalho experimental ou exposição de um estudo científico retrospectivo, de tema único bem definido em sua extensão, com o objetivo de reunir, analisar e interpretar informações. Deve evidenciar o conhecimento de literatura existente sobre o assunto e a capacidade de

sistematização do candidato. É feito sob a coordenação de um orientador (doutor), visando à obtenção do título de mestre” (ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS, 2002c).

### **5.3 Desenho**

O trabalho consistiu em estudo analítico do tipo seccional, onde foram analisadas as causas (cromossomopatias) e os efeitos (malformação congênita, retardo mental, atraso no desenvolvimento neuropsicomotor, atraso na diferenciação sexual, e aborto espontâneo de repetição), em um período pré-estabelecido (dezembro de 1996 a janeiro de 2005), nos pacientes atendidos pelo ambulatório de genética clínica e pediatria do hospital SARAH São Luís.

### **5.4 Local do estudo**

O estudo foi realizado em instituição de referência para patologias do aparelho locomotor, Rede SARAH de Hospitais de Reabilitação – Unidade São Luís; o qual atende e desenvolve trabalhos voltados à reabilitação de pacientes com quadro clínico que envolva déficit no desenvolvimento neuropsicomotor, independente da etiologia da doença.

### **5.5 Caracterização da amostra**

Alocaram-se para o estudo 694 pacientes, sendo 617 (88,9%) oriundos do Estado do Maranhão. Foram incluídos também 50 genitores, correspondentes aos casos em que os probandos possuíam história familiar compatível com suspeita de cromossomopatia herdada (ex.

translocação e cromossomo marcador). A idade dos probandos variou entre a mínima de 38 dias e a máxima de 47 anos.

## 5.6 Coleta e tratamento dos dados

Para o levantamento dos dados, inicialmente buscaram-se todos os casos com indicação para a realização do cariótipo, no período compreendido entre dezembro de 1996 a janeiro de 2005. Este levantamento realizou-se utilizando o sistema de prontuário eletrônico do hospital SARAH São Luís, através de busca das palavras chaves: cariótipo, malformação congênita, cromossomopatia e exame citogenético. Posteriormente os dados obtidos foram exportados para um banco de dados tipo access, para inclusão dos dados do histórico médico do paciente e outros dados pertinentes ao estudo: idade, sexo, local de nascimento, história gestacional, motivo apresentado para a solicitação da consulta, indicação clínica do exame de cariótipo, presença de malformação congênita, presença de retardo mental, recorrência familiar, técnica citogenética utilizada e resultado do cariótipo.

Para o preenchimento dos campos considerados de relevância ao estudo, observou-se em detalhe a história relatada pelo acompanhante/responsável do paciente e a descrição clínica anotada no prontuário, pelo médico assistente. Alguns campos, porém, não estavam completos ou descritos de forma inadequadas (ou não foi possível a descrição pelo acompanhante/responsável, ou não foi questionado pelo médico assistente), por este motivo tiveram que ser desconsiderados em alguns casos. Exemplo, as variáveis idade da mãe, idade do pai e idade gestacional, em alguns casos não foram mencionados ou apresentaram-se inconsistentes, sendo desconsideradas a inclusão destes dados, para o probando em questão.

Para a variável idade gestacional, considerou-se: a) paciente pré-termo, idade gestacional inferior a 37 semanas; b) paciente a termo, idade gestacional compreendida entre 37 e 41 semanas; e c) paciente pós-termo, idade gestacional superior a 42 semanas.

Para o estudo analítico-descritivo foram consideradas as distribuições e frequências relativas e absolutas dos dados levantados e com as mesmas, montaram-se tabelas de frequências e de medidas descritivas.

## **5.7 Estudo citogenético**

O estudo citogenético foi realizado a partir do sangue periférico, por conferir ao paciente menos desconforto e risco à sua saúde.

### **5.7.1 Coleta da amostra**

As amostras de sangue periférico foram colhidas por meio de técnica asséptica em seringas descartáveis e tratadas com heparina sódica, num volume total de 3 a 5ml de sangue. Posteriormente este material era transferido para um tubo de vidro estéril. O material coletado foi transportado, por via aérea, em condições adequadas, para uma das Unidades da Rede SARAH que executam rotineiramente o exame de cariótipo (Brasília, Belo Horizonte ou Salvador).

### **5.7.2 Cultura temporária de linfócitos e obtenção de metáfases**

Para a análise citogenética convencional e citogenética molecular foram utilizados núcleos metafásicos e interfásicos, respectivamente, segundo técnica para cultura temporária de linfócitos modificada de MOOREHEAD et al. (1960).

Para a obtenção das metáfases, utilizou-se o meio de cultura RPMI 1640, enriquecido com 10% de soro fetal bovino, um agente mitogênico (fitohemaglutinina) e uma solução de estreptomicina/penicilina (1mg/mL de estreptomicina e 1UI/ de penicilina G potássica). Em câmara de fluxo laminar, foram adicionados 0,5 mL de sangue total homogeneizado do paciente em 5 mL do meio de cultura acima descrito. Em seguida, procedeu-se com a etapa de incubação em estufa de CO<sub>2</sub> a 37°C por 72 horas.

Findo o período de incubação foram adicionados 400 µL de solução de brometo de etídio, para alongamento dos cromossomos (5,5 mg em 100 mL de HBSS – *Hanks's Balanced Salt Solution*), permanecendo em repouso por mais 45 a 60 minutos, na estufa a 37°C. A seguir, foram acrescidos 40 a 50 µL de colcemid (10 mg/mL) por mais 15 minutos de incubação a 37°C.

Ao término desta etapa, o material foi centrifugado a 1000 rpm por 15 minutos, desprezou-se o sobrenadante e efetuou-se uma rápida homogeneização do material restante. A seguir, adicionou-se 10 mL de solução hipotônica (cloreto de potássio 0,075M) e incubou-se por 7 a 8 minutos a 37°C. Procedeu-se nova centrifugação e foram acrescidos lentamente 5 mL de solução de fixação (3 partes de metanol para uma parte de ácido acético glacial). Foram realizadas mais três a quatro trocas de fixador, para completa fixação do material e limpeza do *pellet* celular. Por último, desprezou-se o sobrenadante, preservando-se um volume final de sedimento concentrado e fixado, entre 0,5 a 1 mL.

### 5.7.3 Preparo de lâminas para o estudo citogenético

Para o preparo das lâminas do material obtido, gotejou-se entre 2 a 3 gotas da suspensão celular em lâminas de vidro limpas e mantidas em água destilada gelada, em uma inclinação de

aproximadamente 45°, para melhor espalhamento do material. Em geral, preparou-se 10 lâminas para cada paciente. As lâminas para análise citogenética convencional foram desidratadas a 60°C por 12 a 24 horas. As lâminas para análise citogenética molecular foram feitas com maior concentração de metáfases e de núcleos interfásicos e mantidas a -20°C até o momento de serem utilizadas.

Como rotina foi realizada a técnica de bandamento GTW (tripsina e wright) e, quando indicado, procedeu-se com as técnicas de bandamento C e NOR.

A análise citogenética molecular foi realizada utilizando-se a técnica de hibridação *in situ* por fluorescência (PINKEL; STRAUME; GRAY, 1986), para identificação das alterações numéricas e das alterações estruturais, como cromossomo em anel, cromossomo marcador, isocromossomo, microdeleção cromossômica, etc.

#### 5.7.4 Análise microscópica

Utilizou-se como rotina a pesquisa das metáfases em microscopia óptica de imersão (100X), empregando-se oculares com aumento de imagem de 10X. Esta rotina foi realizada em microscópio Axiolab (Zeiss).

Após a análise microscópica detalhada, pelo menos duas metáfases de cada paciente foram montadas utilizando sistema de digitalização de análise de imagens, utilizando-se o sistema Applied Imaging CitoVision.

Para cada paciente foram analisadas entre 20 e 50 metáfases para que mosaicismos maiores que 14% fossem eliminados, com intervalo de confiança de 95%. Os achados foram descritos utilizando-se a nomenclatura proposta pelo ISCN (1995).

## 5.8 Análise estatística

Para caracterização dos indivíduos da amostra foi realizada a análise descritiva. As variáveis quantitativas foram apresentadas através de médias e desvio padrão, enquanto as variáveis qualitativas através de proporção.

### 5.8.1 Análise univariada

Para identificarmos quais eram os fatores estudados que estavam associados com as alterações cromossômicas, utilizou-se o modelo de regressão logística, não ajustada, através de análise univariada (HOSMER; LEMESHOW, 1989). Na análise de regressão, foram calculados os *Odds Ratio*, com seus respectivos intervalos de confiança de 95%. Foi considerado que houve associação significativa entre as variáveis quando valor de  $p < 0,05$ .

Os dados foram analisados no programa STATA 8.0.

### 5.8.2 Análise multivariada

Após realização da análise univariada, foi construído o modelo logístico multivariado, o qual contém apenas as variáveis consideradas estatisticamente significantes no modelo logístico univariado.

Os dados foram analisados no programa STATA 8.0.

### **5.9 Viés de informação**

Admitiram-se como possíveis vieses de informação: o desconhecimento de dados sobre o nascimento do probando pelo responsável/acompanhante e o não preenchimento pelo médico assistente de dados relacionados às variáveis estudadas (idade da mãe, idade do pai e idade gestacional, por exemplo).

### **5.10 Aspectos éticos**

O presente trabalho foi submetido ao Comitê de Ética da Rede SARAH de Hospitais de Reabilitação (reconhecido pela Comissão Nacional de Ética em Pesquisa - CONEP), tendo obtido autorização para a sua realização e divulgação.

## 6 RESULTADOS

### 6.1 Caracterização da amostra

No período de dezembro de 1996 a janeiro de 2005 foram encaminhados para realização do estudo citogenético, na Rede SARA H de Hospitais de Reabilitação – Unidade São Luís, 694 pacientes. Deste total, em apenas 10 casos não foi possível a realização da análise cromossômica. A maior demanda de pacientes foi observada entre os pacientes nascidos na cidade de São Luís – Ma, 353 (50,87%), conforme mostra a tabela abaixo (Tabela 1).

Tabela 1 - Distribuição de freqüência dos probandos que realizaram exame de cariótipo, alocados segundo o local de nascimento.

Local de nascimento	Freqüência	
	Absoluta	Relativa
São Luís	353	50,87
Interior do Maranhão	264	38,04
Outros Estados da Região Nordeste	30	4,32
Região Norte	36	5,19
Região Sudeste	3	0,43
Região Centro-Oeste	5	0,72
Outro País	1	0,14
Não informado	2	0,29
Total	694	100

A idade média dos probandos foi de seis anos, variando entre 38 dias e 47 anos (Tabela 2).

A tabela 3 mostra a distribuição das idades dos probandos, na época de realização do exame

citogenético. Com relação ao sexo dos probandos, observou-se predomínio do sexo feminino, 55,48% (385 casos), entre os pacientes investigados (Tabela 4).

Tabela 2 - Distribuição de medidas descritivas dos probandos (em anos), que realizaram exame de cariótipo.

Medida descritiva	Idade do probando (anos)
Mínimo	0,1
Máximo	47
Média	6
Mediana	4
Moda	1
Desvio padrão	7

Tabela 3 - Distribuição dos probandos que realizaram exame de cariótipo, alocados segundo a faixa etária na época do exame citogenético.

