



UNIVERSIDADE DO ESTADO DO AMAZONAS
ESCOLA SUPERIOR DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOTECNOLOGIA
E RECURSOS NATURAIS DA AMAZÔNIA
MESTRADO EM BIOTECNOLOGIA E RECURSOS NATURAIS

JEANE CRISTINA RIBEIRO LIMA

**DIAGNÓSTICO CITOGENÉTICO E ANÁLISE DO PERFIL CLÍNICO EM
INDIVÍDUOS COM DEFICIÊNCIA INTELECTUAL (DI), NÃO SÍNDROME DE
DOWN**

Manaus
2016

JEANE CRISTINA RIBEIRO LIMA

DIAGNÓSTICO CITOGENÉTICO E ANÁLISE DO PERFIL CLÍNICO EM
INDIVÍDUOS COM DEFICIÊNCIA INTELECTUAL (DI), NÃO SÍNDROME DE
DOWN

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia e Recursos Naturais da Amazônia da Universidade do Estado do Amazonas-MBT/UEA, como parte dos requisitos para obtenção do título de *Mestre em Biotecnologia e Recursos Naturais*.

Orientador: Dr. Cleiton Fantin Rezende

Manaus
2016

JEANE CRISTINA RIBEIRO LIMA

DIAGNÓSTICO CITOGENÉTICO E ANÁLISE DO PERFIL CLÍNICO EM
INDIVÍDUOS COM DEFICIÊNCIA INTELECTUAL (DI), NÃO SÍNDROME DE
DOWN

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia e Recursos Naturais da Amazônia da Universidade do Estado do Amazonas-MBT/UEA, como parte dos requisitos para obtenção do título de *Mestre em Biotecnologia e Recursos Naturais*.

Orientador: Dr. Cleiton Fantin Rezende

Data da aprovação: 26/08/2016.

Banca Examinadora:



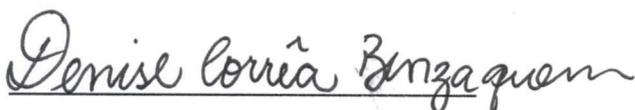
Prof. Dr. Cleiton Fantin Rezende

Universidade do Estado do Amazonas



Profa. Dra. Miriam Silva Rafael

Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia



Dra. Denise Corrêa Benzaquem

Universidade do Estado do Amazonas

Ficha Catalográfica
(Catalogação na fonte elaborada pela Biblioteca Central ó UEA)

L732d Lima, Jeane Cristina Ribeiro

Diagnóstico citogenético e análise do perfil clínico em indivíduos com Deficiência Intelectual (DI), não Síndrome de Down . / Jeane Cristina Ribeiro Lima -- Manaus: Universidade do Estado do Amazonas, 2016.

Xiii, 59 f. : il.

Dissertação (Mestrado) - Universidade do Estado Amazonas - Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia e Recursos Naturais da Amazônia, 2016.

Orientador: Prof. Dr. Cleiton Fantin Rezende

1. DI 2. Citogenética clássica 3. Banda G I. Título.

CDU: 575(043.3)

*Aos amores da minha vida Valriney,
Benjamim e Agnes. Saber que minhas
conquistas refletem diretamente em vocês
me dá coragem pra continuar.
Dedico.*

*% do buscar e não do achar que nasce o
que eu não conhecia+*

(Clarice Lispector)

AGRADECIMENTOS

Ao único Deus, invisível, mas real. A Ele toda honra, glória e louvor.

Ao CNPq, pela concessão da bolsa e pelo apoio financeiro.

À Universidade do Estado do Amazonas (UEA).

Ao Programa De Pós-Graduação em Biotecnologia e Recursos Naturais da Amazônia (PPGMBT-UEA).

Ao Prof. Dr. Cleiton Fantin Rezende pela orientação deste trabalho e por acreditar em mim quando nem eu mesma acreditava... muito obrigada.

À Universidade Federal do Amazonas (UFAM) pela liberação.

Ao Hospital Universitário Getúlio Vargas (HUGV)

Ao meu amado esposo Valriney Dantas Lima por todo apoio e compreensão durante esta caminhada e por cuidar de nossos filhos na minha ausência.

Aos meus pais José e Nazaré, pelo exemplo de vida, amor incondicional e por me proporcionarem o que não puderam ter.

Aos meus irmãos Flávio (Pleibe, meu fã de todas as horas) e Jaime por serem sempre os melhores irmãos do universo.

Ao meu amigo e pastor Mayckon Stone, sua esposa e minha amiga Cristina Grana pela cobertura espiritual, pelas orações, incentivo e compreensão durante minhas ausências.

Às minhas amigas de PROEG e para a vida toda Rosana Parente, Izaura Jardim, Yara Renovato, Solange Huber, Edijane Garcia, Joice Gonçalves e Núbia Souza por me fazerem rir quando eu queria chorar.

Às amigas que ganhei na Biotecnologia Anne, Jéssica e Karen. Tenho muito orgulho de vocês meninas!

A todo o pessoal da APAE/Manaus, coordenadora Elizangela, pedagoga Malba, secretária Mara, assistente social Elen pela presteza e colaboração.

À Dra. Vânia Prazeres por arrumar tempo na agenda ocupada de uma profissional que à medida que conheci passei a admirar profundamente.

À Ernanda e Débora pela preciosa parceria.

Enfim, a todos que de forma direta ou indireta participaram de alguma forma na realização deste sonho.

RESUMO

As alterações cromossômicas são as principais causas de doenças genéticas. Uma das características de certas síndromes genéticas é a deficiência intelectual (DI), em diferentes graus, apresentada por seus portadores. O estudo da DI, sua etiologia, associação ou não com alterações cromossômicas e um diagnóstico clínico associado ao exame de cariótipo torna-se importante ferramenta para auxiliar no aconselhamento genético das famílias. Devido a carência de estudos semelhantes e de serviços de citogenética de fácil acesso à população amazonense, o presente estudo teve como objetivo contribuir para o avanço dessa linha de estudo no Estado. Foram realizadas análises dos diagnósticos clínicos por meio de levantamento de dados em entrevista e prontuários além da análise de cariótipo de 31 indivíduos, com DI, não Síndrome de Down, atendidos pela APAE-Manaus. Destes, 20 eram do sexo feminino e 11 do sexo masculino. Os resultados obtidos apontaram apenas 2 casos de alteração cromossômica detectável pela citogenética clássica, um mosaicismo de Síndrome de Turner e uma variante heterocromática. Faz-se, portanto, necessária a complementação do estudo com adição de técnicas moleculares para a investigação de microdeleções e/ou outras alterações não detectáveis pela técnica de bandeamento empregada principalmente para os indivíduos cujos dismorfismos apontam suspeita de síndrome.

Palavras-chave: DI, citogenética clássica, banda G.

ABSTRACT

Chromosomal aberrations are the main causes of genetic diseases. One of the characteristics of certain genetic syndromes is the intellectual disability (ID), in varying degrees, by their carriers. The study of ID, its etiology, associated or not with chromosomal alterations and a clinical diagnosis associated with the examination of karyotype becomes important tool to assist in genetic counseling of families. Due to lack of similar studies and cytogenetic services easy access to the Amazonian population, this study aimed to contribute to the advancement of this study in the State line. Analyses were performed clinical diagnosis through data collection in an interview and medical records beyond the karyotype analysis of 31 patients with ID, not Down syndrome, attended by APAE-Manaus. Of these, 20 were female and 11 male. The results showed only 2 cases of chromosome abnormalities detectable by classical cytogenetics, mosaicism of Turner syndrome and a heterochromatic variant. It is therefore necessary to complement the study with addition of molecular techniques for the investigation of microdeletions and/or other alterations not detectable by banding technique mainly used for individuals whose dysmorphisms point suspected syndrome.

Keywords: ID, classical cytogenetics, G band.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1	Representação dos cromossomos humanos 1, 9 e 14	19
Figura 02	Cariótipo feminino normal	19
Figura 03	Cariótipo masculino normal	20
Figura 04	Representação de cariótipo masculino amostrado por grupos	20

FIGURAS DO CAPÍTULO

Figura 01	Cariótipo do caso APAE-09, 46,XY, 9qh+	42
Figura 02	Caracteres dismórficos encontrados no caso APAE-09	42
Figura 03	Caso APAE-17. Cariótipo característico de Síndrome de Turner (45,X)	43
Figura 04	Caracteres dismórficos encontrados no caso APAE-17	43

LISTA DE TABELAS

- | | | |
|--------------------|---|-----------|
| Tabela 01 - | Frequência de avaliação diagnóstica de DI por profissional qualificado e ocorrência de teste de QI | 40 |
| Tabela 02 - | Frequência da classificação de DI atribuída por profissional da área | 40 |
| Tabela 03 - | Distribuição dos casos estudados, segundo a presença de pelo menos um dismorfismo por segmento corporal | 41 |
| Tabela 04 - | Casos de alterações cromossômicas detectadas pela citogenética clássica | 41 |

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AAID . American Association on Intellectual and Developmental Disabilities

DI . Deficiência Intelectual

QI . Quociente de Inteligência

APAE . Associação de Pais e Amigos do Excepcional

OMS/CID-10 . Organização Mundial de Saúde/Código Internacional de Doenças

ONU . Organização das Nações Unidas

ABADS . Associação Brasileira de Assistência e Desenvolvimento Social

IBGE . Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística

RON - Região Organizadora de Núcleo

AT . Adenina/Timina

CG . Citosina/Guanina

FISH . Fluorescent in situ hybridization

ISCN . International System for Human Cytogenetic Nomenclature

TCLE . Termo de Consentimento Livre e Esclarecido

ADNPM . Atraso no Desenvolvimento Neuropsicomotor

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	14
2	REFERENCIAL TEÓRICO	16
2.1	DEFICIÊNCIA INTELECTUAL.....	16
2.2	CITOGÉNÉTICA HUMANA.....	17
2.3	O CARIÓTIPO HUMANO.....	19
2.4	TÉCNICAS CITOGÉNÉTICAS.....	22
2.4.1	Técnicas de bandeamento cromossômico.....	22
2.4.1.1	Banda G.....	23
2.4.2	Técnicas de marcação específica.....	23
2.5	ALTERAÇÕES CROMOSSÔMICAS.....	24
2.5.1	Alterações Cromossômicas Numéricas associadas a DI.....	25
2.5.1.1	Trissomia do cromossomo 13.....	26
2.5.1.2	Trissomia do cromossomo 18.....	26
2.5.1.3	Trissomia do cromossomo 21.....	26
2.5.1.4	Alterações do cromossomo X.....	26
2.5.2	Alterações Cromossômicas Estruturais associadas a DI.....	27
2.5.2.1	Síndrome do cri-du-chat.....	28
2.5.2.2	Síndrome de Prader-Willi.....	28
2.5.2.3	Síndrome de Angelman.....	28
2.6	ESTUDOS CITOGÉNÉTICOS ASSOCIADOS À DI.....	28
3	OBJETIVO GERAL.....	31
3.1	Objetivos Específicos.....	31
	CAPITULO I.....	32
4	CONCLUSÃO.....	49
5	REFERÊNCIAS.....	50
	ANEXOS.....	55

1 INTRODUÇÃO

A *American Association on Intellectual and Developmental Disabilities* (AAIDD, 2002) define Deficiência Intelectual (DI) como sendo o funcionamento intelectual inferior ou Quociente de Inteligência (QI) abaixo da média populacional associado às limitações adaptativas em pelo menos duas áreas de habilidades tais como de comunicação, autocuidado, vida no lar, adaptação social, saúde e segurança, uso de recursos da comunidade, determinação, funções acadêmicas, lazer e trabalho. A DI é considerada um estado incompleto ou inibido de desenvolvimento do intelecto ocorrendo em cerca de 1-3% da população gerando prejuízo às funções cognitivas, linguísticas, motoras e sociais componentes da inteligência do indivíduo (LINHARES, SVARTMAN e VALADARES, 2012). Para a Organização Mundial de Saúde OMS-CID.10 (1995) a definição de DI baseia-se em critérios quantitativos de classificação e de acordo com o resultado obtidos nos testes de QI ela será classificada em leve, moderada, grave e profunda. O diagnóstico de DI é realizado por médicos e psicólogos, mas equipes interdisciplinares de instituições educacionais também podem fazê-lo conforme a demanda e escopo institucional em que o indivíduo está inserido (DE CARVALHO e MACIEL, 2003).

Há duas classes de DI, a *sindrômica*, onde ocorre a associação com fenótipos de malformações, dismorfias, convulsões, etc. e a *não sindrômica*, onde a DI é a única manifestação clínica do paciente. Nos casos de DI *sindrômica* a presença de outros sinais e sintomas associados permite enquadrar clinicamente o paciente em uma síndrome genética conhecida, geralmente são estes os que apresentam quadros mais graves (ROCHA, 2014). Contudo, cerca de 20-50% dos casos moderados a graves e até 80% das DI leves ainda permanecem sem diagnóstico genético (DE CARVALHO e MACIEL, 2003).

A investigação etiológica da DI é dificultada porque ela tanto pode ser causada por fatores ambientais como isquemia cerebral perinatal, síndrome fetal alcoólica, infecções pré ou pós-natais como por fatores genéticos tais como alterações cromossômicas e doenças monogênicas, ou seja, existem múltiplos fatores que podem estar relacionados à DI independente de *status* ou

classe social, o que justifica a necessidade de inserção da DI como categoria diagnóstica, pois ajudará na identificação, intervenção, apoio, promoção de cuidados, atendimento a direitos contribuindo positivamente na qualidade de vida do portador e familiares (INLOW e RETIFO (2004 *apud* ROCHA 2014); DE CARVALHO e MACIEL, 2003).

Os estudos citogenéticos têm contribuído para o diagnóstico de doenças relacionadas às alterações cromossômicas e sua relação com a deficiência intelectual. As técnicas citogenéticas utilizadas na avaliação etiológica da DI são instrumentos importantes na análise e diagnóstico de indivíduos afetados possibilitando a intervenção terapêutica precoce. Quando um diagnóstico é firmado ele pode esclarecer dúvidas e questionamentos dos pais e permitir que decisões reprodutivas sejam tomadas com o diagnóstico de certeza nos casos de aconselhamento genético (DELLA-ROSA, 2004).

Em Escolas de Educação Especial em Santiago no Chile, Alliende et al, (2008) realizaram uma pesquisa incluindo 103 indivíduos com DI, não Síndrome de Down, onde apenas um deles tinha diagnóstico etiológico. Em outro estudo realizado por Abreu (2009) em três APAES da região de Rio Preto em São Paulo, 12,1% dos indivíduos afetados por DI apresentavam alterações cromossômicas, onde 90,2% eram numéricas e, na maioria, trissomia do cromossomo 21. Na pesquisa realizada por Storniolo et al. (2011) foi verificado em uma amostra de estudantes da APAE de São Carlos, com Deficiência Intelectual (DI) de etiologia não esclarecida desenvolvida com 51 pacientes, 13 situações onde foi possível estabelecer a etiologia da DI; 2 com histórico clínico sugerindo DI ligada ao cromossomo X; e 36 onde a etiologia não foi confirmada.

As pesquisas em Citogenética Humana e/ou Clínica na capital amazonense ainda são bastante escassas, existindo um número restrito de laboratórios com atendimento específico de análise de cariótipo em setores públicos e, mesmo no setor privado não é comum esse tipo de prestação de serviço, inviabilizando o acesso às camadas mais populares de um serviço de diagnóstico clínico para indivíduos com DI, não Síndrome de Down, somado à análise citogenética (avaliação de cariótipo) e sua possível associação ou não com alguma alteração cromossômica.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 DEFICIÊNCIA INTELECTUAL

O termo Deficiência Intelectual passou a substituir deficiência mental no ano de 1995 no Simpósio *Intellectual Disability: Programs, Policies and Planning for the future* da Organização das Nações Unidas . ONU e em 2004, o termo foi consagrado com a Declaração de Montreal sobre Deficiência Intelectual, documento formulado em evento realizado pela Organização Mundial de Saúde . OMS e Organização Pan-Americana de Saúde. Essa troca teve como principal objetivo esclarecer a diferença entre a deficiência mental que é diagnosticada antes dos 18 anos e utiliza testes de quociente de inteligência (QI) associados a limitações adaptativas em pelo menos duas áreas de habilidades e a doença mental relacionada a quadros psiquiátricos não necessariamente associados a deficiência intelectual (AAIDD, 2002).

A incidência de DI na população mundial é de aproximadamente 3% (LINHARES, SVARTMAN e VALADARES, 2012; TALLANTYRE e ROBERTSON, 2013). Em países mais desenvolvidos 42% dos diagnósticos de DI apresentam origem desconhecida; 29% claramente genética; 19% provavelmente genética e 10% ambiental (Associação Brasileira de Assistência e Desenvolvimento Social - ABADS, 2015). No Brasil o Censo Demográfico de 2010, publicado em 2012, pelo Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística . IBGE, divulgou resultados referentes às características das pessoas com deficiência no País onde 45,6 milhões de brasileiros declararam ter pelo menos uma das deficiências investigadas, correspondendo a 23,9% da população, dentre estes 2,6 milhões declararam ter deficiência intelectual, sendo 1,5% do sexo masculino e 1,2% do sexo feminino.

O diagnóstico de DI é realizado em consultórios, hospitais, centros de reabilitação e clínicas por médicos, psicólogos clínicos e, ainda, por equipes interdisciplinares de instituições educacionais (DE CARVALHO e MACIEL, 2003). Em função de suas causas serem múltiplas e complexas, o diagnóstico para DI é bastante difícil, pois além dos fatores genéticos que incluem as alterações cromossômicas ou monogênicas existem os fatores ambientais como infecções e drogas na gravidez, dificuldades no parto, prematuridade, meningites, traumas cranianos, entre outros.

Para auxiliar os profissionais no diagnóstico são utilizados os testes de QI por meio dos quais a DI é classificada em leve, moderada, grave e profunda. Esses testes padronizados visam a mensuração da inteligência baseados em conjuntos de tarefas verbais ou não, em que são exigidos tipos particulares de comportamento e respostas diante de situações-problema que permitam verificar habilidades e tipos de relação que o indivíduo é capaz de estabelecer com o meio (MAIA e FONSECA, 2002). Ao final se o indivíduo obtém desempenho inferior ou próximo a 70, na curva de distribuição do QI na população, é considerado com deficiência intelectual e se obtiver superior a 130 é superdotado (OMS-CID.10, 1995).

2.2 CITOGENÉTICA HUMANA

A Citogenética engloba todo e qualquer estudo relacionado ao cromossomo, isolado ou em conjunto, condensado ou distendido, tanto no que diz respeito à sua morfologia, organização, função e replicação, quanto à sua variação e evolução (GUERRA, 1988). Na Genética Humana a Citogenética tem valor fundamental, já que alterações cromossômicas constituem uma categoria importante de doenças genéticas, respondendo por uma grande proporção de todo o desperdício reprodutivo, malformações congênitas e deficiência intelectual (BASEI, 2002).

A publicação das primeiras ilustrações de cromossomos humanos seguida pela utilização dos termos cromatina, mitose e cromossomo estimularam pesquisadores contemporâneos nos séculos XIX e XX a formular teorias associando a hereditariedade aos cromossomos o que culminou na chamada Teoria Cromossômica da Herança e, conseqüente, denominação do estudo dos cromossomos como Citogenética, associando as disciplinas Citologia e Genética (MATTTEVI e MIRANDA, 2011). Nessa mesma época, os estudos citogenéticos deram maior ênfase à determinação do número de cromossomos para a espécie humana e, durante certo tempo os estudos indicavam como sendo de 48 o número diplóide para a nossa espécie. Nessa mesma época utilizou-se pela primeira vez o termo cariótipo referindo-se ao arranjo ordenado de cromossomos (MATTTEVI e MIRANDA, 2011).

Houve grande avanço na análise de cromossomos quando se começou a utilizar células cultivadas ao invés de células de cortes histológicos. Outro advento importante foi a descoberta do choque hipotônico, onde as células cultivadas antes da fixação eram colocadas em solução hipotônica ocasionando a entrada da água, por osmose, aumentando as membranas celulares e separando os cromossomos, isto tornou mais fácil a sua visualização (HSU, 1952; HSU e POMERAT, 1953). Tempos depois a colchicina passou a ser utilizada para bloquear o fuso mitótico e acumular células em metáfase (FORD e HAMERTON, 1955). Não demorou muito para que a técnica colchicina/hipotônica fosse otimizada e houvesse relatos de que o número diploide na espécie humana parecia ser 46 e não 48 como relatado anteriormente (TJIO e LEVAN, 1956; FORD e HAMERTON, 1956). Nove anos depois da descoberta do número de cromossomos na espécie humana foram descritas como síndromes cromossômicas três trissomias autossômicas, quatro aneuploidias sexuais, uma anormalidade estrutural (deleção), uma anormalidade cromossômica adquirida e associada ao câncer e dois distúrbios de quebra cromossômica. Naquela época havia a limitação de que mesmo conseguindo distinguir os cromossomos pelo tamanho e posição do centrômero, estes não podiam ser identificados individualmente, portanto, era possível observar anormalidades específicas de um paciente, mas não caracterizá-las. Sem um método que permitisse a identificação definitiva de regiões de cada cromossomo a citogenética ficaria restrita ao estudo de poucos distúrbios (MATTTEVI e MIRANDA, 2011).

A técnica de bandeamento cromossômico que permite a caracterização de regiões específicas de cada cromossomo teve início com a descrição da formação de bandas cintilantes ao longo de cromossomos vegetais corados com compostos fluorescentes derivados de quinacrina. Verificou-se que cada par cromossômico apresentava bandas com um padrão distinto o que possibilitou o reconhecimento de cromossomos anteriormente indistinguíveis. Com a utilização da quinacrina mostarda para corar cromossomos humanos foi possível obter um padrão de bandeamento para cada par, identificando-os de forma definitiva. Entretanto, este método era oneroso, pois exigia microscópio de fluorescência somado ao fato de a fluorescência esvair em poucos minutos dificultando a análise microscópica em tempo real (CASPERSSON et al., 1968;

CASPERSSON, ZECH e JOHANSSON, 1970; CASPERSSON, LOMAKKA e ZECH, 1972). A obtenção de padrões de bandeamento utilizando coloração com Giemsa facilitou a utilização das técnicas citogenéticas na clínica médica, pois a tecnologia estava agora ao alcance de qualquer instituição, viabilizando a definição de uma gama de anormalidades e síndromes cromossômicas contribuindo para o avanço na aplicação de técnicas de identificação de regiões cada vez menores de cariótipo, gene e cromossomos que passaram a ser mapeados de forma intensa abrindo caminho para a citogenética molecular até os tempos atuais (DRETS e SHAW, 1971).