Idade (anos)	Frequência	
	Absoluta	Relativa
0  – 2	193	27,81
2  – 4	154	22,19
4  – 6	81	11,67
6  – 10	90	12,97
10  – 20	143	20,61
20  – 30	20	2,88
30  – 40	10	1,44
≥ 40	3	0,43
Total	694	100

Tabela 4 - Distribuição dos probandos que realizaram exame de cariótipo, alocados segundo o sexo.

Sexo	Frequência	
	Absoluta	Relativa
Feminino	385	55,48
Masculino	309	44,52
Total	694	100

Entre as idades dos genitores a menor idade materna observada foi 12 anos e a maior 46 anos, e entre as idades paternas observou-se que a menor foi 15 anos e a maior 66 anos (Tabelas 5, 6 e 7).

Tabela 5 - Distribuição das faixas etárias das mães dos probandos que realizaram exame de cariótipo, alocadas segundo a época de nascimento do probando.

Idade (anos)	Frequência	
	Absoluta	Relativa
12  – 15	7	1,01
15  – 20	99	14,27
20  – 25	168	24,21
25  – 30	138	19,88
30  – 40	100	14,41
40  – 50	20	2,88
Não informado	162	23,34
Total	694	100

Tabela 6 - Distribuição das faixas etárias dos pais dos probandos que realizaram exame de cariótipo, alocadas segundo a época de nascimento do probando.

Idade (anos)	Frequência	
	Absoluta	Relativa
15  – 20	24	3,46
20  – 25	109	15,71
25  – 30	142	20,46
30  – 40	145	20,89
40  – 50	55	7,93
≥ 50	18	2,59
Não informado	201	28,96
Total	694	100

Tabela 7 - Distribuição das medidas descritivas das idades maternas e paternas (em anos) dos probandos que realizaram exame de cariótipo.

Medida descritiva	Idade materna	Idade paterna
Mínimo	12	15
Máximo	46	71
Média	25	30
Mediana	18	28
Moda	29	23
Desvio padrão	6,69	7,70

A consangüinidade esteve presente em 53 casos (7,64%) e a observação de casos com história de parentes afetados por doença com padrão de herança genética foi de 17,29% (120 casos) (Tabelas 8 e 9). No estudo observou-se também a presença de um caso em que o pai era também pai da mãe do probando e um outro em que o pai era irmão da mãe do probando.

Tabela 8 - Distribuição dos probandos que realizaram exame de cariótipo, alocados segundo a consangüinidade dos genitores.

Consangüinidade	Frequência	
	Absoluta	Relativa
Presente	53	7,64
Ausente	641	92,36
Total	694	100

Tabela 9 - Distribuição dos probandos que realizaram exame de cariótipo, alocados segundo recorrência familiar\*.

Recorrência familiar	Frequência	
	Absoluta	Relativa
Presente	120	17,29
Ausente	574	82,71
Total	694	100

\* Nota: considerou-se como recorrência familiar: a presença de caso com quadro clínico semelhante ao do probando e relato de retardo mental e/ou de doença cromossômica entre os familiares do probando.

Com relação ao tipo de parto, observa-se que, de maneira geral, o parto natural (vaginal) foi o mais comum, descrito em 70,17% dos casos (n = 487), conforme mostra a tabela 10.

Tabela 10 - Distribuição dos probandos que realizaram exame de cariótipo, alocados segundo o tipo de parto.

Tipo de parto	Frequência	
	Absoluta	Relativa
Natural	487	70,17
Cesariano	207	29,83
Total	694	100

O número de gestações revelado pelas mães dos pacientes variou entre a mínima de uma gestação e a máxima de dezoito gestações e a ocorrência de aborto espontâneo foi notificada em apenas 98 casos (14,12%) (Tabela 11). A descrição dos dados referentes aos antecedentes gestacionais da família do probando não foi notificada em 198 casos (28,53%).

Tabela 11 – Distribuição das medidas descritivas do número de gestações e número de abortos espontâneos (descritos pela população estudada) ocorridos nas mães dos probandos que realizaram exame de cariótipo.

Medida descritiva	Gestações	Abortos espontâneos
Mínimo	1	1
Máximo	18	8
Média	3	1,61
Mediana	3	1
Moda	2	1
Desvio padrão	2,27	1,31

A idade gestacional foi descrita em 91,21% casos analisados (633/694) e demonstrou ocorrência de prematuridade em 10,52% dos casos analisados (Tabela 12).

Tabela 12 - Distribuição dos probandos que realizaram exame de cariótipo, alocados segundo a idade gestacional.

Idade gestacional	Frequência	
	Absoluta	Relativa
A termo	553	79,68
Pré-termo	73	10,52
Pós-termo	7	1,01
Não informado	61	8,79
Total	694	100

Peso ao nascimento foi descrito em 480 casos (69,16%). Observou-se que o mesmo variou entre o mínimo de 0,700Kg e a máxima de 5,200Kg, com uma média de 2,906Kg (Tabela 13).

Tabela 13 – Distribuição das medidas descritivas do peso ao nascimento dos probandos que realizaram exame de cariótipo, em kilogramas.

Medida descritiva	Peso ao nascimento (kg)
Mínimo	0,700
Máximo	5,200
Média	2,906
Mediana	2,962
Moda	3,000
Desvio padrão	0,721

Entre as queixas apresentadas pelo responsável do paciente na primeira consulta, o atraso no desenvolvimento neuropsicomotor esteve presente em 259 casos (37,33%), seguido da presença de malformação congênita em 228 casos (32,86%). Outro motivo que apresentou uma demanda significativa foi a indicação de o paciente ser portador de alguma síndrome genética, 101 casos (14,55%) (Tabela 14).

Tabela 14 - Distribuição dos probandos que realizaram exame de cariótipo, alocados segundo o motivo apresentado na primeira consulta.

Queixa	Frequência	
	Absoluta	Relativa
Atraso no desenvolvimento neuropsicomotor	259	37,33
Malformação congênita	228	32,86
Paciente Sindrômico	101	14,55
Hipotonia	69	9,94
Dor	27	3,89
Trauma	6	0,86
Caso semelhante na família	2	0,29
Não informada	1	0,14
Outras	1	0,14
Total	694	100

A análise dos motivos clínicos apresentados pelo médico assistente como indicação para a realização do estudo citogenético demonstra que o principal motivo observado na população estudada foi a presença de malformação congênita, isolada ou associada ao retardo mental (51,87%) (Tabela 15). Entre as indicações de suspeita de doença cromossômica, a síndrome de Down mostrou-se ser a mais freqüente, com a notificação de 94 indicações (59,89%) (Tabela 16).

Tabela 15 - Distribuição dos probandos que realizaram exame de cariótipo, alocados segundo o motivo clínico apresentado para a realização do estudo citogenético.

Motivo da indicação	Frequência	
	Absoluta	Relativa
Malformação associada a retardo mental	201	28,96
Malformação congênita	159	22,91
Suspeita de doença cromossômica	157	22,62
Retardo mental	120	17,29
Diagnóstico diferencial	48	6,92
História familiar	5	0,72
Aconselhamento genético / diagnóstico	3	0,43
Não identificado	1	0,14
Total	694	100

Tabela 16 - Distribuição dos probandos que realizaram exame de cariótipo, alocados segundo a indicação de doença cromossômica.

Motivo da indicação	Frequência	
	Absoluta	Relativa
Síndrome de Down	94	59,89
Síndrome de Turner	28	17,83
Síndrome de Prader-Willi	9	5,73
Outras cromossomopatias	9	5,73
Síndrome do X-frágil	5	3,18
Síndrome de Angelman	5	3,18
Síndrome de cri-du-chat	3	1,91
Síndrome de Klinefelter	2	1,27
Síndrome de Edwards	1	0,64
Diagnóstico diferencial	1	0,64
Total	157	100

## 6.2 Caracterização do estudo citogenético

O resultado positivo para alguma forma de alteração cromossômica foi observado em 221 casos (31,85%); sendo a alteração numérica dos autossomos a mais freqüente, encontrada em 102 casos (46,15%). A alteração estrutural dos autossomos foi observada em 52 casos (23,53%), alteração em cromossomos sexuais em 19 casos (8,60%) e as alterações cromossômicas descritas como variação da normalidade (polimorfismo cromossômico) em 48 casos (21,72%) (Tabelas 17 e 18). Não foi possível a realização do exame em 10 casos (1,44%).

Tabela 17 - Distribuição dos probandos que realizaram exame de cariótipo, alocados segundo a observação de presença de alteração cromossômica.

Alteração cromossômica	Freqüência	
	Absoluta	Relativa
Presente	221	31,85
Ausente	463	66,71
Não houve crescimento celular	10	1,44
Total	694	100

Tabela 18 - Distribuição das alterações cromossômicas identificadas nos probandos que realizaram exame de cariótipo.

Tipo de alteração cromossômica	Freqüência	
	Absoluta	Relativa
Alteração numérica	102	46,15
Alteração estrutural	52	23,53
Alteração nos cromossomos sexuais	19	8,60
Variação da normalidade	48	21,72
Total	221	100

A caracterização das alterações citogenéticas encontradas nos probandos foi possível através da utilização das técnicas convencionais em citogenética (bandamento G, bandamento NOR e bandamento C) e quando indicado ou necessário para a elucidação diagnóstica utilizou-se do: cariótipo de alta-resolução (pró-metafásico), pesquisa para sítio frágil, técnica para pesquisa de instabilidade cromossômica e técnica de hibridação *in situ* por fluorescência (FISH). Os resultados obtidos pela análise cromossômica encontram-se descritos nas tabelas abaixo (Tabelas 19, 20, 21 e 22).

Tabela 19 - Distribuição das alterações citogenéticas numéricas observadas na casuística estudada.

Descrição	Frequência	
	Absoluta	Relativa
47,XX,+21	47	46,09
47,XY,+21	37	36,27
47,XX,+mar	2	1,96
47,XY,+mar	2	1,96
47, XX,+13[11]/46,XX[94]	1	0,98
47,XX,+i(18)(pter->p10::p10->pter)	1	0,98
47,XY,+18[34]/46,XY[16]	1	0,98
47,XX,+21,der(21;22)(q10;q10)	1	0,98
47,XX,+21,der(21;21)(q10;q10)	1	0,98
47,XX,+21,inv(9)(p11q23)	1	0,98
47,XX,+21ps-,21ps-	1	0,98
47,XX,+21,9qh+	1	0,98
47,XX,+21,13pstk-	1	0,98
47,XY,+21,22ps+	1	0,98
47,XY,+21[96]/46,XY[4]	1	0,98
47,XY,+21,22pstk-	1	0,98
47,XY,+21,9qh+	1	0,98
47,XY,+mar[5]/46,XY[95]	1	0,98
Total	102	100

Tabela 20 - Distribuição das alterações citogenéticas estruturais observadas na casuística estudada.

Descrição	Frequência	
	Absoluta	Relativa
46,XX,del(5)(qter->p14:)	2	4,00
46,XX,der(1)ins(1;8)(q44;p22p12)pat	1	1,92
46,XX,del(2)(pter->q37:)	1	1,92
46,XX,del(2)(q32q35)	1	1,92
46,XY,del(3)(qter->p25:)	1	1,92
46,XY,del(3)(q24)	1	1,92
46,XX,del(4)(p15.?)	1	1,92
46,XY,del(4)(q32)	1	1,92
46,XY,der(4)(pter->q34::q26->q31.3:)	1	1,92
46,XX,del(5)(qter-->p13:)	1	1,92
46,XX,inv dup(5)(qter->p15.3::p15.3->p13.1:)	1	1,92
46,XX,dup(5)(q22q31.3)	1	1,92
46,XY,der(5;6)(?)	1	1,92
46,XX,rec(5)del(5)(p15.1)dup(5)(qterq34)inv(5)(p15.1q34)pat	1	1,92
46,XX?del(6)(pter->p11.2::p11.2->qter),9qh-	1	1,92
46,XY,del(7)(pter->15::p13->pter)	1	1,92
46,XX,add(8)(?::p23-->qter)	1	1,92
46,XX,add(8)(p?)	1	1,92
46,XY,?dup(8)(p23.1)	1	1,92
46,XY,?dup(8)(p23.1),inv(9)(p11q13)	1	1,92
46,XX,ins(9:?) (pter->q12::?:q12->qter)	1	1,92
46,XX,del(9)(qter-->p22:)	1	1,92
46,XX,add(9)(?::p22p24-qter)	1	1,92
46,XY,del(10)(pter->q26:)	1	1,92
46,XX,del(11)(pter-q2.23:)	1	1,92
46,XX,del(11)(q24)	1	1,92
46,XY,del(13)(q32)	1	1,92

Tabela 20 - Continuação

Descrição	Frequência	
	Absoluta	Relativa
45,XX,der(13;21)(q10;q10)	1	1,92
46,XX,del(13)(pter->q14::q22->qter)	1	1,92
45,XX,der(14;21)(q10;q10)	1	1,92
46,XX,inv(14)(q22q24.3)	1	1,92
46,XX,del(15)(q11q13)	1	1,92
46,XX,?del(15)(pter->q11.2::q13->qter)	1	1,92
46,XY,?del(15)(q11q13)	1	1,92
46,XY,del(15)(q11q13),inv(9)(p11q12)	1	1,92
46,XY,del(17)(pter->p11.2::p11.2->qter)	1	1,92
46,XY,del(17)(qter->p11.2::p11.2->pter)	1	1,92
46,XX,add(17)(p13.?)	1	1,92
46,XX,?del(18)(q21)	1	1,92
46,XX,add(18)(pter->q21.3::?)	1	1,92
46,XX,idel(18)(qter->p11.3::p11.3->qter)	1	1,92
46,XX,add(18)(q2?)	1	1,92
46,XY,del18(pter->q21.2:)	1	1,92
46,XX,der(18)(18qter->18p11.3::11q14~21->11qter)	1	1,92
46,XX,der(20)(20qter->20p13::6p22->6pter)mat	1	1,92
46,XX,add(21)(p13),13cenh+	1	1,92
46,XX,der(21;21)(21qter->21q10::21q10->21qter)	1	1,92
46,XX,der(22)(pter->q13::?)	1	1,92
46,X,t(X;18)(p22.13;q21.31)	1	1,92
46,XX,t(2;16)(p11.2;q13),t(5;6)(q33;p23),inv(9)(p11q13), t(10;14)(p13;q23)	1	1,92
46,X,t(X;11;9)(11pter->11p11.2::Xp11.23-> Xq24::9q22.3->9qter;11qter->11p11.2::Xp11.23-> Xpter;9pter-> 9q22.3::Xq24->Xqter)	1	1,92
Total	52	100

Tabela 21 - Distribuição das alterações citogenéticas encontradas nos cromossomos sexuais observadas na casuística estudada.

Descrição	Frequência	
	Absoluta	Relativa
45,X	4	21,08
46,XY(intersexo)	2	10,53
49,XXXXY	2	10,53
45,X[5]/46,XX[295]	1	5,26
45,X[109]/46,X+r(?)[61]	1	5,26
45,X,15ps+	1	5,26
45,X,21pststk	1	5,26
45,X/46,X,i(X)(q10)	1	5,26
45,X/46,X,i(X)(qter->q10::q10->qter)	1	5,26
47,XXY,inv(9)(p11q13)	1	5,26
47,XYY	1	5,26
46,X,i(X)(qter->q10::q10->qter)[56]/45,X[42]/46,XX[2]	1	5,26
46,X,i(X)(q10)[37]/45,X[13]	1	5,26
46,Y,fra(X)(?q27.3)	1	5,26
Total	19	100

Tabela 22 - Distribuição das alterações citogenéticas descritas como variação da normalidade (polimorfismo cromossômico), observadas na casuística estudada.

Descrição	Frequência	
	Absoluta	Relativa
46,XX,inv(9)(p11q13)	8	16,70
46,XY,inv(9)(p11q13)	4	8,34
46,XX,9qh+	3	6,25
46,XY,16qh+	3	6,25
46,XX,22pstkstk	2	4,18
46,XX,1qh+	2	4,18
46,X,Yqh+	2	4,18
46,XY,9qh+	1	2,08
46,XY,9qh-	1	2,08
46,XX,9qh-	1	2,08
46,XX,1qh+,16qh-	1	2,08
46,XX,22ps+	1	2,08
46,XX,21pstkstk	1	2,08
46,XX,13pstkstk,21pstkstk	1	2,08
46,XX,16qh+	1	2,08
46,XX,16qh-	1	2,08
46,XY,21pstkstk	1	2,08
46,XY,15cenh+	1	2,08
46,XY,1qh-	1	2,08
46,X,Yqh+,22pss	1	2,08
46,XY,21ps+	1	2,08
46,XY,14pss	1	2,08
46,XX,15cenh+pstk-,21pstkstk	1	2,08
46,XY,1qh+	1	2,08
46,XY,15pstkstk	1	2,08
46,XY,13ps-	1	2,08

Tabela 22 - Continuação

Descrição	Frequência	
	Absoluta	Relativa
46,XX,inv(9)(p11q13),16qh+	1	2,08
46,XX,inv(9)(p13q21)	1	2,08
46,XY,inv(9)(p11q13),22ps+	1	2,08
46,XX,22pstk+	1	2,08
46,X,Yqh+	1	2,08
Total	48	100

A realização de análise cromossômica entre os parentais foi possível em 26 mães e 24 pais, revelando uma ocorrência de alteração cromossômica de 26,95% entre as mães e de 12,51% entre os pais (Tabelas 23 e 24).

Tabela 23 - Distribuição dos achados citogenéticos encontradas nas mães dos probandos que realizaram exame de cariótipo.

Descrição	Frequência	
	Absoluta	Relativa
46,XX	19	73,05
46,XX,inv(9)(p11q13)	2	7,70
46, XX,t(6;20)(6qter->6p22::20p13->20pter; 20qter->20p13::6p22->6pter)	1	3,85
46,XX,inv(9)(pter->q12::q21->q12::q21->qter)	1	3,85
46,XX,inv(9)(p13q21)	1	3,85
46,XX,t(4;14)(4pter->4q31.3::14q13->14qter; 14pter->14q13::4q31.3->4qter)	1	3,85
46,XX,1qh-	1	3,85
Total	26	100

Tabela 24 - Distribuição dos achados citogenéticos encontradas nos pais dos probandos que realizaram exame de cariótipo.

Descrição	Frequência	
	Absoluta	Relativa
46,XY	21	87,49
46,XY,inv(5)(pter->p15.1::q34->p15.1::q34->qter)	1	4,17
46,XY,inv(14)(q22q24.3)	1	4,17
46,XY,der(1)ins(1;8)(q44;p22p12),9qh+	1	4,17
Total	24	100

### 6.3 Análise de regressão logística

Através da análise não ajustada verificou-se que a variável idade materna superior a 35 anos e a variável ocorrência de aborto espontâneo apresentaram associação significativa com os pacientes portadores de alteração cromossômica numérica ( $p < 0,001$  e  $p = 0,001$ , respectivamente) (Tabela 25). Outras associações foram também identificadas quando da análise dos dados dos portadores de alteração cromossômica estrutural com a variável sexo feminino (valor de  $p = 0,007$ ) e entre os pacientes portadores de polimorfismo cromossômico com a variável prematuridade (valor de  $p = 0,008$ ) (Tabelas 26 e 28). Não foi observada associação significativa de nenhuma variável estudada com os casos de pacientes com alteração nos cromossomos sexuais (Tabelas 27).

Tabela 25 - Análise não ajustada da associação dos fatores estudados com a ocorrência de alteração cromossômica numérica.

Variável	N (%)	OR (IC 95%)	p-valor
<b>Sexo</b>			0,623
Masculino	45 (44,12)	1	
Feminino	57 (55,88)	1,11 (0,72 - 1,71)	
<b>Idade da mãe</b>			<0,001
Até 35 anos	71 (75,53)	1	
Acima de 35 anos	23 (24,47)	6,74 (3,39 - 13,41)	
<b>Idade do pai</b>			0,029
Até 35 anos	61 (69,32)	1	
Acima de 35 anos	27 (30,68)	1,80 (1,06 - 3,07)	
<b>Prematuridade</b>			0,312
A termo	41 (80,39)	1	
Pretermo	10 (19,61)	1,48 (0,69 - 3,16)	
<b>Ocorrência de aborto</b>			0,001
Não	71 (69,61)	1	
Sim	31 (30,39)	2,25 (1,38 - 3,67)	
<b>Recorrência familiar</b>			0,220
Não	81 (79,41)	1	
Sim	21 (20,59)	1,40 (0,82 - 2,41)	
<b>Uso de drogas (abortivas)</b>			NC
Não	102 (100,0)	1	
Sim	0 (0,0)	NC	
<b>Parto cesariano</b>			0,140
Não	65 (63,73)	1	
Sim	37 (36,27)	1,4 (0,89 - 2,20)	
<b>Consangüinidade</b>			0,026
Não	101 (99,02)	1	
Sim	1 (0,98)	0,10 (0,01 - 0,75)	

NC = não calculado devido insuficiência de informações.

Tabela 26 - Análise não ajustada da associação dos fatores estudados com a ocorrência de alteração cromossômica estrutural.

Variável	N (%)	OR (IC 95%)	p-valor
<b>Sexo</b>			0,007
Masculino	16 (27,59)	1	
Feminino	42 (72,41)	2,31 (1,26 - 4,22)	
<b>Idade da mãe</b>			0,638
Até 35 anos	46 (93,88)	1	
Acima de 35 anos	3 (6,12)	1,36 (0,38 - 4,83)	
<b>Idade do pai</b>			0,984
Até 35 anos	37 (80,43)	1	
Acima de 35 anos	9 (19,57)	0,99 (0,45 - 2,16)	
<b>Prematuridade</b>			0,344
A termo	23 (79,31)	1	
Pretermo	6 (20,69)	1,58 (0,61 - 4,09)	
<b>Ocorrência de aborto</b>			0,888
Não	49 (84,48)	1	
Sim	9 (15,52)	0,95 (0,44 - 2,01)	
<b>Recorrência familiar</b>			0,102
Não	44 (75,86)	1	
Sim	14 (24,14)	1,72 (0,90 - 3,30)	
<b>Uso de drogas (abortivas)</b>			0,367
Não	57 (98,28)	1	
Sim	1 (1,72)	0,39 (0,05 - 2,98)	
<b>Parto cesariano</b>			0,941
Não	41 (70,69)	1	
Sim	17 (29,31)	1,02 (0,56 - 1,86)	
<b>Consangüinidade</b>			0,633
Não	54 (93,10)	1	
Sim	4 (6,90)	0,77 (0,26 - 2,23)	

Tabela 27 - Análise não ajustada da associação dos fatores estudados com a ocorrência de alteração nos cromossomos sexuais.