2.3 O CARIÓTIPO HUMANO

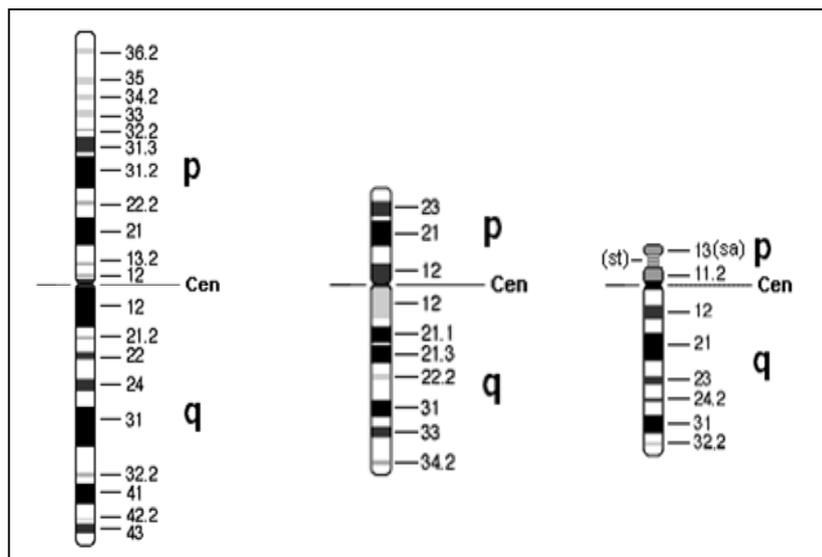
Cariótipo é o conjunto de cromossomos de uma célula em metáfase, ordenados de acordo com sua morfologia e tamanho, que caracteriza uma espécie (BENASAYAG; GALLINO, 2010). Na metáfase os cromossomos encontram-se altamente condensados e individualizados, isto possibilita o estudo mais detalhado dessas estruturas. Os cromossomos humanos são classificados de acordo com a posição do centrômero em: Metacêntrico, Submetacêntrico e Acrocêntrico. Os exemplos clássicos dessa classificação são os cromossomos 1, 9 e 14. (Fig.01)

Segundo Guerra (1988), a representação do cariótipo pode ser feita na forma de ideograma ou cariograma, construídos a partir de uma fotografia ou do desenho detalhado de uma metáfase onde todos os cromossomos estão bem corados e individualizados. Esses cromossomos são recortados e os homólogos são emparelhados e enumerados dentro de uma determinada ordem.

Os 46 cromossomos humanos formam 23 pares, sendo 22 de autossomos e um par sexual. Os pares de autossomos são numerados de 1 a 22 em ordem decrescente de tamanho e os cromossomos sexuais recebem a notação X e Y (Figs. 02 e 03). Os pares cromossômicos, incluindo os sexuais, são reunidos em sete grupos designados pelas letras A-G (KASAHARA, 2003). O grupo A é composto pelos cromossomos 1 a 3, cromossomos grandes, metacêntricos e submetacêntricos. B: 4 e 5, cromossomos grandes submetacêntricos. C: 6 a 12 e o X, cromossomos submetacêntricos de

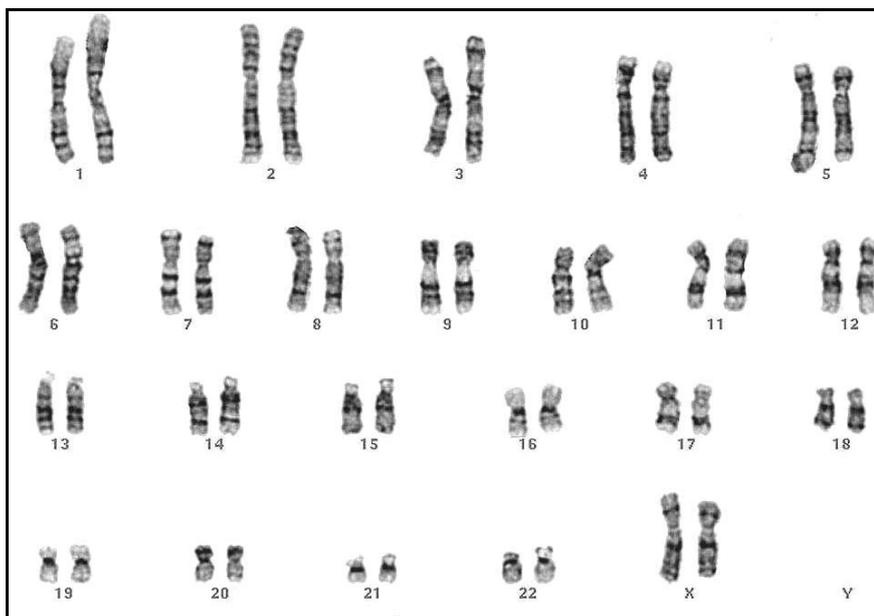
tamanho médio. D: 13 a 15 cromossomos acrocêntricos. E: 16 a 18 cromossomos relativamente curtos, metacêntricos ou submetacêntricos. F: 19 e 20 cromossomos metacêntricos pequenos. G: 21, 22 e Y, cromossomos pequenos acrocêntricos. (Fig. 04)

Figura 01. Cromossomos humanos: 1 (metacêntrico); 9 (submetacêntrico) e 14 (acrocêntrico)



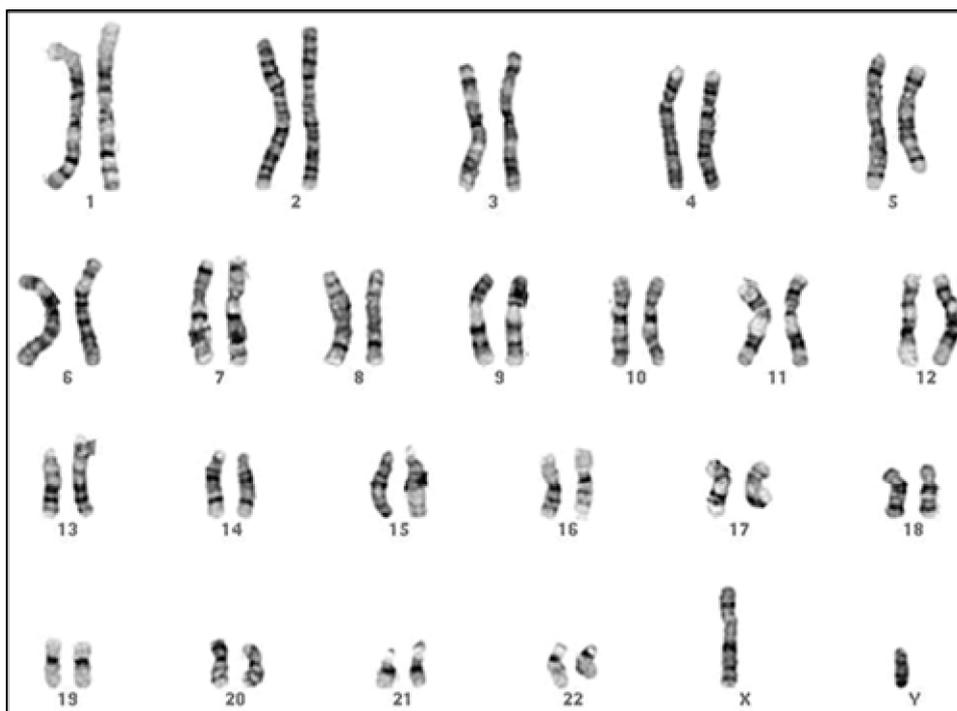
Fonte : <http://biomodel.uah.es/citogene/dynacare/geninfo.htm#morfoloogia>

Figura 02. Cariótipo feminino normal: 22 pares autossômicos + o par sexual.



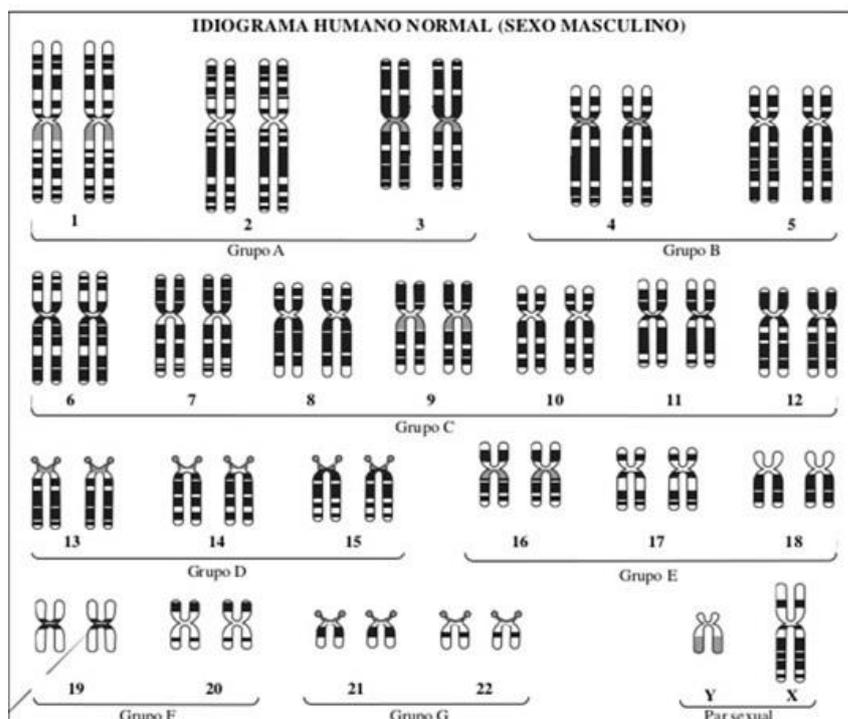
Fonte: http://www.poligene.com.br/laboratorios_florianopolis_areas_atuacao_humana_citogenetica.asp

Figura 03. Cariótipo masculino normal: 22 pares autossômicos + o par sexual.



Fonte: http://www.poligene.com.br/laboratorios_florianopolis_areas_atuacao_humana_citogenetica.asp

Figura 04. Cariótipo masculino: configuração por grupos de A à G + o par sexual



Fonte: <http://crismaurer.blogspot.com.br/2015/10/idiograma-humano-masculino.html>

2.4 TÉCNICAS CITOGENÉTICAS

A publicação da imagem do primeiro cariótipo humano bandeado, favoreceu o reconhecimento individual de cada cromossomo e distinção entre os vários pares de cromossomos. Entretanto, a técnica que utilizava quinacrina era limitada pelo fato de a fluorescência diminuir rapidamente de intensidade, o que a tornava pouco apropriada para estudos de rotina em pacientes com possíveis alterações estruturais. A partir de então outras técnicas de bandeamento e coloração foram desenvolvidas e aprimoradas tendo cada uma delas propriedades e aplicações específicas. Essas técnicas podem ser divididas em duas categorias, as que produzem bandas ao longo da extensão do cromossomo: bandas Q, R e G; e as que marcam regiões específicas de alguns ou de todos os cromossomos: bandas C, RON, T, G-11, Cd e coloração DAPI/DA (MIRANDA e MATTTEVI, 2011).