Variável	N (%)	OR (IC 95%)	p-valor
<b>Sexo</b>			0,135
Masculino	4 (26,67)	1	
Feminino	11 (73,3)	2,42 (0,75 - 7,70)	
<b>Idade da mãe</b>			NC
Até 35 anos	9 (100,0)	1	
Acima de 35 anos	0 (0,0)	NC	
<b>Idade do pai</b>			NC
Até 35 anos	7 (100,0)	1	
Acima de 35 anos	0 (0,0)	NC	
<b>Prematuridade</b>			NC
A termo	7 (100,0)	1	
Pretermo	0 (0,0)	NC	
<b>Ocorrência de aborto</b>			0,338
Não	14 (93,33)	1	
Sim	1 (6,67)	0,37 (0,05 - 2,84)	
<b>Recorrência familiar</b>			0,812
Não	13 (86,67)	1	
Sim	2 (13,33)	0,83 (0,18 - 3,76)	
<b>Uso de drogas (abortivas)</b>			NC
Não	15 (100,0)	1	
Sim	0 (0,0)	NC	
<b>Parto cesariano</b>			0,459
Não	12 (80,0)	1	
Sim	3 (20,0)	0,67 (0,17 - 2,21)	
<b>Consangüinidade</b>			0,778
Não	14 (93,33)	1	
Sim	1 (6,67)	0,74 (0,09 - 5,80)	

NC = não calculado devido insuficiência de informações.

Tabela 28 - Análise não ajustada da associação dos fatores estudados com a ocorrência de variação da normalidade (polimorfismo cromossômico).

Variável	N (%)	OR (IC 95%)	p-valor
<b>Sexo</b>			0,762
Masculino	25 (49,02)	1	
Feminino	26 (50,98)	0,91 (0,51 - 1,63)	
<b>Idade da mãe</b>			0,058
Até 35 anos	27 (87,10)	1	
Acima de 35 anos	4 (12,90)	3,08 (0,96 - 9,87)	
<b>Idade do pai</b>			0,105
Até 35 anos	21 (67,74)	1	
Acima de 35 anos	10 (32,26)	1,94 (0,87 - 4,33)	
<b>Prematuridade</b>			0,008
A termo	14 (63,64)	1	
Pretermo	8 (36,36)	3,46 (1,38 - 8,72)	
<b>Ocorrência de aborto</b>			0,642
Não	44 (86,27)	1	
Sim	7 (13,73)	0,82 (0,36 - 1,90)	
<b>Recorrência familiar</b>			0,987
Não	43 (84,31)	1	
Sim	8 (15,69)	1,00 (0,45 - 2,23)	
<b>Uso de drogas (abortivas)</b>			0,906
Não	49 (96,08)	1	
Sim	2 (3,92)	0,91 (0,21 - 4,03)	
<b>Parto cesariano</b>			0,933
Não	36 (70,59)	1	
Sim	15 (29,41)	1,03 (0,54 - 1,94)	
<b>Consangüinidade</b>			0,480
Não	45 (88,24)	1	
Sim	6 (11,76)	1,39 (0,56 - 3,45)	

A tabela abaixo mostra os resultados obtidos através da análise multivariada, dos fatores que demonstraram associação significativa na análise não ajustada: idade materna superior a 35 anos, ocorrência de aborto espontâneo prévio, sexo e prematuridade (Tabela 29).

Tabela 29 – Análise ajustada dos fatores considerados estatisticamente significantes no modelo logístico univariado com a ocorrência de alteração cromossômica.

Variável	Alteração numérica			Alteração estrutural			Var. da normalidade		
	OR	IC95%	p-valor	OR	IC95%	p-valor	OR	IC95%	p-valor
<b>Sexo</b>			0,66			0,007			0,98
Masculino	1			1			1		
Feminino	0,9	0,45-1,66		4,1	1,5-11,2		1,0	0,4-2,7	
<b>Idade da mãe</b>			0,001			0,94			0,56
Até 35 anos	1			1			1		
Acima de 35 anos	7,4	2,3-23,2		0,9	0,10-8,23		2,0	0,2-20,3	
<b>Prematuridade</b>			0,28			0,23			0,092
A termo	1			1			1		
Pretermo	1,6	0,69-3,57		1,9	0,68-5,14		2,5	0,8-7,2	0,8-7,2
<b>Aborto</b>			0,004			0,47			NC
Não	1			1			1		
Sim	2,8	1,4-5,7		1,4	0,52-4,04		NC	NC	

NC = não calculada devida insuficiência de informações.

## 7 DISCUSSÃO

A análise não ajustada revelou que a idade materna superior a 35 anos representou um risco aumentado de aproximadamente sete vezes para a ocorrência de trissomias (OR = 6,74;  $p < 0,001$ ), para as alterações cromossômicas numéricas. O que demonstra a importância de um acompanhamento mais eficaz nas gestações de mães em idade avançada (>35 anos). Demonstrou-se, também, correlação entre a ocorrência de aborto em famílias com alteração cromossômica numérica (OR = 2,25;  $p = 0,001$ ). Demonstrou-se ainda que o sexo feminino apresentava um risco duas vezes maior de apresentar uma alteração cromossômica estrutural, quando comparado ao sexo masculino (OR = 2,31;  $p = 0,007$ ). Prematuridade foi outra variável que apresentou associação com as anomalias cromossômicas, sendo demonstrado um risco maior que três vezes para os polimorfismos cromossômicos (OR = 3,46;  $p = 0,008$ ).

Neste estudo, através de análise multivariada, demonstrou-se uma associação significativa para as alterações numéricas: a) entre idade materna superior a 35 anos (OR = 7,36;  $p = 0,001$ ); e b) entre história de mães com aborto espontâneo prévio e filhos com resultado de cariótipo com alteração numérica (OR = 2,81;  $p = 0,004$ ). Demonstrou-se, ainda, associação entre alterações cromossômicas estruturais e o nascimento de probandos do sexo feminino (OR = 4,06;  $p = 0,007$ ). A qualidade do modelo ajustado foi avaliada pelo teste de Hosmer-Lemeshow ( $p = 0,957$ ) (HOSMER; LEMESHOW, 1989).

Dos 694 pacientes investigados no presente estudo, observou-se que o maior contingente de pacientes com indicação para o estudo citogenético foi oriundo do Estado do Maranhão (88,91%), sendo a capital do Estado a cidade com o maior número de participantes (50,87%). Os casos de pacientes oriundos das regiões Norte e de outros estados do Nordeste que somados representaram 9,51% dos casos analisados justificam-se, provavelmente, pela carência de

serviços de atendimento à saúde que possam realizar exames citogenéticos nestas regiões. Os casos oriundos de outras regiões (1,44%) devem-se ao fato dos mesmos serem o reflexo de migração dos seus genitores para localidades atendidas pelo Hospital SARAH São Luís. Em dois casos (0,29%) não foi possível identificar a origem do paciente.

A idade mínima apresentada pelos pacientes estudados, na época do exame citogenético, foi de 38 dias e a máxima de 47 anos, sendo a idade média igual a 6,0 anos ( $\pm 7,0$  anos). Observou-se ainda que a maior parte dos probandos concentrava-se na faixa etária entre zero e 10 anos (74,64%). Este dado não é novo, uma vez que as cromossomopatias determinam manifestações clínicas, em sua grande maioria, vistas logo ao nascimento. Por isto, não é surpresa que o paciente procure atendimento logo em seus primeiros anos de vida. Outro ponto de importância é que a sobrevida destes pacientes é relativamente curta (PASTERNAK, 2002; THOMPSON; MCINNES; WILLARD, 1993; YONG et al., 2003). Nos casos dos pacientes adultos ou adulto-jovens, verificou-se que em sua maioria o estudo citogenético teve como indicação a queixa de infertilidade ou de abortos recorrentes, e em outros o estudo citogenético deveu-se à ocorrência de casos na família com padrão de doença cromossômica (ex. retardo mental, malformação congênita).

Entre os genitores, a idade paterna variou entre a mínima de 15 anos e a máxima de 71 anos, sendo a idade média igual a 30 anos ( $\pm 7,70$  anos), apresentando-se em geral mais elevada que a materna, idade média igual a 25 anos ( $\pm 6,69$  anos). Resultado igualmente observado em estudo realizado por Carvalho (1994). A idade materna dos probandos que realizaram o estudo citogenético variou entre a mínima de 12 anos e a máxima de 46 anos. Em relação aos probandos que apresentaram alguma alteração cromossômica, a idade materna variou entre a mínima de 14 anos e a máxima de 46 anos (idade média igual a 27 anos  $\pm 7,71$  anos). Vários estudos demonstram que a idade materna elevada ( $>35$  anos) influencia no aumento da incidência dos

casos de trissomia por não-disjunção; sendo mencionado, por exemplo, uma correlação de incidência para a síndrome de Down de 1 para 1000 nascidos vivos em mães com idade inferior a trinta anos, 1 para 400 nascidos vivos em mães com idade de 35 anos, e 1 para 12 nascidos vivos em mães com idade de 49 anos (FERGUSON-SMITH; YATES, 1984; HOOK, 1981). A idade paterna não tem sido mencionada como relevante nestes casos (BARCH; KNUTSEN; SPURBECK, 1997).

Dados de estudos em material obtido de aborto e em famílias com filhos trissômicos sugerem que o fenômeno de não-disjunção está geralmente relacionado à meiose I materna, ocorrendo com maior frequência entre os cromossomos acrocêntricos. Dois mecanismos são descritos como prováveis, para a ocorrência de não-disjunção entre os acrocêntricos: 1) divisão prematura das cromátides irmãs e 2) não-disjunção de cromossomos bivalentes; sendo que a não-disjunção de cromossomos bivalentes exibe relação estreita com o aumento da idade materna (DAILEY et al., 1996; ZARAGOZA et al., 1994). A idade materna apresenta um efeito muito forte nas trissomias dos cromossomos 13, 15, 16, 18 e 21 (WYROBEK et al., 1996). Hassold and Chiu (1985) demonstram que a frequência observada de trissomia entre todas as gestações reconhecidas em mães com idade inferior a 25 anos é de 2% e para mães com idade superior a 45 anos é de 35%.

Em relação ao sexo dos probandos, a amostra em estudo apresentou um discreto predomínio do sexo feminino (55,48%), quando comparada ao sexo masculino (44,52%). Resultado, diferente ao obtido por outro estudo de igual objetivo realizado em hospitais da Rede SARAH, onde foi observada maior frequência do sexo masculino (CARVALHO, 1994).

A presença de consangüinidade foi observada em 7,64% do total de casos analisados e em 5,43% dos casos que apresentaram alguma alteração cromossômica. De fato, este fator exerce pouca influência entre as cromossomopatias, apresentando maior importância entre as doenças genéticas de caráter recessivo, devido à maior frequência de homoziguidade (RIMOIN et al.,

2002). A recorrência familiar, presente em 17,29% do total de casos analisados e em 19,46% dos casos com alteração cromossômica, apresenta maior significado entre as cromossomopatias, em particular entre as translocações balanceadas, devido o risco destas poderem produzir alterações cromossômicas significativas para as gerações futuras (CARVALHO, 1994).

A ocorrência de prematuridade se mostrou presente em 11,53% dos casos onde houve a descrição da idade gestacional do probando (73/633 casos). Entre os probandos com cariótipo alterado, este fator apresentou-se ligeiramente mais elevado 20,33%. Peso ao nascimento foi notificado em 69,16%, apresentando uma média de 2,906 kg entre os casos analisados e uma média de 2,857 kg entre os probandos com alteração cromossômica.

História gestacional pregressa foi notificada em 71,47% dos casos. A média de gestações por mãe foi de 3,12, variando entre a mínima de uma gestação e a máxima de dezoito gestações (média de gestações igual a  $3 \pm 2,27$ ). O relato de aborto espontâneo prévio esteve presente em 14,03% dos casos, entre as mães dos probandos com resultado do cariótipo alterado, variando entre a mínima de um aborto e a máxima de oito abortos (média de abortos igual a  $1,61 \pm 1,31$ ). Estudos demonstram que aproximadamente 15% a 20% das gestações reconhecidas terminam em aborto espontâneo e a incidência de anomalias cromossômicas nestes abortos aproxima-se aos 50%, o que mostra a importância da realização do estudo citogenético em famílias com história de aborto espontâneo prévio (FRENCH, BIEMAN, 1962; NERI; SERRA; TEDESCHI, 1983).

Entre os motivos clínicos apresentados pela família e/ou responsável pelo paciente, os mais frequentes foram: atraso no desenvolvimento neuropsicomotor (37,33%); presença de malformação congênita (32,86%) e paciente com características que remetem a alguma síndrome genética (14,55%).

Analisando-se os motivos clínicos que levaram o médico assistente à indicação de realização do cariótipo, observa-se uma uniformidade nas indicações e uma concentração nos achados clínicos de interesse na presença de malformação congênita, retardo mental e no diagnóstico diferencial entre as cromossomopatias mais comumente observadas (91,79%). Outros trabalhos demonstram que o estudo citogenético está indicado naqueles casos clínicos que cursam com presença de malformação congênita, retardo mental (a associação destes dois itens aumentam a importância da indicação do exame), história de aborto espontâneo, problemas de fertilidade e presença de caso semelhante na família (BARCH; KNUTSEN; SPURBECK, 1997; CARVALHO, 1994; FERGUSON-SMITH; SMITH, 2002; HAMILTON; WYNshaw-BORIS, 2003; RAYMOND, 2004).

Entre as indicações clínicas de diagnóstico de doença cromossômica, a síndrome de Down foi a que mais se destacou, representando um total de 59,89% das indicações; seguido da indicação de síndrome de Turner 17,83%. Isto demonstra que as manifestações clínicas destas síndromes (trissomia do 21 e monossomia do X) estão bem definidas e normalmente são bem toleradas. Xavier et al. (1978), em estudo realizado em uma população brasileira, relata uma ocorrência de 1 por 700 nascidos vivos para a síndrome de Down. Dado que denota a alta prevalência desta síndrome na população em geral. No caso da síndrome de Turner, a frequência na população feminina é também elevada, 1 por 3000 nascidas vivas (GOODWIN; HUETHER, 1987; SYBERT; McCAULEY, 2004).

Nos pacientes submetidos ao estudo citogenético, as alterações cromossômicas significaram 31,84% dos resultados obtidos. Estudos populacionais demonstram que as alterações cromossômicas atingem cerca de 0,6% da população geral e que aproximadamente 7,5% de todas as gestações apresentam algum tipo de alteração cromossômica (BARCH; KNUTSEN; SPURBECK, 1997; CONNOR; FERGUSON-SMITH, 1997; FERRARI et al., 1982). O elevado índice de

cromossomopatias encontrado neste estudo justifica-se principalmente pela seleção prévia dos casos para o estudo citogenético, resultado igualmente apresentado em outros trabalhos, como os achados por Armendares et al. (1976), 33,10%; Youlton et al. (1984), 37,9% e Carvalho (1994), 36,79%. Outros estudos mostram uma ocorrência menor como os de Fryns et al. (1986), 15,03%, Dereymaeker et al. (1988), 13,3% e Fryns et al. (1990), 17,6%. A diferença encontrada nestes estudos deve-se provavelmente ao critério adotado para a indicação do estudo citogenético.

Em relação à caracterização das anomalias cromossômicas encontradas, observou-se que as alterações cromossômicas numéricas representaram 46,15% dos diagnósticos; as alterações estruturais 23,53%, as alterações cromossômicas descritas nos cromossomos sexuais 8,60% e as alterações cromossômicas descritas como variação da normalidade 21,72%. O predomínio das alterações numéricas sobre as demais também é verificado na literatura, fato que coloca as aneuploidias como as formas mais comuns e significativas, em termos clínicos, de distúrbios cromossômicos humanos (ARMENDARES et al., 1976; CARVALHO, 1994; SANTOS et al., 2000; YOULTON; BER, 1984).

Dentre as alterações cromossômicas numéricas nos autossomos, noventa e quatro casos (92,16%) envolveram o cromossomo 21, cinco casos (4,90%) a presença de cromossomo marcador, dois casos (1,96%) o cromossomo 18 e um caso (0,98%) o cromossomo 13.

Nos casos com trissomia do cromossomo 21 (síndrome de Down), observou-se que em 84 casos (89,36%) o diagnóstico citogenético correspondia a trissomia livre do cromossomo 21, sendo o resultado 47,XX observado em 47 casos (46,09%) e o diagnóstico 47,XY em 37 casos (36,27%). Os resultados restantes demonstraram a presença combinada de polimorfismo cromossômico em sete casos (7,45%), a presença de translocação Robertsoniana em dois casos (2,13%) e um caso (1,06%) com presença de mosaicismo. Goodwin et al. (1987) descrevem que em 92,50% dos casos de síndrome de Down, a causa da origem da trissomia do 21 é devido ao

fenômeno de não-disjunção meiótica. Acrescenta ainda que deste percentual, aproximadamente em 75% dos casos a origem do cromossomo extra é materna, sendo 50% relacionada com a idade da mãe. Os outros 25% dos casos de não-disjunção, o cromossomo extra é de origem paterna, não estando neste caso evidenciado associação com a idade do pai. Os casos restantes da síndrome (7,5%) resultam: 4,8% são devidos a translocações herdadas de algum genitor ou casos novos; e 2,7% causados por mosaicismos desenvolvidos durante a fase embrionária.

A análise dos dados revela ainda que houve confirmação diagnóstica dos 94 casos com indicação clínica para a síndrome de Down, resultando em uma acurácia diagnóstica de 100%. Mostrando o quanto estão definidas as características desta síndrome. Carvalho (1994), em seu trabalho revela um índice um pouco menor (91, 55%) no acerto da indicação clínica para a mesma síndrome, e sugere que os casos não diagnosticados deveram-se à indicação precoce da síndrome e à ocorrência de mosaicismos.

Casos de trissomia livre são comuns na espécie humana e resultam de eventos de não-disjunção, tanto na fase mitótica como na fase meiótica da divisão celular, estando presente em aproximadamente 0,3-0,5% dos nascidos vivos. Estes achados são também comuns em casos de abortos espontâneos; sendo observado, por exemplo, uma frequência de 1 para 13 abortos, para a trissomia do cromossomo 16 e de 1 para 43 abortos, nos casos de trissomia do cromossomo 21 (HAMILTON, WYNshaw-BORIS, 2003; LAMB et al., 2005; ROBINSON, MCFADDEN, STEPHENSON, 2001).

A trissomia do cromossomo 21 é a causa genética mais frequente de retardo mental, ocorrendo em aproximadamente 1 para 700 nascidos vivos. O desequilíbrio na dose gênica resultante da presença da trissomia afeta vários órgãos e sistemas corpóreos, levando o indivíduo afetado a apresentar, entre outros sinais e sintomas: malformação craniofacial (braquicefalia, microcefalia, rimas palpebrais oblíquas, etc), retardo mental, deficiência do sistema imunológico,

hipotonia, leucemia, deficiência cardíaca, etc. Alguns fenótipos da síndrome de Down, incluindo o retardo mental, ocorrem em todos os indivíduos afetados; entretanto, outras características apresentam penetrância variada (LAMB et al., 2005; ROBINSON, MCFADDEN, STEPHENSON, 2001; SMITH, 1989; TOLMIE, 2002). Neste estudo, os achados mais frequentes foram: malformação craniofacial 100%, hipotonia 100%, atraso no desenvolvimento neuropsicomotor (100%), retardo mental (100%) e cardiopatia (19%).

As trissomias dos cromossomos 13 (síndrome de Patau) e 18 (síndrome de Edwards) são menos frequentes que a trissomia do 21 e de forma geral representam um risco maior à saúde, por apresentarem malformações mais graves que a síndrome de Down. A prevalência de morte prematura associada com as trissomias dos cromossomos 13 e 18 é bastante alta e a média de sobrevivência é de apenas algumas semanas; sendo que não mais que 5% dos indivíduos afetados sobrevivem por mais que um ano (EMBLETON et al., 1996; GOLDSTEIN; NIELSEN, 1988; WYLLIE et al., 1994).

A síndrome de Patau é uma doença genética que se caracteriza por inúmeras malformações fetais envolvendo de forma grave os seguintes órgãos e sistemas: sistema nervoso central, coração, órgãos genitais, aparelho auditivo, crânio e face, entre outros. Com frequência os fetos portadores desta síndrome não chegam a termo, e os que vêm a nascer geralmente têm uma sobrevida extremamente curta (SMITH, 1989).

A trissomia do 13 configura como a menos comum entre as trissomias autossômicas encontradas em nascidos vivos e como causa comum de aborto espontâneo, sendo encontrada em aproximadamente 8% dos casos de aborto onde há envolvimento de cromossomo autossomo (JACOBS et al., 1987). A incidência da síndrome em nascidos vivos é bastante variável, desde 1 para 5000 até 1 para 25000, a depender da taxa de mortalidade intrauterina e da forma de apresentação da síndrome (BARCH; KNUTSEN; SPURBECK, 1997; SMITH, 1989; TOLMIE, 2002). A

idade materna avançada (>35 anos) também se apresenta como principal fator implicado na etiologia desta síndrome (GOLDSTEIN; NIELSEN, 1988; SMITH, 1989; TOLMIE, 2002)

Em geral apenas 2,5% dos indivíduos afetados pela síndrome nascem vivos e sua sobrevivência geralmente não ultrapassa o primeiro ano, sendo descrita uma taxa de óbito de 45% no primeiro mês, 70% até o sexto mês e 86% até o fim do primeiro ano, e apenas 5% sobrevivem mais que três anos (BARCH; KNUTSEN; SPURBECK, 1997; GOLDSTEIN; NIELSEN, 1988; SMITH, 1989; TOLMIE, 2002). Goldstein e Nielsen (1988) descrevem caso de um indivíduo com a síndrome de Patau que apresentava idade superior a 30 anos.