2.4.1 Técnicas de bandeamento cromossômico

São técnicas que produzem padrões de bandeamento ao longo do cromossomo e cada uma apresenta uma particularidade. Uma banda cromossômica é, na realidade, a manifestação de um domínio da cromatina com características funcionais e estruturais homogêneas e distintas ao longo de um trecho possível de ser visualizado ao microscópio. (BICKMORE, 2001).

O bandeamento Q é baseado no tratamento com o fluorocromo quinacrina mostarda que possui maior afinidade por sequências de DNA ricas em AT. Suas marcações são específicas para polimorfismos dos cromossomos 1, 3, 4, 16, região pericentromérica e satélite de acrocêntricos e na detecção de presença de material genético do cromossomo Y. Por exigir equipamentos apropriados e de alto custo, esta técnica não é viável como rotina na maioria dos laboratórios. (MIRANDA e MATTTEVI, 2011). Nas bandas R, ou reverso, o padrão de marcação cromossômica é oposto ao produzido pelas bandas Q e G. Esta técnica é utilizada como procedimento suplementar. Em humanos, esta técnica tem se apresentado eficiente na detecção de deleções, duplicações e inversões cromossômicas, usualmente relacionadas a determinadas anomalias do desenvolvimento, sendo, portanto, especialmente importante no campo da citogenética. Além disto, é possível localizar, com exatidão, a região do cromossomo afetada (MIRANDA e MATTTEVI, 2011).

2.4.1.1 Banda G

As bandas G obtidas pelo método GTG para avaliação clínica dos cromossomos humanos são consideradas muito superiores em resolução àquelas que utilizam fluorocromos, pois o caráter permanente destes preparativos facilita uma análise microscópica completa das metafases. O mecanismo das bandas G ainda não está completamente esclarecido, apenas sugere-se que haja um papel direto do Giemsa na produção dessas bandas (MCKAY, 1973; SHUH, KORF e SALWEN, 1975). Há suposições de que o Giemsa usado na técnica GTG interaja principalmente com proteínas cromossômicas (DANIEL e LAM-PO-TANG, 1973). Embora os estudos *in vitro* indiquem que a única ligação significativa é com o DNA (COMINGS et al., 1973) existe uma vertente que sugere que uma histona rica em arginina está envolvida na produção das bandas GTG e que não há perda de DNA ou proteína no cromossomo durante o tratamento com a tripsina (CLARK e FELSENFELD, 1973).

No bandeamento G os cromossomos são desproteinizados por ação da tripsina e depois corados com Giemsa. Após a coloração, os cromossomos apresentam um padrão de bandas claras e escuras. Acredita-se que as faixas claras possuem DNA rico em bases Guanina-Citosina (GC) e muitos genes ativos; enquanto as faixas escuras representam o DNA rico em bases Adenina-Timina (AT) e poucos genes ativos. Por apresentarem genes ativos e replicação precoce também são consideradas biologicamente mais importantes. O uso do método banda G é indicado para diagnóstico quando se suspeita de síndromes genéticas, malformação congênita, atraso no desenvolvimento e outras alterações genéticas, o que faz com que seja uma das técnicas mais utilizadas em laboratórios de citogenética de todo o mundo (GUERRA, 1988; MIRANDA e MATTTEVI, 2011; CANDEIAS, 2012).

2.4.2 Técnicas de marcação específica

A técnica de bandas C cora especificamente a Heterocromatina Constitutiva, geralmente encontrada ao redor dos centrômeros. Em humanos esta técnica marca regiões de polimorfismos nas regiões pericentroméricas dos cromossomos 1, 9 e 16 e a porção distal do braço longo do cromossomo Y. Também utilizada para detectar presença de cromossomos discêntricos ou

pseudodiscêntricos, estudo de cromossomos marcadores e variantes polimórficas. Especificamente no grupo C do cariótipo humano distingue os pares 8 e 9 (MIRANDA e MATTTEVI, 2011).

Na técnica de bandeamento RON é corada a Região Organizadora de Nucléolo localizada na constrição secundária dos cromossomos humanos com satélite dos grupos D e G, onde existem sítio de DNA repetitivo e genes ribossômicos. É utilizada na identificação de cromossomos marcadores, detecção de rearranjos ou polimorfismos envolvendo cromossomos acrocêntricos (MIRANDA e MATTTEVI, 2011).

O bandeamento T é um subconjunto das bandas R, onde são marcadas as porções terminais, os telômeros. No bandeamento G-11 as metáfases são coradas com Giemsa em pH alto fazendo com que a eosina ligue-se a regiões específicas corando-as de magenta. É utilizada na análise de regiões cariotípicas entre o homem e outras espécies de primata. No bandeamento Cd obtêm-se dois pontos em cada centrômero, marcando apenas centrômeros funcionais. Sua utilização baseia-se nessa característica para distinguir centrômeros funcionais dos não funcionais pertencentes aos cromossomos discêntricos estáveis. O DAPI/Da é uma técnica que utiliza fluorocromos em combinações específicas com afinidades para regiões ricas em AT ou CG (MIRANDA e MATTTEVI, 2011). Nos anos 80 a citogenética foi beneficiada com a incorporação da técnica de FISH (*fluorescent in situ hybridization*), um procedimento citoquímico que permite verificar e detectar sequências específicas de ácidos nucléicos em células em metáfase ou intérfase. Essa técnica baseia-se na formação de um híbrido entre a sequências de DNA ou regiões específicas de cromossomos e sondas de DNA marcadas com fluorocromos que após a hibridização são analisadas em microscópio de fluorescência (PINKEL, STRAUME e GRAY, 1986; LICHTER et. al., 1988)

2.5 ALTERAÇÕES CROMOSSÔMICAS

Em humanos, as alterações cromossômicas são as doenças genéticas mais frequentes, sendo responsáveis por diversos problemas como retardo mental, déficit ponderal, estatural e várias malformações congênitas. Essas alterações são decorrentes de qualquer mudança no número ou na estrutura

dos cromossomos, durante os processos mitóticos e meióticos, que levam a uma modificação na expressão gênica (ALMEIDA et al., 2013).

Em termos de classificação existem dois tipos de alteração, a numérica e a estrutural. As numéricas são as mais comuns e correspondem ao aumento ou diminuição de um ou mais cromossomos no genoma e podem ser do tipo euploidia, que envolve todo o genoma ou aneuploidia, que envolve um ou mais cromossomos de cada par. As aneuploidias resultam da não disjunção de um cromossomo no momento da divisão, e dentre as mais conhecidas estão a monossomia ($2n-1$), a trissomia ($2n+1$) e a tetrassomia ($2n+2$). A não disjunção pode ocorrer também nas divisões após a formação do zigoto, no início do desenvolvimento embrionário possibilitando a presença de dois ou até mais cariótipos diferentes no mesmo indivíduo, o que é caracterizado como mosaicismo. As euploidias envolvem todo o genoma, dando origem a células com múltiplos exatos dos 23 cromossomos em seu núcleo, são menos comuns que as aneuploidias porque na espécie humana são totalmente incompatíveis com a vida. Os casos de triploidia e tetraploidia que chegaram a termo eram de morte neonatal, natimortos ou ainda abortos espontâneos (BORGES-OSÓRIO e ROBINSON, 2001; VASCONCELOS et al., 2007; FRAGA; VAIRO e MALUF, 2011).

As alterações estruturais são mudanças na estrutura do cromossomo que ocorrem por meio de quebras ou rearranjos e podem ser dos tipos balanceado ou não balanceado. Os rearranjos balanceados aparecem quando não existe alteração nas informações do cromossomo, são as deleções, duplicações, isocromossomo, isodiocêntrico e anel cromossômico, enquanto os rearranjos não balanceados aparecem quando existe alguma informação a mais ou a menos no cromossomo, são as inversões, translocações e inserções (MERGENER; LUDWIG e MALUF, 2011).

2.5.1 Alterações Cromossômicas Numéricas associadas a DI

Dentre as alterações cromossômicas numéricas associadas à DI destacam-se as trissomias dos cromossomos autossômicos 13, 18, 21 e alterações do cromossomo sexual X (FRAGA; VAIRO e MALUF, 2011).

2.5.1.1 Trissomia do cromossomo 13

Existem três etiologias para a trissomia do cromossomo 13: Trissomia 13 (47, +13), em que um cromossomo 13 extra está presente em todas as células do indivíduo; Translocação robertisoniana envolvendo o braço longo do cromossomo 13 e Mosaïcismo (47, +13/46), quando há duas populações de células, uma normal e outra com um cromossomo extra. Pacientes com essa síndrome apresentam grave comprometimento mental, convulsões e déficit pondo-estatural após um ano de vida (FRAGA; VAIRO e MALUF, 2011).

2.5.1.2 Trissomia do cromossomo 18

Também conhecida como síndrome de Edwards esta trissomia está relacionada com o avanço da idade materna onde 90% dos casos são resultado de não disjunção meiótica. A cópia extra do cromossomo 18 pode ocorrer de três formas: completa, parcial ou aleatória. Para cada tipo da doença há uma série de peculiaridades que prejudicam muito a qualidade de vida dos portadores, o que dificulta estabelecer um padrão de sinais e sintomas para cada criança tomando como base o tipo da doença que ela tem. Os sobreviventes com esta síndrome apresentam grave comprometimento mental (FRAGA; VAIRO e MALUF, 2011).

2.5.1.3 Trissomia do cromossomo 21

É a alteração cromossômica mais comum em nascidos vivos e a maior causa de DI. Geralmente de origem materna, está relacionada a erros na meiose que resultam na não disjunção cromossômica. Existem três tipos de alterações citogenéticas que podem resultar em Síndrome de Down. A mais frequente com cerca de 94% é a Trissomia 21 (47, +21), onde um cromossomo 21 extra está presente em todas as células do indivíduo; seguida pela Translocação robertisoniana (3 a 4%) e Mosaïcismo de trissomia 21 (47, +21/46) (FRAGA; VAIRO e MALUF, 2011).

2.5.1.4 Alterações do cromossomo X

A Síndrome de Turner é uma monossomia sexual que ocorre em mulheres que apresentam um cromossomo sexual a menos, ou seja, apresentam 45 cromossomos (HOFFEE, 2000).

As alterações genéticas da síndrome de Turner podem ser: Monossomia completa que é a mais frequente, onde ocorre a completa ausência de um cromossomo X em todas as células do indivíduo; Mosaicismo onde a paciente apresenta em seu organismo células normais (46,XX) e células com a monossomia do X ao mesmo tempo (45,X). E, em alguns casos, há um cromossomo X completo e um exemplar alterado e, finalmente Material de cromossomo Y, onde em uma pequena porcentagem dos casos de síndrome de Turner, algumas células têm uma cópia do cromossomo X e outras células têm uma cópia do cromossomo X e algum material de cromossomo Y. A DI não é uma característica da Síndrome, mas pode haver leve comprometimento das atividades intelectuais e verbais (MERGENER; LUDWIG e MALUF, 2011).

Uma outra síndrome causada por alterações no cromossomo sexual X é a síndrome de Klinefelter causada pela presença de uma ou mais cópias extras do cromossomo X, na presença do Y (47, XXY). Em uma pequena porcentagem há variantes desta síndrome com o cariótipo 48, XXXY, 48, XXYY, 49, XXXXY e 49, XXXYY. Para esta síndrome existe um aumento na incidência de dificuldade de aprendizagem (HOFFEE, 2000; MERGENER; LUDWIG e MALUF, 2011).

2.5.2 Alterações Cromossômicas Estruturais associadas à DI

As alterações estruturais classificam-se em balanceadas, quando não há perda ou ganho de material genético e em não balanceadas. Podem ocorrer em todas as células ou em mosaico. Entre as alterações balanceadas, destacam-se a inversão que é a reorganização dos genes devido a quebras no cromossomo e a translocação que é a troca de segmentos de um cromossomo para outro. Entre as não balanceadas estão as deleções, caracterizadas pela perda de parte do cromossomo; a duplicação, que é a repetição de um fragmento do cromossomo; o isocromossomo; o isodiocêntrico e anel cromossômico (MERGENER; LUDWIG e MALUF, 2011). São responsáveis por algumas síndromes associadas à DI, como a Síndrome do cri-du-chat, Síndrome de Prader-Willi, Síndrome de Angelman, entre outras (HOFFEE, 2000).

2.5.2.1 Síndrome de cri-du-chat

Causada pela deleção parcial do braço curto do cromossomo 5 é caracterizado por choro semelhante ao miado de gato durante a lactância, baixo peso de nascimento, crescimento lento, microcefalia, face arredondada, entre outras. Geralmente há deficiência intelectual grave associada (HOFFEE, 2000).

2.5.2.2 Síndrome de Prader-Willi

Hoffee (2000) descreve esta síndrome como decorrente de microdeleção no braço longo do cromossomo 15 (herdado do pai) entre as regiões 11 e 13, podendo apresentar dissomia uniparental materna (UPD) indicando a herança de duas cópias do cromossomo 15 da mãe e nenhuma do pai. É marcada por hipotonia na lactância, polifagia, mãos e pés pequenos, baixa estatura, hipogonadismo e deficiência intelectual.

2.5.2.3 Síndrome de Angelman

Esta síndrome é atribuída a uma deleção 15q11-q13 do cromossomo 15 herdado da mãe podendo ser causada também por UPD paterna do cromossomo 15. Manifesta-se por grave deficiência intelectual, hiperatividade, convulsões, ataxia, balançar de mãos, ausência de fala e riso impróprio (HOFFEE, 2000).

2.6. ESTUDOS CITOGENÉTICOS ASSOCIADOS À DI

A necessidade de estudar genes associados à DI vem se estabelecendo em várias pesquisas que procuram fornecer dados sobre do comportamento dos fenótipos, a fim de melhorar o manejo clínico de pacientes afetados e ajudar a estabelecer alternativas educacionais (ALLIENDE et al., 2008). A análise citogenética para cada indivíduo com DI idiopática é recomendada, pois com a descoberta precoce de alteração cromossômica o diagnóstico pré-natal pode ser aplicado em futuras gestações (NASIRI et al., 2012). Algumas pesquisas encontraram pontos de convergência importantes entre o campo da genética médica e DI, pois informações resultantes de investigação em genética e contribuições feitas aos grupos de pacientes com síndromes específicas têm levado ao aumento do interesse por parte dos pais, da

comunidade e de professores de educação especial em saber a origem da DI nos indivíduos afetados (ALLIENDE et al., 2008).

Detectar causas de DI é um grande desafio para os geneticistas humanos, porque embora presente em cerca de 3% da população, não é explicada em mais de metade dos casos. Isto coloca a investigação citogenética de indivíduos com DI, com ou sem anomalias congênitas, como fator importante para pesquisas das causas da doença (RAJASEKHAR et al., 2011). Alguns estudos tem utilizado esta ferramenta relacionando as alterações cromossômicas à DI. O trabalho desenvolvido por Storniolo et al., (2011) mostra um perfil clínico dos pacientes avaliados, havendo a prevalência do sexo masculino com uma razão de 2,4M:1F na faixa etária dos 5 aos 14 anos. Na Indonésia, Mundhofir et al., (2012) analisaram 527 indivíduos com DI dentre os quais 87 (16,5%) apresentaram anormalidades cromossômicas. A trissomia 21 foi a mais frequente sendo identificada em 74 pacientes (14%). Outras anormalidades cromossômicas verificadas foram 8 ligadas ao cromossomo X e 5 aberrações autossômicas. Em pesquisa realizada por Trachoo et al., (2013) uma mulher tailandesa de 21 anos, cujos pais e irmão mais velho eram saudáveis apresentou alteração estrutural rara associada a traços faciais característicos, obesidade, deficiência intelectual, atraso no desenvolvimento psicomotor e de linguagem. Foram utilizadas técnicas de bandeamento G associada a técnicas moleculares demonstrando em seus resultados a ocorrência concomitante de duplicação do segmento do braço curto 20p11.22-20p13 e deleção do segmento terminal [der (20) del (20) (p13pter) dup (20) (p11.22p13)], confirmando a presença de rearranjo estrutural complexo do cromossomo 20 [der(20) dup (20) (p11.2p13) del (20) (p13.pter)]. Para determinar quais alterações cromossômicas desempenhavam importante papel na deficiência intelectual Mythili e Kumari, (2011) realizaram um estudo citogenético em Srikakulam (Índia), incluindo 30 indivíduos, de ambos os sexos, idades de 5 a 50 anos. Além de diagnóstico clínico de DI, os indivíduos apresentavam determinadas características como microcefalia, convulsões, etc. A análise das metáfases revelou que dentre os 30 indivíduos, 9 apresentaram cariótipos anormais (30%), 7 estruturais destacando-se as deleções 5p, adições 5q e um caso de translocação entre os cromossomos 9 e 17, e 2 numéricas, trissomia livre do 21 e um caso de mosaicismo. Mohamed et

al., (2014) estudaram uma família oriunda da faixa de Gaza que apresentava atraso no desenvolvimento, dismorfismos faciais característicos, múltiplas anomalias associadas e deficiência intelectual progressiva. Foram realizados testes genéticos para todos os membros da família, nos quais foi encontrada uma translocação autossômica dominante (1;16). Dos indivíduos portadores apenas seis estavam vivos. A análise cromossômica por bandeamento G foi realizada em resolução de 500-550 bandas para os seis pacientes mais 17 indivíduos adultos da família. Os pacientes tinham entre 6 meses a 11 anos. A análise revelou que todos os pacientes afetados tinham duplicações terminais 16p13 e duplicação terminal 1p. Há, portanto, a necessidade de investigar a deficiência intelectual mais profundamente utilizando as técnicas citogenéticas como ferramentas de estudo.

O Centro de Atendimento Sócio Pedagógico Ilza Garcia . APAE/Manaus presta serviços à comunidade atendendo indivíduos de ambos os sexos cujas faixas etárias variam de recém-nascidos até a terceira idade. Na parte clínica, a médica geneticista faz a anamnese e, conforme o caso os encaminha para outros profissionais. Além dos indivíduos portadores Síndrome de Down também são atendidas na Instituição pessoas com DI não associadas fenotipicamente à essa síndrome necessitando-se da investigação mais aprofundada da etiologia dessa deficiência para esses indivíduos.

3 OBJETIVO GERAL

- Analisar o cariótipo de indivíduos com Deficiência Intelectual (DI), não Síndrome de Down atendidos na APAE-Manaus.

3.1 Objetivos Específicos

- Cariotipar todas as amostras de sangue coletado;
- Verificar a capacidade de detecção de anomalias cromossômicas em indivíduos com DI pela Citogenética clássica;
- Identificar os principais tipos de alterações cromossômicas nos indivíduos analisados;
- Analisar a alteração cromossômica mais frequente na população com DI assistida pela APAE-Manaus;
- Relacionar DI com sexo e idade dos indivíduos analisados;
- Verificar a frequência de distúrbios nessa população

CAPITULO I

**Diagnóstico citogenético e análise do perfil clínico
em Indivíduos com Deficiência Intelectual (DI), não
Síndrome de Down**

Diagnóstico citogenético e análise do perfil clínico em indivíduos com Deficiência Intelectual (DI), não Síndrome de Down

Ribeiro-Lima, J. C.; Prazeres, V. G. M.; Fernandes, E. R. Q. G. S.; Oliveira, D. P; Fantin, C.

Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia e Recursos Naturais da Amazônia, Universidade do Estado do Amazonas, Manaus, Brasil.

Resumo

As alterações cromossômicas são as principais causas de doenças genéticas. Uma das características de certas síndromes genéticas é a deficiência intelectual (DI), em diferentes graus, apresentada por seus portadores. O estudo da DI, sua etiologia, associação ou não com alterações cromossômicas e um diagnóstico clínico associado ao exame de cariótipo torna-se importante ferramenta para auxiliar no aconselhamento genético das famílias. Devido a carência de estudos semelhantes e de serviços de citogenética de fácil acesso à população amazonense, o presente estudo teve como objetivo contribuir para o avanço dessa linha de estudo no Estado. Foram realizadas análises dos diagnósticos clínicos por meio de levantamento de dados em entrevista e prontuários além da análise de cariótipo de 31 indivíduos, com DI, não Síndrome de Down, atendidos pela APAE-Manaus. Destes, 20 eram do sexo feminino e 11 do sexo masculino. Os resultados obtidos apontaram apenas 2 casos de alteração cromossômica detectável pela citogenética clássica, um mosaicismo de Síndrome de Turner e uma variante heterocromática. Faz-se, portanto, necessária a complementação do estudo com adição de técnicas moleculares para a investigação de microdeleções e/ou outras alterações não detectáveis pela técnica de bandeamento empregada principalmente para os indivíduos cujos dismorfismos apontam suspeita de síndrome.

Palavras-chave: DI, citogenética clássica, banda G.

Abstract

Chromosomal aberrations are the main causes of genetic diseases. One of the characteristics of certain genetic syndromes is the intellectual disability (ID), in varying degrees, by their carriers. The study of ID, its etiology, associated or not with chromosomal alterations and a clinical diagnosis associated with the examination of karyotype becomes important tool to assist in genetic counseling of families. Due to lack of similar studies and cytogenetic services easy access to the Amazonian population, this study aimed to contribute to the advancement of this study in the State line. Analyses were performed clinical diagnosis through data collection in an interview and medical records beyond the karyotype analysis of 31 patients with ID, not Down syndrome, attended by APAE-Manaus. Of these, 20 were female and 11 male. The results showed only 2 cases of chromosome abnormalities detectable by classical cytogenetics, mosaicism of Turner syndrome and a heterochromatic variant. It is therefore necessary to complement the study with addition of molecular techniques for the investigation of microdeletions and/or other alterations not detectable by banding technique mainly used for individuals whose dysmorphisms point suspected syndrome.

Keywords: ID, classical cytogenetics, G band.

1 INTRODUÇÃO

A *American Association on Intellectual and Developmental Disabilities* (AAIDD, 2002) define Deficiência Intelectual (DI) como sendo o funcionamento intelectual inferior ou Quociente de Inteligência (QI) abaixo da média populacional associado às limitações adaptativas em pelo menos duas áreas de habilidades tais como de comunicação, autocuidado, vida no lar, adaptação social, saúde e segurança, uso de recursos da comunidade, determinação, funções acadêmicas, lazer e trabalho. A DI também é considerada um estado incompleto ou inibido de desenvolvimento do intelecto ocorrendo em cerca de 1-3% da população gerando prejuízo às funções cognitivas, linguísticas, motoras e sociais componentes da inteligência do indivíduo (LINHARES, SVARTMAN e VALADARES, 2012). Para a Organização Mundial de Saúde OMS-CID.10 (1995) a definição de DI baseia-se em critérios quantitativos de classificação e de acordo com o resultado obtidos nos testes de QI ela será classificada em leve, moderada, grave e profunda. O diagnóstico de DI é realizado por médicos e psicólogos, mas equipes interdisciplinares de instituições educacionais também podem fazê-lo conforme a demanda e o escopo institucional em que o indivíduo está inserido (DE CARVALHO e MACIEL, 2003).