As malformações mais frequentes e geralmente observadas logo ao nascimento são: malformação craniofaciais (microcefalia, lábio leporino, fenda palatina, anormalidades oculares, etc), malformação em mãos e pés (polidactilia, flexão dos dedos (com ou sem superposição), prega simiesca), malformação cardíaca, malformação de órgãos genitais, entre outras (SMITH, 1989; TOLMIE, 2002).

A trissomia do 13 apresenta-se em sua maioria na forma de trissomia livre, cerca de 80% dos casos e nos outros 20% a forma de apresentação é de translocação Robertsoniana, sendo a alteração mais freqüente a que envolve o cromossomo 14 (rob(13q14q)) (GOLDSTEIN; NIELSEN, 1988; SMITH, 1989; TOLMIE, 2002). Outros casos podem demonstrar mosaïcismo (SMITH, 1989; TOLMIE, 2002).

O estudo identificou apenas um caso de trissomia do cromossomo 13 e este se apresentou na forma de mosaïcismo (47,XX,+13/46,XX). Os sintomas apresentados pelo paciente foram: face achatada, epicanto, narina única (com agenesia de septo nasal), fenda labial mediana, microcefalia e microssomia. Alguns autores indicam cautela quando se trata da realização de cirurgia corretiva em pacientes com a síndrome de Patau, os mesmos enfatizam principalmente a

baixa sobrevida dos indivíduos acometidos e os riscos inerentes ao procedimento cirúrgico (SMITH, 1989).

A síndrome de Edwards, por sua vez, é a segunda alteração autossômica mais comum entre nascidos vivos, sendo menos freqüente apenas que a síndrome de Down. A maioria dos casos resulta de trissomia livre do cromossomo 18, em outros casos a síndrome pode resultar de translocações envolvendo o cromossomo 18 ou de mosaïcismo. Em 90-97% dos casos o cromossomo extra é de origem materna, sendo demonstrado estreita relação entre a idade da mãe e a ocorrência da síndrome (BUGGE et al., 1998; NICOLAIDIS; PETERSEN, 1998; TOLMIE, 2002).

Estudos demonstram que a síndrome de Edwards apresenta uma freqüência de aproximadamente 1 para 6000 nascimentos, atingindo em maior proporção o sexo feminino (4/1) (CAROTHERS et al., 1999; YOUNG; COOK; MEHTA, 1986). Carothers et al. (1999), sugerem que o baixo número de indivíduos do sexo masculino com a síndrome de Edwards deve-se provavelmente à baixa sobrevivência intrauterina dos mesmos. Os sintomas mais freqüentes da síndrome são: baixo peso ao nascimento, fissuras palpebrais estreitas, micrognatia, punhos serrados com tendência à superposição do dedo médio pelo indicador e do dedo anelar pelo mínimo, e retardo mental (SMITH, 1989; TOLMIE, 2002). Neste estudo foram observados dois casos com a trissomia do cromossomo 18, sendo que em um caso se observou a presença de isocromossomo (47,XX,+i(18)(pter->p10::p10->pter)) e em outro a presença de mosaïcismo (47,XY,+18/46,XY). Os sintomas encontrados foram: a) frouxidão ligamentar, implantação baixa das orelhas, implantação baixa dos cabelos, epicanto, ponte nasal larga, narina antivertida, fenda palpebral oblíqua, prega epicântica bilateral, boca grande e palato arqueado e hipertelorismo mamário (cariótipo = 47,XX,+i(18)(pter->p10::p10->pter) ; b) pés eqüinovaro, adução de polegar e quirodáctilos da mão direita flexionados, assimetria de crânio, implantação baixa da orelha e

rodada para trás, palato ogival, padrão artrogripótico de mãos e pés, desvio ulnar de ambas as mãos e criptorquia bilateral (cariótipo = 47,XY,+18/46,XY).

Estudos realizados com objetivo de avaliar o risco de recorrência de fetos com aberrações cromossômicas em mulheres que tiveram filhos com anormalidades cromossômicas numéricas, mostraram que a trissomia do 21 tem risco de recorrência proporcional à idade materna, enquanto que as trissomias do 18 e do 13 têm um risco de recorrência muito baixo, próximo a 1% (BATY; JORDE; CAREY, 1994; UEHARA et al., 1999).

Em relação às alterações cromossômicas estruturais, foram descritas alterações com envolvimento de quase todos os cromossomos, não sendo observado apenas o envolvimento dos cromossomos 12, 19 e Y. As alterações mais encontradas foram as deleções, que representaram quase metade dos casos (46%). Nestas, foi possível a conclusão diagnóstica de três casos de síndrome de Cri-du-Chat (del(5p)); dois casos de síndrome de Angelman (del(15q)) e um caso de síndrome de Prader-Willi (del(15q)).

As deleções representam perda de material genético e a consequência clínica da deleção depende do tamanho do segmento deletado e do número e funções dos genes que este contém. As deleções podem ser herdadas de um dos genitores ou resultar de deleção *de novo*. Outra possibilidade é a origem por malsegregação de translocação balanceada entre um dos genitores (SPINNER; EMANUEL, 2002). Em muitos casos a identificação do segmento deletado só é possível com a utilização de técnicas de citogenética molecular (BARCH; KNUTSEN; SPURBECK, 1997).

Nos seres humanos, as deleções autossômicas citogeneticamente visíveis têm uma incidência de aproximadamente 1 em 7000 nascimentos; tendo sido utilizadas, exaustivamente, nos últimos 25 anos para mapear defeitos em genes contíguos (BREWER et al., 1998; JACOBS et al. 1992). Embora seja reconhecido que as deleções cromossômicas produzam efeito fenotípico não específico, a associação destas com algumas síndromes genéticas deleção-específica (exemplo:

5p (Cri-du-Chat), 15q (Angelman e Prader-Willi)), direcionam para uma ação direta de alguns genes presentes na região deletada e seu efeito em processos específicos do desenvolvimento (BREWER et al., 1998).

A síndrome de Cri-du-Chat, ou síndrome do miado de gato, resulta de qualquer deleção que envolva o braço curto do cromossomo 5 e promova monossomia para a região 5p15 (PATERNAK, 2002). Os pacientes afetados por esta síndrome apresentam como característica choro que se assemelha ao miado do gato, o qual decorre de um defeito na laringe dos afetados. A incidência varia de 1 para 15000 a 1 para 50000 (SPINNER; EMANUEL, 2002). Em geral os pacientes apresentam: atraso no desenvolvimento, retardo mental, assimetria craniofacial, microcefalia, hipotonia, hipertelorismo ocular, micrognatia entre outras alterações (SMITH, 1989; SPINNER; EMANUEL, 2002).

Foram diagnosticadas, neste estudo, três meninas com a síndrome de Cri-du-Chat. Duas delas com o cariótipo 46,XX,del(5)(qter->p14:), e uma com cariótipo 46,XX,del(5)(qter-->p13:). Os sintomas encontrados foram: choro semelhante ao miado de gato, hipertelorismo, base nasal achatada, fenda palpebral oblíqua para baixo, assimetria de crânio, fontanelas amplas, assimetria de crânio, orelha pequena rodada para trás e de implantação baixa, micrognatia, retardo mental e atraso no desenvolvimento neuropsicomotor.

As síndromes de Angelman e Prader-Willi, embora apresentem o mesmo defeito (del(15q)), representam síndromes completamente distintas. A síndrome de Angelman está sempre relacionada à perda de material materno e a síndrome de Prader-Willi relacionada à perda de material paterno. Dois mecanismos etiológicos principais são descritos a seguir: a) deleção no braço longo do cromossomo 15 (15q11q13) de origem materna (síndrome de Angelman) ou paterna (síndrome de Prader-Willi), corresponde entre 70-75% dos casos; b) quando o indivíduo recebe os dois cromossomos 15 do Pai (síndrome de Angelman) ou da mãe (síndrome de Prader-

Willi), o qual é denominado como dissomia uniparental, corresponde a aproximadamente 30-25% dos casos (MAGENIS et al., 1990; NICHOLLS, 1993; SPINNER; EMANUEL, 2002).

As incidências das duas síndromes são semelhantes e se situam próximo a 1 para 10000 e 1 para 20000 nascimentos (SPINNER; EMANUEL, 2002). Os sintomas mais frequentes na síndrome de Angelman são: atraso no desenvolvimento, hipotonia, fâcies não usual consistindo de mandíbula grande com boca aberta e protusão da língua, grave comprometimento da fala, microcefalia, retardo mental severo, andar atáxico, pode haver comprometimento ocular (caracterizado por estrabismo, presença de manchas de Brushfields na periferia da íris, ou atrofia da íris), tendência a apresentar a pele, os olhos e cabelos hipopigmentados nos indivíduos caucasóides, e é comum a presença de episódios de sorrisos e gargalhadas imotivadas, o que deu origem a denominação de “síndrome do boneco feliz” (Happy Puppet) (SMITH, 1989; SPINNER; EMANUEL, 2002). Na síndrome de Prader-Willi os sintomas mais comuns são: obesidade, hipogonadismo, mãos e pés pequenos, baixa estatura, polifagia, retardo mental, e hipotonia (a hipotonia não é progressiva e tende a melhorar entre 8 e 11 meses de idade) (SMITH, 1989; SPINNER; EMANUEL, 2002). O diagnóstico clínico precoce é raro e difícil, uma vez que o mesmo vai se evidenciando com o passar do tempo, tornando o diagnóstico mais fácil com a evolução da síndrome.

Neste estudo, foram diagnosticados duas meninas e um menino como sendo portadores da síndrome de Angelman, todos confirmados pela técnica de FISH. Os sintomas encontrados foram: a) hipotonia, estrabismo divergente bilateral, prognatismo, hipoplasia do terço médio da face, braquicefalia, boca grande com língua protrusa e dentes espaçados, andar com padrão atáxico, atraso no desenvolvimento neuropsicomotor e retardo mental (cariótipo = 46,XX,del(15)(q11q13)); b) hipotonia, microcefalia, crânio achatado posteriormente, epicanto, implantação baixa do cabelo, frouxidão ligamentar, deformidades ortopédicas estruturadas, atraso no desenvolvimento neuropsicomotor e retardo mental (cariótipo = 46,XX,?del(15)(pter-

>q11.2::q13->qter)); e c) pele muito clara, cabelos muito loiros, olhos claros, fundo de olho pobre em pigmentos e albinótico, miopia, lábio superior fino com boca grande, sorriso imotivado todo o tempo, atraso no desenvolvimento neuropsicomotor e retardo mental (cariótipo = 46,XY,del(15)(q11q13),inv(9)(p11q12).

Foi diagnosticado ainda, um menino com a síndrome de Prader-Willi, também confirmado pela técnica de FISH. Os sintomas apresentados pelo paciente foram: microcefalia, deformidades em pés e mãos, orelhas com implantação baixa, fâcies achatada no seu perfil com nariz pequeno, palato ogival, cifose, atraso no desenvolvimento neuropsicomotor e retardo mental (cariótipo = 46,XY,?del(15)(q11q13).

Em relação às alterações cromossômicas que envolvem os cromossomos sexuais, sabe-se que em frequência de ocorrência elas são só ligeiramente menos comuns que as anormalidades autossômicas. Porém, elas normalmente são menos severas nos seus efeitos. A alta frequência de pessoas com aberrações de cromossomos sexuais é, em parte, devido ao fato de que dificilmente suas alterações são fatais.