Existe ainda DI a sindrômica, onde ocorre a associação com fenótipos de malformações, dismorfismos, convulsões, etc. e a não sindrômica, onde a DI é a única manifestação clínica do paciente. Nos casos de DI sindrômica a presença de outros sinais e sintomas associados permite enquadrar clinicamente o paciente em uma síndrome genética conhecida, geralmente são estes os que apresentam quadros mais graves (ROCHA, 2014). Contudo, cerca de 20-50% dos casos moderados a graves e até 80% das DI leves ainda permanecem sem diagnóstico genético (DE CARVALHO e MACIEL, 2003).

A investigação etiológica da DI é dificultada porque ela tanto pode ser causada por fatores ambientais como isquemia cerebral perinatal, síndrome fetal alcoólica, infecções pré ou pós-natais como por fatores genéticos tais como alterações cromossômicas e doenças monogênicas, ou seja, existem múltiplos fatores que podem estar relacionados à DI independente de status ou classe social, o que justifica a necessidade de inserção da DI como categoria

diagnóstica, pois ajudará na identificação, intervenção, apoio, promoção de cuidados, atendimento a direitos contribuindo positivamente na qualidade de vida do portador e familiares (INLOW e RETIFO (2004 apud ROCHA 2014); DE CARVALHO e MACIEL, 2003).

Os estudos citogenéticos têm contribuído para o diagnóstico de doenças relacionadas às alterações cromossômicas e sua relação com a deficiência intelectual. As técnicas citogenéticas utilizadas na avaliação etiológica da DI são instrumentos importantes na análise e diagnóstico de indivíduos afetados possibilitando a intervenção terapêutica precoce. Quando um diagnóstico é firmado ele pode esclarecer dúvidas e questionamentos dos pais e permitir que decisões reprodutivas sejam tomadas com o diagnóstico de certeza nos casos de aconselhamento genético (DELLA-ROSA, 2004).

Em Escolas de Educação Especial em Santiago no Chile Alliende et al, (2008) realizaram uma pesquisa incluindo 103 indivíduos com DI, não Síndrome de Down, onde apenas um deles tinha diagnóstico etiológico. Em outro estudo realizado por Abreu, (2009) em três APAES da região de Rio Preto em São Paulo 12,1% dos indivíduos afetados por DI apresentavam alterações cromossômicas, onde 90,2% eram numéricas e, na maioria, trissomia do cromossomo 21. Na pesquisa realizada por Storniolo et al., (2011), verificou-se em uma amostra de estudantes da APAE de São Carlos, com Deficiência Intelectual (DI) de etiologia não esclarecida desenvolvida com 51 pacientes, 13 situações onde foi possível estabelecer a etiologia da DI; 2 com histórico clínico sugerindo DI ligada ao cromossomo X; e 36 onde a etiologia não foi confirmada.

As pesquisas em Citogenética Humana e/ou Clínica na capital amazonense ainda são bastante escassas, existindo um número restrito de laboratórios com atendimento específico de análise de cariótipo em setores públicos e, mesmo no setor privado não é comum esse tipo de prestação de serviço, inviabilizando o acesso às camadas mais populares de um serviço de diagnóstico clínico para indivíduos com DI, não Síndrome de Down, somado à análise citogenética (avaliação de cariótipo) e sua possível associação ou não com alguma alteração cromossômica.

4 MATERIAL E MÉTODOS

O presente estudo foi submetido e aprovado pelo Comitê de Ética e Pesquisa da Universidade do Estado do Amazonas conforme parecer consubstanciado CEP-UEA 1.475.898.

A Amostra

Foram incluídos indivíduos com Deficiência Intelectual, não Síndrome de Down, atendidos pelo Centro de Atendimento Sócio Pedagógico Ilza Garcia - APAE/Manaus. De uma população composta por 61 indivíduos aptos a compor a amostra, apenas 31 foram coletados sendo 20 do sexo feminino e 11 do sexo masculino com idades entre 9 e 53 anos.

Todos os pais ou responsáveis legais assinaram um Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE) (Anexo) e, em seguida passaram por uma triagem diagnóstico-clínica realizada por meio de um questionário em forma de Ficha Diagnóstica (Anexo), onde cada indivíduo recebeu um código de identificação (APAE-01 a APAE-31) e onde foram coletados dados pessoais, histórico de doença, dados de gravidez, parto, consanguinidade e distúrbios. Também foram analisados os prontuários médicos dos indivíduos para averiguação de triagem psicológica ou neurológica que apontasse o grau de DI desses indivíduos. Esses dados foram tabulados e analisados por meio de programa computacional Excel 2016®.

A Coleta, Cultura e Análise de Cariótipo

Foram coletados 5mL de amostra de sangue de cada indivíduo por profissional capacitado da área de saúde. A cultura de linfócitos foi realizada segundo a técnica de Moorhead et al. (1960) com alterações. Os 5mL de sangue coletados de cada amostra foram transferidos para dois tubos heparinizados devidamente identificados e colocados na posição vertical, em temperatura ambiente, no fluxo laminar esterilizado. Em seguida foram colocados 500µL de sangue periférico total em meio cultura completo composto por 8mL de RPMI 1640 (Gibco/Invitrogen ref. 22400-089); 2mL de Soro Bovino Fetal (Gibco/Invitrogen ref. 1600-044); 200µL de L-Glutamina (Gibco/Invitrogen ref. 21051-024) a 0,03%; 200µL de Fitohemaglutinina (Gibco/Invitrogen

ref.10576-015); 10 μ L de Antibiótico + Antimicótico (100X) (Gibco/Invitrogen ref.15240-096). A cultura foi então incubada por 72 horas em estufa a 37C. Cinquenta minutos antes de completar as 72h de incubação da cultura, foram acrescentados 60 μ L de Colcemide® (Gibco/Invitrogen ref.15212-012). Ao se completarem 72 horas, o material foi retirado da estufa para o processamento das culturas. Para a hipotonização foi utilizada uma solução 0,075M de KCl, adicionada à cultura de 1 em 1mL até o volume final de 10mL, sendo homogeneizada a cada adição. A fixação foi feita com metanol (Merck) e ácido acético (Merck) na proporção de 3:1. Para a extensão do material, este foi pingado sobre lâminas lavadas, guardadas em água para injetáveis gelada, , passando-as duas vezes sobre chama e acondicionadas para secagem ao ar.

Para a análise cromossômica foi utilizada a técnica de bandas G (Seabright,1971, com modificações). A análise dos cariótipos foi realizada ao microscópio de luz NIKON Eclipse E200, sendo observadas em média de 20 a 30 metáfases por indivíduo, em casos de suspeita de mosaicismo esse número foi elevado par 50. Posteriormente foi realizada a captura das imagens e montagem dos cariótipos com o auxílio do software GeneAll-HD e os resultados avaliados de acordo com as normas do *International System for Human Cytogenetic Nomenclature* (ISCN, 2013).

5 RESULTADOS

No ano de 2015 o Centro de Atendimento Sócio Pedagógico Ilza Garcia. APAE/Manaus atendeu 61 indivíduos com DI, não Síndrome de Down, cujas idades variavam entre 09 a 53 anos e sem diagnóstico clínico definido, sendo elegíveis para este estudo; dentre eles, 31 (51,67%) fizeram parte da amostra após a assinatura do TCLE.

Análise dos Dados Diagnóstico-Clínicos

Na amostra, o sexo feminino foi mais prevalente, 64,52% (20/31) dos indivíduos, na proporção de 1,8:1 em relação ao sexo masculino. A média da idade foi 31,29 anos [desvio padrão (DP): 11,45], com mediana de 29 (9 - 53) anos.

Quando questionados a respeito dos antecedentes pré e perinatais 9,67% (3/31) das genitoras afirmaram exposição a teratogênicos ou abortivos, como álcool, drogas, tabagismo e ocitocina. As informações perinatais mostraram que a maioria dos pacientes nasceu de parto a termo [74,2% (23/31)], pré-termo [12,9% (4/31)] e pós-termo [(12,9% (4/31)]. Em 87,1% (27/31) dos relatos foi indicada a realização de parto do tipo vaginal, o parto cesariano teve ocorrência em 12,9% (4/31) dos casos.

Quanto aos antecedentes familiares a consanguinidade parental foi negada por 83,87% (26/31) dos entrevistados; 3 (9,67%) afirmaram haver consanguinidade; 1 (3,23%) não pôde fornecer o dado pelo fato de se tratar de adoção na família e 1 (3,23%) não respondeu. Outros casos de DI na família foi relatado em 61,29% (19/31). Quando do exame clínico ambulatorial para detecção e classificação da DI verificou-se que 13 (41,94%) foram realizados por neurologista, 13 (41,94%) por neuro e psicólogo, 2 (6,45%) por psicólogo e 3 (9,67%) não apresentavam avaliação (Tabela 1). Dentre estes apenas os 3 analisados apenas por psicólogo haviam realizado teste de QI. Entretanto, as DI verificadas foram classificadas pelos profissionais em Leve (25,8%), Moderada (25,8%), Severa (6,45%) e Não especificada (41,94%) conforme descrito na Tabela 2.

Tabela 1. Frequência de avaliação diagnóstica de DI por profissional qualificado e ocorrência de teste de QI

Profissional	N	%
Neurologista	13	41,94
Psicólogo	2	6,45
Neurologista e Psicólogo	13	41,94
Sem avaliação	3	9,67
Aplicação de teste de QI		
Com teste de QI	3	9,67
Sem teste de QI	28	90,32

Tabela 2. Frequência da classificação de DI atribuída por profissional da área

Classificação de DI	N	%
DI Leve	8	25,8
DI Moderada	8	25,8
DI Severa	2	6,45
DI Não especificada	13	41,94

Na realização do exame físico, constatou-se que 83,87% (26/31) dos probandos apresentaram ao menos uma alteração dismorfológica. Dois não tiveram o exame físico realizado, representando 6,45%, e três (9,67%) apresentaram DI isolada. O número absoluto e a frequência dos indivíduos que apresentaram ao menos uma alteração por segmento corporal estão explicitados na Tabela 3, bem como a enumeração dos dismorfismos mais comuns. O segmento cefálico foi o mais acometido (51,6%), sendo os achados mais frequentes: face alongada, fronte ampla, microcefalia, macrocefalia, assimetria facial, disgnatia, prognatismo, micrognatia, macrognatia, palato ogival, orelhas baixo implantadas, orelhas simplificadas, hipo e hipertelorismo ocular.