Dos 28 casos indicados como suspeitos de serem portadores da síndrome de Turner, doze tiveram o diagnóstico da síndrome confirmado pelo estudo citogenético (42,86%). Esta informação está próxima da obtida em trabalho realizado em pacientes atendidos por Hospitais da Rede SARAHA com indicação para a síndrome de Turner, onde se observou uma positividade de 54,50% nos casos estudados (OLIVEIRA, 2000).

As alterações citogenéticas encontradas foram: seis probandos com cariótipo 45,X (50,00%); quatro probandos com masicismo 45,X/46,X,i(Xq) (33,33%); um probando com mosaicismo 45,X[5]/46,XX[295] (8,33%); e um probando com mosaicismo 45,X[109]/46,X,+r(?)[61] (8,33%).

A síndrome de Turner atinge aproximadamente 1 para 3000 meninas nascidas vivas (SYBERT et al., 2004). Estudos populacionais relacionados à síndrome de Turner demonstram que o cariótipo 45,X é encontrado em aproximadamente metade dos casos estudados (ALLANSON et al., 2002; OLIVEIRA, 2000; SYBERT et al., 2004).

A etiologia da monossomia completa de um cromossomo do par sexual se deve, principalmente, ao fenômeno de não-disjunção ocorrido na meiose I ou na meiose II, mas também pode ocorrer devido a atraso anafásico. Outras possíveis causas da ocorrência da síndrome de Turner incluem: rearranjos cromossômicos estruturais, tais como a formação de isocromossomos ou de cromossomo em anel.

Entre 25% a 30% das meninas afetadas, a suspeita da síndrome ocorre logo ao nascimento devido à observação de linfedema de mãos e pés ou pela aparência do pescoço (curto e alado). Outros 30% dos casos a suspeita ocorre na adolescência devido à investigação de baixa estatura. Nos casos restantes, a suspeita da síndrome de Turner dar-se devido à investigação do atraso no desenvolvimento das características sexuais secundárias (ciclo menstrual, desenvolvimento das mamas, surgimento de pêlos pubianos, etc.), ou quando na fase adulta, devido à investigação de infertilidade (SYBERT, 2004).

Os sintomas mais freqüentes apresentados pelas pacientes diagnosticadas com a síndrome de Turner, neste estudo, foram: baixa estatura, pescoço alado, ausência de características sexuais secundárias e hipogonadismo associado, amenorréia primária, dor em membros, frouxidão ligamentar e retardo mental leve.

O estudo citogenético dos genitores dos probandos demonstrou que entre as mães 73,08% apresentaram resultado normal, 7,7% mostraram resultado alterado e 19,25% com variações da normalidade no resultado citogenético. Os resultados dos pais mostraram normalidade em 87,50% e 12,51% com resultado alterado. Entre os pais dos probandos não foram observados

resultados com variações da normalidade isoladas, em apenas um dos resultados com alteração citogenética observou-se também uma variação da normalidade associada. Mostrou ainda, relação com a alteração cromossômica apresentada pelo probando, em três casos: a) associação com o cariótipo materno {46,XX,der(20)(20qter->20p13::6p22->6pter)mat}; b) associação com o cariótipo paterno {46,XX,der(1)ins(1;8)(q44;p22p12)pat e 46,XX,rec(5)del(5)(p15.1)dup(5)(qterq34)inv(5)(p15.1q34)pat}.

Os resultados apresentados neste trabalho, assim como os encontrados na literatura, demonstram que as alterações cromossômicas, embora pouco freqüentes na população geral, apresentam alta incidência em algumas instituições de saúde. Justificando a necessidade da implantação de serviços que realizem exames citogenéticos, sobretudo em hospitais pediátricos.

Demonstra ainda, a importância da investigação citogenética de pacientes que apresentam fatores associados às cromossomopatias (associação de malformação congênita única ou múltipla, retardo mental, retardo no desenvolvimento, caso semelhante na família), assim como a investigação dos seus genitores, ressaltando a importância do conhecimento clínico adequado dos motivos que freqüentemente estão associados às cromossomopatias (malformação congênita, retardo mental, atraso no desenvolvimento, aborto espontâneo, idade materna superior a 35 anos, associação entre retardo mental e malformação congênita).

## 8 CONCLUSÃO

Com os dados obtidos no estudo, podemos apresentar as seguintes conclusões:

- 1) A indicação clínica para o estudo citogenético ocorreu com maior frequência entre os pacientes menores de dez anos de idade.
- 2) As aneuploidias foram as alterações cromossômicas mais encontradas, sendo possível demonstrar associação entre as mesmas e idade materna avançada e ocorrência de aborto prévio.
- 3) A indicação clínica da síndrome de Down, assim como seu diagnóstico citogenético apresentou um alto índice de acurácia (100%).
- 4) Os critérios adotados para a indicação do estudo citogenético em pacientes atendidos pelo hospital SARAH São Luís, demonstram ser de acordo com os adotados em outros trabalhos, descritos na literatura.
- 5) O diagnóstico preciso destas condições é de fundamental importância para a orientação clínica adequada dos afetados e transposição das informações aos familiares a respeito do risco de recorrência nos familiares.

## REFERÊNCIAS

- ALBANO, L.M.J. The importance of genetics in the public health care system: report on the closing down of a genetics division in São Paulo (SP), Brazil. **Rev Panam Salud Publica**, v.7, n.1, p.29-34, 2000.
- ALLANSON, J.E.; GRAHAM, G.E. Sex chromosome abnormalities. In: RIMOIN, D.L. et al. **Principles and practice of medical genetics**. 4 ed. United Kingdom: Churchill Livingstone, 2002. p. 488-500.
- ARMENDARES, S. et al. Ten years experience in a cytogenetics laboratory of a large medical center **Rev. Invest. Clin.**, v. 2, n. 28, p. 113-122, 1976.
- ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. **NBR 14724**: informação e documentação: trabalhos acadêmicos. Rio de Janeiro, 2002.
- BARCH, M.J.; KNUTSEN, T.; SPURBECK, J.L. **The AGT cytogenetics laboratory manual**. 3 ed. Philadelphia: Lippincott-Raven, 1997.
- BATY, B.J.; JORDE, B.L.; CAREY, J.C. Natural history of trisomy 18 and trisomy 13: I. Growth, physical assessment, medical histories, survival, and recurrence risk. **Am. J. Med. Genet.**, v. 49, n. 2, p. 175-188, 1994.
- BAYANI, J.; SQUIRE, J.A. Advances in the detection of chromosomal aberrations using spectral karyotyping. **Clin. Genet.**, v. 59, n. 2, p. 65-73, 2001.
- BRENT, R.L. Environmental causes of human congenital malformations: The pediatrician's role in dealing with these complex clinical problems caused by a multiplicity of environmental and genetic factors. **Pediatrics**, v. 113, n. 4, p. 957-968, 2004.
- BREWER, C. et al. A chromosomal deletion map of human malformations. **Am. J. Hum. Genet.**, v. 63, n. 4, p. 1153-1159, 1998.
- BUGGE, M. et al. Non-disjunction of chromosome 18. **Hum. Mol. Genet.**, v. 7, n. 4, p. 661-669, 1998.
- CAMPOS DA PAZ Jr, A. **Tratando doentes e não doença**. Brasília, DF: Sarahletras, 2002.
- CAPONE, G.T. Down syndrome: advances in molecular biology and the neurosciences. **J. Dev. Behav. Pediatr.**, v. 22, n. 1, p. 40-59, 2001.
- CAPUTE, A.J.; ACCARDO, P.J. The infant neurodevelopmental assessment: a clinical interpretive manual for CAT-CLAMS in the first two years of life, part 1. **Curr. Probl. Pediatr.** v. 26, n. 7, p. 238-57, 1996.

CAROTHERS, A.D. et al. Trends in prenatal diagnosis of Down syndrome and other autosomal trisomies in Scotland 1990 to 1994, with associated cytogenetic and epidemiological findings. **Genet. Epidemiol.**, v. 16, n. 2, p. 179-190, 1999.

CARVALHO, T.B. **Estudo de cromossomopatias em um hospital de doenças do aparelho locomotor**. 1994. 174 f. Tese (Doutorado em Ciências da Saúde) - Programa de Pós-Graduação em Imunologia e Genética Aplicada, Universidade de Brasília, Brasília, DF, 1994.

CHANDLEY A.C. et al. Cytogenetics and infertility in man. I: karyotype and seminal analysis: results of a five-year survey of men attending a subfertility clinic. **Ann. Hum. Genet.** v. 39, n. 2, p. 231-254, 1975.

CLAYTON-SMITH, J.; DONNAI, D. Human malformations. In: RIMOIN, D.L. et al. **Principles and practice of medical genetics**. 4 ed. United Kingdom: Churchill Livingstone, 2002. p. 488-500.

CONNOR, J.M.; FERGUSON-SMITH, M.A. **Essential medical genetics**. 5 ed. London: Blackwell Scientific, 1997.

CROEN, L.A.; GREYER, J.K.; SELVIN, S. The epidemiology of mental retardation of unknown cause. v. 107, n. 6, p. 86-91, 2001.

DAILEY, T. et al. Association between nondisjunction and maternal age in meiosis-II human oocytes. **Am. J. Hum. Genet.**, v. 59, n. 1, p. 176-84, 1996.

DEREYMAEKER, A.M. et al. A genetic-diagnostic survey in an institutionalized population of 158 mentally retarded patients. The Viaene experience. **Clin. Genet.** v. 34, n. 2, p. 126-134. 1988.

EMBLETON, N.D. et al. Natural history of trisomy 18. **Arch. Dis. Child. Fetal Neonatal Ed.**, v. 75, n. 1, p. F38-F41, 1996.

FERRARI, I. et al. Cytogenetic study of 4296 consecutive newborns at the University Hospital of Ribeirão Preto – São Paulo – Brazil. **Rev. Bras. Genet.**, v. 5, p. 631-637, 1982.

FERGUSON-SMITH, M.A.; YATES, J.R.W. Maternal age specific rates for chromosome aberrations and factors influencing them: report of a collaborative european study on 52 965 amniocenteses. **Prenat. Diagn.**, n. 4, p. 5-44, 1984.

FERGUSON-SMITH, M.A.; SMITH, K. Cytogenetic analysis. In: RIMOIN, D.L. et al. **Principles and practice of medical genetics**. 4 ed. United Kingdom: Churchill Livingstone, 2002. p. 690-722.

FRENCH, F.E.; BIEMAN, J.M. Probabilities of fetal mortality. **Public Health Rep.**, n. 77, p. 835-847, 1962.

FRIEDMAN, J.M.; HANSON, J.W. Clinical teratology. In: RIMOIN, D.L. et al. **Principles and practice of medical genetics**. 4 ed. United Kingdom: Churchill Livingstone, 2002. p. 1011-1045.