Tabela 3. Distribuição dos casos estudados, segundo a presença de pelo menos um dismorfismo por segmento corporal

Segmento corporal	N (%)	Dismorfismo mais frequente por segmento corporal
Cefálico (Crânio + face)	16 (51,6)	Face alongada, fronte ampla, microcefalia, macrocefalia, assimetria facial disgnatia, prognatismo, micrognatia, macrognatia, palato ogival, orelhas baixo implantadas, orelhas simplificadas, hipo e hipertelorismo ocular.
Tórax	5 (16,1)	Escapula alada, escoliose, lordose.
Membros Superiores	7 (22,6)	Comptodactilia, clinodactilia, mão pequenas.
Membros Inferiores	4 (12,9)	Pés planos.

Tabela 4. Casos de alterações cromossômicas detectados pela citogenética clássica

Síndrome	Alteração cromossômica	Cariótipo	Nº de casos
Turner	Mosaico	46,XX/45, X	1
	Variação heterocromática	46,XY, 9qh+	1

Análise Citogenética

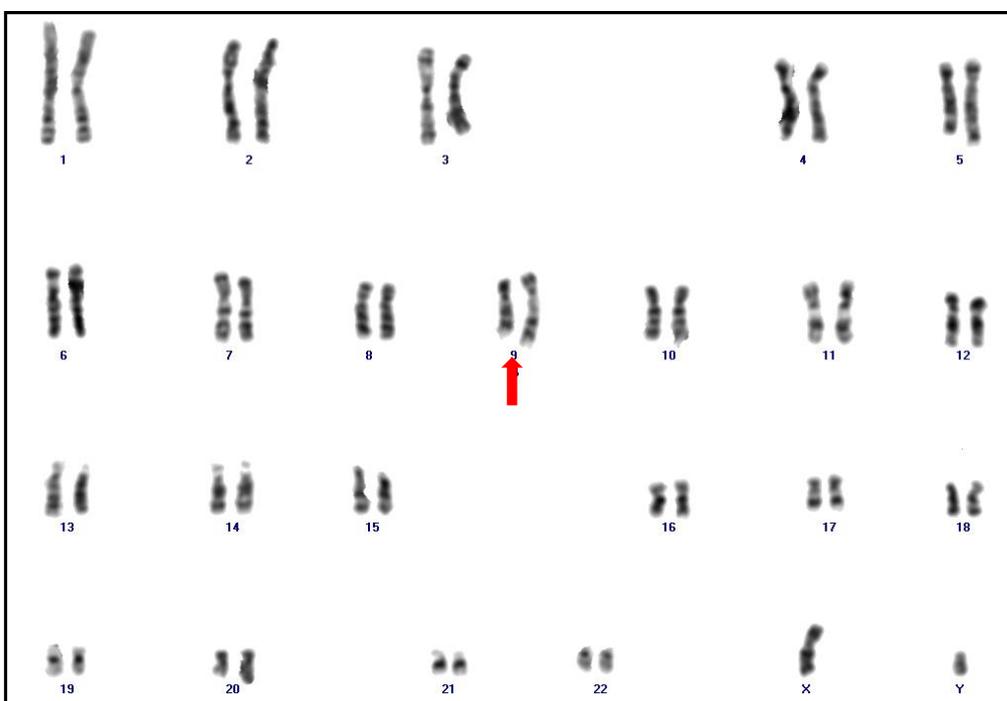
A análise de cariótipo foi realizada em todas as amostras; dentre as quais 2 (6,45%) apresentaram exames alterados (Tabela 4). As manifestações clínicas das alterações cromossômicas detectadas pela citogenética clássica, para cada indivíduo, estão descritas adiante.

Caso APAE-09, indivíduo do sexo masculino, 28 anos, classificado como portador de DI não especificada, apresentou ao exame físico fronte ampla, queixo pontudo, hipotelorismo ocular e estrabismo; nariz com base larga, ponte baixa e ponta para baixo; orelhas simplificadas; membro superior: dignatia,

clinodactilia de 5º dedo. A alteração cromossômica detectada foi 46,XY, 9qh+ (Figs. 01 e 02).

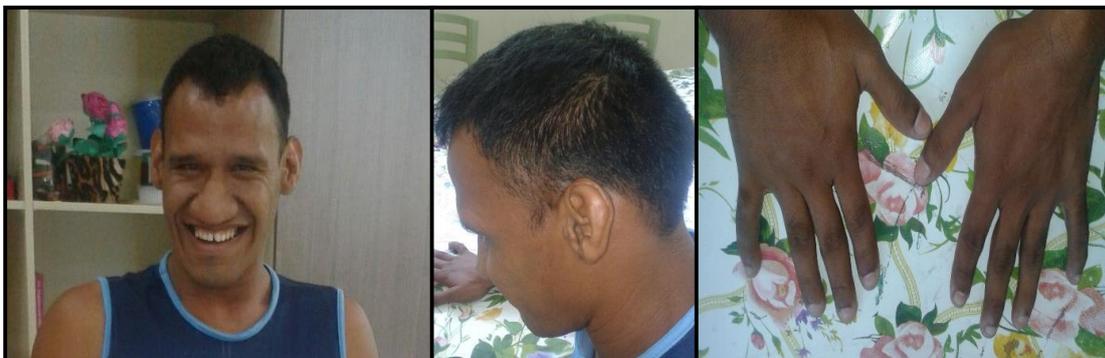
Caso APAE-17, indivíduo do sexo feminino, 46 anos, classificado como portador de DI Moderada, apresentou ao exame físico nariz grande com base alongada, comptodactilia, escapula alada e baixa estatura. A análise de cariótipo revelou a alteração 46,XX/45,X (Figs.03 e 04) configurando mosaicismo de Síndrome de Turner na proporção de 10% em 50 metáfases analisadas.

Figura 01. Cariótipo do caso APAE-09, 46,XY, 9qh+.



Fonte: Imagem capturada utilizando o software GeneAll-HD®

Figura 02. Caracteres dismórficos encontrados no caso APAE-09



Fonte: acervo próprio.

Figura 03. Caso APAE-17. Cariótipo característico de Síndrome de Turner (45,X)



Fontes: acervo próprio e <http://aprenderaaprender.webnode.com.br/album/muta%C3%A7%C3%A3o%20e%20genetica/genetica-cariotipo-de-portador-da-sindrome-de-turner-jpg/>

Figura 04. Caracteres dismórficos encontrados no caso APAE-17



Fonte: acervo próprio.

6 DISCUSSÃO

No presente estudo a distribuição de frequência quanto ao sexo dos pacientes demonstrou a predominância do sexo feminino em relação ao sexo masculino na proporção de 1,8:1, contrariando a proporção descrita na literatura tanto em estudos relacionados a alterações genéticas de uma maneira geral (VASCONCELOS, 2004), quanto em casos como o estudo realizado por Storniolo et al., (2011) onde amostra era composta de estudantes com DI de uma APAE em São Carlos. Na literatura a prevalência masculina deve-se principalmente à grande quantidade de condições ligadas ao X que cursam com DI, pois o genoma masculino é mais vulnerável a mutações nesse cromossomo pela ausência de um alelo (LUBS, STEVENSON e SCHWARTZ, 2012). Esta discordância pode ser atribuída ao fato de amostra ser diferenciada não incluindo neste estudo os indivíduos com Síndrome de Down, que são a maioria na Instituição-alvo da coleta.

Sabe-se que o diagnóstico de DI ϕ fica reservado às pessoas acima de 5 anos de idade, cujo QI pode ser testado (MOESCHLER e SHEVELL, 2006), e depende da presença de desempenho cognitivo abaixo da média associado a *déficit* adaptativo, com manifestação anterior aos 18 anos (AAP, 1994). Pessoas com idade inferior são classificadas como portadoras de atraso no desenvolvimento neuropsicomotor (ADNPM). Neste estudo, o que se pôde inferir foi que os profissionais focaram principalmente no exame clínico, pois apenas três indivíduos realizaram o teste de QI. Os outros foram classificados de acordo com o que o profissional aferiu no ambulatório e atestou no prontuário, uma prática bem comum em centros de saúde e afins. Seguindo esse raciocínio as DI ϕ , neste trabalho, foram assim classificadas: 41,94% não puderam ser especificadas, 25,8% foram classificadas como Leve, 25,8% Moderada e 6,45% Severa. Estes resultados foram diferentes dos achados de Storniolo et al., (2011) onde houve predomínio de pacientes com DI de grau moderado (54,90%), seguido de DI severa (21,57%).

Na amostra estudada, foi alta a prevalência de casos de DI associada a alteração física, característica apontada na literatura como sendo de DI sindrômica (ROCHA, 2014). As alterações faciais foram as mais frequentes entre os pacientes atendidos, destacando-se a observação pormenorizada das características sindrômicas, pois as dismorfias faciais são as que mais

contribuem para o diagnóstico de síndromes já descritas na literatura (CURRY *et. al.*, 1997; VAN KARNEBEEK *et. al.*, 2005).

A presença de consanguinidade parental foi negada na maioria dos casos, bem como história familiar de acometimento neuropsiquiátrico. A recorrência familiar é reportada na literatura associada a casos de DI moderado a severo (ELLISON, ROSENFELD e SHAFFER, 2012), sendo incomum a descrição de famílias com muitos indivíduos afetados, o que ocorre mais frequentemente em condições ligadas ao X (TOPPER, OBER e DAS, 2011). Para DI idiopática, história familiar positiva é descrita em 3% a 7% dos casos (EDELDMANN e HIRSCHHORM, 2009).

O exame de cariótipo é recomendado como passo inicial na investigação laboratorial de casos de DI (WOLSTENHOLME, 1992; LINHARES, SVARTMAN e VALADARES, 2012). Uma revisão sistemática (VAN KARNEBEEK *et. al.*, 2005). Demonstrou que em vários estudos, são encontradas alterações cromossômicas, em média, em 10% dos pacientes analisados. No presente trabalho o percentual encontrado foi de 6,45% de casos apresentando algum tipo de anormalidade cromossômica. Isto também pode ser devido a especificidade da amostra em questão, levando em conta o fato da não inclusão dos indivíduos portadores de síndrome de Down, pois se comparado ao estudo realizado por Abreu, (2009) em três APAES da região de Rio Preto em São Paulo onde 12,1% dos indivíduos afetados por DI apresentaram alterações cromossômicas e destas 90,2% eram numéricas, com maior prevalência da trissomia do cromossomo 21 observada em 77,2% dos casos, este fato é claramente evidenciado.

A presença de grande número de achados no exame dismorfológico (>6) é descrita em associação com alteração cromossômica (MOESCHLER e SHEVELL, 2006), fato confirmado no caso de mosaïcismo detectado neste estudo; entretanto, muitos dos pacientes cujo estudo de cariótipo resultou normal também apresentavam dismorfismos em número superior a seis, sugerindo uma investigação mais detalhada para estes indivíduos com exames complementares utilizando técnicas de citogenética molecular.