- FRYNS, J.P. et al. A genetic-diagnostic survey in an institutionalized population of 173 severely mentally retarded patients. **Clin. Genet.** v.30, n. 4, p. 315-323, 1986.
- FRYNS, J.P. et al. A genetic survey in an institutionalized population of 262 moderately mentally retarded patients: the Borgerstein experience. **J. Ment. Defic. Res.** v. 34, n. 1, p. 29-40, 1990.
- GARDNER, R.J.M.; SUTHERLAND, G.R. **Chromosome abnormalities and genetic counseling**. 2 ed. New York: Oxford University Press, 1996.
- GODDJIN, M.; LESCHOT, N.J. Genetic aspects of miscarriage. *Baillieres Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol.*, v.14, n.5, p. 855-865, 2000.
- GOLDSTEIN, H.; NIELSEN, K.G. Rates and survival of individuals with trisomy 13 and 18. Data from a 10-year period in Denmark. **Clin. Genet.**, v. 34, n. 6, p. 366-372, 1988.
- GOODWIN, B.A.; HUETHER, C.A. Revised estimates and projections of Down syndrome births in the United States, and the effects of prenatal diagnosis utilization, 1970-2002. **Prenat. Diagn.**, n. 7, p. 261-271, 1987.
- HAMILTON, B.A.; WYNshaw-BORIS, A. Scientific basis of perinatal biology. In: CREASY, R.K.; RESNIK, R.; IAMS, J.D. **Maternal-fetal medicine: principles and practice**. 5 ed. Saunders, 2003. p. 3-35.
- HASSOLD, T. et al. A cytogenetic study of 1000 spontaneous abortions. **Ann. Hum. Genet.**, v.44, n.2, p.151-164, 1980.
- HASSOLD, T.; CHIU, D. Maternal age-specific rates of numerical chromosome abnormalities with special reference to trisomy. **Hum. Genet.**, v.70, n.1, p.11-17, 1985.
- HATASAKA, H.H.; VARNER, M.W. Recurrent pregnancy loss. **Curr. Opin. Obstet. Gynecol.**, v.6, n.6, p.503-509, 1994.
- HOLMES, L.B. Malformação congênita. In: WYNGAARDEN, J.B. et al. **Tratado de medicina interna**. 19 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1993, p.146-151.
- HOOK, E.B. Rates of chromosome abnormalities at different maternal ages. **Obstet. Gynecol.**, v.3, n.58, p.282-285, 1981.
- HOSMER, D.W.; LEMESHOW, S. **Applied logistic regression**. New York: Wiley-Interscience;1989.
- JACOBS, P.A. et al. Trisomy 13 ascertained in a survey of spontaneous abortions. **J. Med. Genet.**, v. 24, n. 12, p. 721-724, 1987.
- JACOBS, P.A. et al. Estimates of the frequency of chromosome abnormalities detectable in unselected newborns using moderate levels of banding. **J. Med. Genet.**, v. 29, n.2, p.103-108, 1992.

- KING, B.H. et al. Mental retardation: a review of the past 10 years. Part I. **J. Am. Acad. Child. Adolesc. Psychiatry.** v. 36, n. 12, p.1656-63, 1997.
- KNIGHT, S.J.L.; FLINT, J. Perfect endings: a review of subtelomeric probes and their use in clinical diagnosis. **J. Med. Genet.**, v. 37, n. 6, p. 401-409, 2000.
- KONDO, I. et al. A cytogenetic survey of 449 patients in a japanese institution for mentally retarded. **Clin. Genet.**, v.17, n.3, p.177-182, 1980.
- LAMB, N.E. et al. Association between maternal age and meiotic recombination for trisomy 21. **Am. J. Hum. Genet.**, v. 76, n. 1, p. 91-99, 2005.
- LANSKY, S. et al. Mortalidade perinatal e evitabilidade: revisão da literatura. **Rev. Saúde Pública**, v.36, n.6, p.759-772, 2002.
- MAGENIS, R.E. et al. Comparision of 15q deletions in Prader-Willi and Angelman Syndromes:specific regions, extent of deletions, parental origin and clinical consequences. **Am. J.Med.Genet.**, v. 35, n. 3, p. 333-349, 1990.
- MITELMAN, F. **ISCN 1995: an international system for human cytogenetic nomenclature.** Tenesse: Karger, 1995.
- MOOREHEAD, P.S. et al. Chromosome preparations of leukocytes cultured from human peripheral blood. **Exp. Cell Res.**, v. 20, p. 613-616, 1960.
- NERI, G.; SERRA, A.; TEDESCHI, B. Reproductive risks for translocation carriers: cytogenetic study and analysis of pregnancy outcome in 58 families. **Am. J. Med. Genet.**, v.16, n. 4, p. 535-561, 1983.
- NICHOLLS, R.D. Genomic imprinting and uniparental disomy in Angelman and Prader-Willi syndromes: a review. **Am. J. Med. Genet.**, v. 46, n. 1, p. 16-25,1993.
- NICOLAIDIS, P.; PETERSEN, M.B. Origin and mechanisms of non-disjunction in human autosomal trisomies. **Hum. Reprod.**, v. 13, n. 2, p. 313-319,1998.
- NORA, J.J; FRASER, F.C. **Genética médica.** 3 ed. Rio de Janeiro: Guanbara Koogan, 1991.
- OLIVEIRA, M.F. **Síndrome de Turner:** estudo citogenético convencionanal e molecular de uma série de casos em hospital de doenças do aparelho locomotor. 2000. 147 f. Dissertação (Mestre em Ciências da Reabilitação) - Centro SARAH de Formação e Pesquisa da Rede SARAH de Hospitais do Aparelho Locomotor, Brasília, DF, 2000.
- PASTERNAK, J.J. **Genética molecular humana:** mecanismos das doenças hereditárias. São Paulo: Manole, 2002.

- PINKEL, D.; STRAUME, T.; GRAY, J.W. Cytogenetic analysis using quantitative, high-sensitivity fluorescence hybridization. **Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.** v. 83, n. 9, p. 2934-2938, 1986.
- RAYMOND, G.V. Abnormal mental development. In: RIMOIN, D.L. et al. **Principles and practice of medical genetics**. 4 ed. United Kingdom: Churchill Livingstone, 2002. p. 1046-1065.
- RAYMOND, L. Genetics of learning disability. **Adv. Clinic. Neuro. Rehab.** v. 4, n. 3, p.10-13, 2004.
- RIMOIN, D.L. et al. **Principles and practice of medical genetics**. 4 ed. United Kingdom: Churchill Livingstone, 2002.
- ROBINSON, W.P.; McFADDEN, D.E.; STEPHENSON, M.D. The origin of abnormalities in recurrent aneuploidy/polyploidy. **Am. J. Hum. Genet.**, v. 69, n. 6, p.1245-1254, 2001.
- SALMAN, M.; JHANWAR, S.C.; OSTRER, H. Will The new cytogenetics replace the old cytogenetics? **Clin. Genet.**, v. 66, n. 4, p. 265–275, 2004.
- SANTOS, C.B. et al. Chromosomal investigations in patients with mental retardation and/or congenital malformations. **Genet. Mol. Biol.**,v.23, n.4, p.703-707, 2000.
- SANTOS, M. et al. Genética clínica no país: investigação de casuística de 3.719 famílias. **Rev. Bras. Med.**, v.61, n. 11, p. 707-10, 2004.
- SCROGGINS, K.M.; SMUCKER, W.D.; KRISHEN, A.E. Spontaneous pregnancy loss: evaluation, management, and followup counseling. **Prim. Care**, v.27, n.1, p.153-167, 2000.
- SMITH, D.W. **Síndromes de malformações congênitas**. 3 ed. São Paulo: Manole, 1989.
- SPINNER, N.B.; EMANUEL, B.S. Deletions and other structural abnormalities of the autosomes. In: RIMOIN, D.L. et al. **Principles and practice of medical genetics**. 4 ed. United Kingdom: Churchill Livingstone, 2002. p. 1202-1236.
- SIMÕES, C. C. da S. **Perfis de saúde e de mortalidade no Brasil**: uma análise de seus condicionantes em grupos populacionais específicos. Brasília: Organização Pan-Americana da Saúde, 2002.
- SYBERT, V.P.; McCAULEY, E. Turner's syndrome. **N. Engl. J. Med.**, v. 351, n. 12, p. 1227-1238, 2004.
- THOMPSON, M.W; McINNES, R.R; WILLARD, H.F. **Genética médica**. 5 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1993.
- THARAPEL, A. Human chromosome nomenclature: an overview and definition of terms. In: GERSEN, S.; KEAGLE, M. **The principles of clinical cytogenetics**. New Jersey: Human Press, 1999.

TOLMIE, J.L. Down syndrome and other autosomal trisomies. In: RIMOIN, D.L. et al. **Principles and practice of medical genetics**. 4 ed. United Kingdom: Churchill Livingstone, 2002. p. 1046-1065.

TRASK, B.J. Human cytogenetics: 46 chromosomes, 46 years and counting. **Nat. Rev. Genet.**, v.3, n.10, p.769-778, 2002.

UEHARA, S. et al. Risk of recurrence of fetal chromosomal aberrations: analysis of trisomy 21, trisomy 18, trisomy 13, and 45,X in 1,076 Japanese mothers. **J. Obstet. Gynaecol.Res.**, v. 25, n. 6, p. 373-379, 1999.

WILCOX, A.J. et al. Incidence of early loss of pregnancy. **N. Engl. J. Med.**, v.319, n.4, p.189-194, 1988.

WYLLIE, J.P. et al. Natural history of trisomy 13. **Arch. Dis. Child.**, v. 71, n. 4, p. 343-345, 1994.

WYROBEK, A.J. et al. Mechanisms and targets involved in maternal and paternal age effects on numerical aneuploidy. **Environ. Mol. Mutagen.**, v. 28, n.3, p. 254-264, 1996.

XAVIER, A.R.; CAVALHEIRO, C.D.G.; FERRARI, I. Incidence and prevalence of Down's syndrome in the city of Ribeirão Preto – SP, Brazil, 1972. **Rev. Bras. Pesq. Méd. Biol.**, v. 11, p. 39-42, 1978.

YONG, P.J. et al. Clinical aspects, prenatal diagnosis, and pathogenesis of trisomy 16 mosaicism. **J. Med. Genet.**, v. 40, n. 3, p. 175-182, 2003.

YOULTON, R.; BER, C. Rendimiento y eficacia de un laboratorio de citogenética. **Rev. Med. Chile**, v.112, p. 1030-1032, 1984.

YOUNG, I.D.; COOK, J.P.; MEHTA, L. Changing demography of trisomy 18. **Arch. Dis. Child.**, v. 61, n. 10, p. 1035-1036, 1986.

ZARAGOZA, M.V. et al. Nondisjunction of human acrocentric chromosomes: studies of 432 trisomic fetuses and liveborns. **Hum. Genet.**, v. 94, n. 4, p. 411-417, 1994.

## ANEXO A – Lista de símbolos e abreviaturas, segundo ISCN 1995.

add	Presença de material adicional de origem desconhecida
->	de - a
cen	Centrômero
:	Indica quebra cromossômica
::	Indica quebra e reunião
,	Separa números de cromossomos, cromossomos sexuais, e anormalidades cromossômicas
.	Indica sub-banda
del	Deleção
/	Separação de linhagens celulares
der	Derivativo
dic	Dicêntrico
dup	Duplicação
h	Heterocromatina constitutiva
i	Isocromossomo
idic	Cromossomo isodicêntrico
inv	Inversão
+	Ganho
mar	Cromossomo marcador
-	Perda
p	Braço curto de cromossomo
psu	Pseudo-
q	Braço longo de cromossomo
r	Cromossomo em anel