Quanto às alterações encontradas, apenas caso APAE-17 é considerado como portador de alteração cromossômica pela literatura, pois o cariótipo encontrado apontou para um mosaico da Síndrome de Turner, alteração

cromossômica onde há apenas um cromossomo X funcional cuja constituição cromossômica encontrada é 45, X. A ST, de acordo com a literatura, possui incidência de 1/2500 meninas (CHVATAL, BÖTTCHER-LUIZ e TURATO, 2009; JUNG *et. al.*, 2009; SANTOS *et. al.*, 2010) e algumas características dismorfológicas que ajudam a compor o fenótipo tais como pescoço curto e alado, baixa implantação de cabelos na nuca, tórax em escudo, baixa estatura etc., podem ainda apresentar problemas de deficiência auditiva, distúrbios visuais, dificuldade de aprendizado e infertilidade, entre outros distúrbios renais e cardíacos (JUNG *et. al.*, 2009; SANTOS *et. al.*, 2010). No caso APAE-17 os achados dismorfológicos encontrados condizem com alguns aspectos do fenótipo descrito na literatura, pois a mesma apresentou pescoço curto e alado, baixa estatura e dificuldade de aprendizado. Esta síndrome possui grande variabilidade fenotípica podendo manifestar-se desde a forma mais clássica em que os distúrbios são claramente evidenciados até aquelas com poucos sinais de distúrbios, e esta última dificulta o prognóstico (CARVALHO *et. al.*, 2010). No caso de mosaïcismo a literatura refere dois tipos XX/X0 e XXY/X0, porém nos casos de XX/X0 as características dismórficas para a ST encontram-se atenuadas (LIPPE, 2008; WYSS *et. al.*, 2010; RAO *et. al.*, 2011). No caso encontrado neste estudo além do mosaïcismo ser XX/X0, a proporção celular de células em mosaico foi de 10% o que explica o fenótipo apresentar, de maneira atenuada, os distúrbios característicos para esta síndrome.

Quanto ao caso APAE-09, a alteração encontrada, é na realidade o que a maioria das referências considera casos comuns de variação da heterocromatina em cariótipos normais (JOHN, 1998; COLOMBO, FETT-CONTE e SILVA, 2000), ou seja, não representa grandes problemas para seus portadores. Entretanto, existem trabalhos que citam indivíduos portadores de heterocromatina aumentada do cromossomo 9 (9qh+), como no caso encontrado, apresentando maior risco de uma concepção cromossomicamente anormal (NIELSEN *et al.*, 1974), outros sugerem que a diferença entre pares homólogos poderiam dificultar o pareamento ou a não-disjunção predispondo os portadores do heteromorfismo a desenvolver deficiência intelectual entre outros (COLOMBO, FETT-CONTE e SILVA, 2000) sugerindo maiores investigações a respeito.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABREU, L. S. **Estudo citogenético de indivíduos afetados por Deficiência Mental em três APAES da região de Rio Preto.** Dissertação de Mestrado em Ciências pelo Programa de Pós-Graduação em Genética da Universidade de São Paulo. Ribeirão Preto, 2009.

ALLIENDE, M. A. et al. Búsqueda de afecciones genéticas como etiología de déficit intelectual en individuos que asisten a escuelas de educación especial. **Rev Méd Chile.** 136: 1542-51, 2008.

ASSOCIAÇÃO AMERICANA DE PSIQUIATRIA. **Manual Diagnóstico e Estatístico de Transtornos Mentais.** AAP,1994.

CARVALHO, A.B. et. al. Turner syndrome: a pediatric diagnosis frequently made by non-pediatricians. **J Pediatr.** 86: 121-5, 2010.

COLOMBO, J.; FETT-CONTE, A. C.; SILVA, A. E. Polimorfismos cromossômicos das regiões de heterocromatina constitutiva e organizadora do nucléolo em distúrbios autísticos e síndrome de Down. **Revista Hb Científica.** 7(1), 2000.

CHVATAL, V. L. S.; BÖTTCHER-LUIZ, F.; TURATO, E. R. Respostas ao adoecimento: mecanismos de defesa utilizados por mulheres com Síndrome de Turner e variantes. **Ver Psiq Clin.** 36(2): 43-7, 2009.

CURRY, C, J. et. al. Evaluation of mental retardation: recommendation of a consensus. **Am C Med Genet.** 72(4):468-77, 1997.

EDELMANN, L.; HIRSCHHORM, K. Clinical utility of array GCH for the detection of chromosomal imbalances associated with mental retardation and multiple congenital anomalies. **Ann N Y Acad Sci.** 1151: 157-66, 2009.

ELLISON, J. W.; ROSENFELD, J. A.; SHAFFER, L. G. Genetic basis of intellectual disability. **Annu Rev Med.** 64(9): 1-10, 2012.

JOHN, B. The biology of heterochromatin. In: VERMA, R. S. **Heterochromatin molecular and structural aspects.** New York: Cambridge University Press; 1998, p. 74-128

JUNG, M. de P. et. al. Revisitando o desvendamento da etiologia da Síndrome de Turner. **História , Ciência e Saúde.** 16(2):361-76, 2009.

LINHARES, N.; SVARTMAN, M.; VALADARES E. Diagnóstico citogenético de pacientes com retardo mental idiopático. **J. Bras Patol Med Lab.** vol. 48, n. 1, p. 33-39. 2012.

LIPPE, B.M. Turner syndrome. In: SPERLING, M (ed). **Pediatric Endocrinology.** 3rd. ed. Philadelphia: Saunders; 2008, p. 387.

LUBS, H. A.; STEVENSON, R. E.; SCHWARTZ, C. E. Fragile X and X-linked intellectual disability four decades of discovery. **Am J Hum Genet.** 90: 579-90, 2012.

MOESCHLER, J. B.; SHEVELL, M. Clinical genetic evaluation of the child with mental retardation or developmental delays. **Pediatrics.** 117(6): 2304-16, 2006.

RAO, E et. al. Pseudoautosomal deletions encompassing a novel homeobox gene cause growth failure in idiopathic short stature and Turner syndrome. **Nat genet.** 16: 54063, 2011.

ROCHA, N. **Busca de microrrearranjos no cromossomo X em meninos com deficiência intelectual.** Dissertação de Mestrado em Ciências da Saúde pelo Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde da Universidade de Brasília. Brasília, 19 de fevereiro de 2014.

SANTOS, V. et. al. Turner syndrome. From child to adult. A multidisciplinary approach. **Acta Med Port.** 23; 873-82, 2010.

STORNILOLO, L. M. et al. Aconselhamento genético de famílias de pacientes com deficiência intelectual da APAE de São Carlos, São Paulo, Brasil. **Cad. Saúde Colet.** 19 (3): 375-83, 2011.

TOPPER, S.; OBER, C.; DAS, S. Exome sequencing and the genetic of intellectual disability. **Clinical Genetics.** 80: 117-26, 2011.

VASCONCELOS, M.M. Retardo Mental. **J de Pediatria.** 80(Supl 2): 71-82, 2004.

VAN KARNEBEEK, C. D. M. et. al. Diagnostic investigations in individuals with mental retardation: a systematic literature review of their usefulness, **Eur J Med Genet.** 13: 6-25, 2005.

WYSS, D et. al. Structural anomalies of the X chromosome: Personal observation and review of non-mosaic cases. **Clin Genet.** 21; 145-59, 2009.

WOLSTEHOLME, J. An Introduction to Human Chromosome and their analysis. In: ROONEY, D. E.; CZEPULKOWSKI, B. H. **Human Cytogenetics É Constitucional Analysis: A Practical Approach.** Oxford: Oxford University Press, 1992, p. 1-120.

CONCLUSÃO

Neste estudo foi possível perceber a grande variabilidade de apresentação da deficiência intelectual. A amostra foi composta por casos de diversos níveis de gravidade de DI, bem como variados padrões de acometimento sindrômico. A mesma não foi maior em virtude primeiro do fator de inclusão ser o de não apresentar Síndrome de Down em uma instituição cujo maior público pertence a esta classe, além de alguns que atendiam ao critério, mas não houve interesse dos responsáveis em participar. Esse mesmo fator pode ter contribuído para a frequência de casos de DI neste estudo em mulheres ter maior prevalência, diferente de outros estudos. A disparidade nas idades dos probandos deveu-se principalmente ao fato de a maioria ser composta de pessoas que estão na Instituição há bastante tempo e poucos recém-chegados estão na faixa etária juvenil.

Os dismorfismos encontrados foram importantes para nortear a investigação sugerindo a priori uma hipótese diagnóstica para cada caso.

A técnica de bandeamento G foi realizada com sucesso possibilitando a detecção de mosaicismos e variantes de heterocromatina. O número baixo de alterações encontradas sugere, para estes casos, a existência de outros fatores além da genética como causa de DI ou ainda que haja alterações não detectáveis pela técnica empregada, sendo necessários exames complementares incluindo a utilização de técnicas moleculares para os indivíduos cujos fenótipos dismorfológicos apontem para algum tipo de síndrome.

REFERÊNCIAS

ABREU, L. S. **Estudo citogenético de indivíduos afetados por Deficiência Mental em três APAES da região de Rio Preto**. Dissertação de Mestrado em Ciências pelo Programa de Pós-Graduação em Genética da Universidade de São Paulo. Ribeirão Preto, 2009.

ALLIENDE, M. A. et al. Búsqueda de afecciones genéticas como etiología de déficit intelectual en individuos que asisten a escuelas de educación especial. **Rev Méd Chile**. 136: 1542-51, 2008.

ALMEIDA, A. C.; MACENTE, S.; OLIVEIRA, K.B. Frequência de Anormalidades Cromossômicas em indivíduos atendidos em um Laboratório de Análises Moleculares em Maringá . PR. **Revista Saúde e Pesquisa**. v. 6, n. 3, p. 431-37. 2013.

AMERICAN ASSOCIATION ON MENTAL RETARDATION. **Mental retardation: definition, classification, and systems of supports**. Washington, DC, USA: AAMR, 2002.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE ASSISTÊNCIA E DESENVOLVIMENTO SOCIAL. **O que é a deficiência intelectual?** Disponível em: http://www.abads.org.br/view_materia.php?i=158&s=58. Acesso em: 23 de abril de 2015.

BASEI, F. L. et al. **Avaliação e caracterização de aberrações cromossômicas no laboratório de citogenética do hospital universitário Ë UFSC 2002**. Disponível em:

<https://periodicos.ufsc.br/index.php/extensio/article/viewFile/1344/4373>. Acesso em: 05.05.2014

BENASAYAG, S.; GALLINO, M. Bases citogenéticas para la práctica hematológica de lo supuesto a lo expuesto em nomenclaura citogenética. **HEMATOLOGIA**. Vol. 14 Nº 2: 58-68. 2010.

BICKMORE, W. Karyotype Analysis and Chromosome Banding. **ENCYCLOPEDIA OF LIFE SCIENCES**. Nature Publishing Group. 2001.

BORGES-OSÓRIO, M. R.; ROBINSON, W. M. **Genética humana**. 2. ed. Porto Alegre: Artmed, 2001.

CANDEIAS, C. **Alterações dos Cromossomas Sexuais em Mulheres com Suspeita Clínica de Cromossomopatia**. Dissertação de Mestrado (Faculdade de Ciências da Universidade do Porto), Porto, 2012.

CASPERSSON, T. et al. Chemical differentiation along metaphase chromosomes. **Expl Cell Res**. Jan;49(1):219-22. 1968.

CASPERSSON, T.; ZECH, L. JOHANSSON, C. Differential binding of alkylating fluorochromes in human chromosomes **Expl Cell Res.** Jun;60(3):315-9. 1970.

CASPERSSON, T.; LOMAKKA, G.; ZECH, L. The 24 fluorescence patterns of the human metaphase. **Hereditas.** 67(1):89-102. 1972.

CENSO DEMOGRÁFICO 2010. **Características gerais da população, religião e pessoas com deficiência.** Rio de Janeiro: IBGE, 2012. Disponível em:
http://biblioteca.ibge.gov.br/visualizacao/periodicos/94/cd_2010_religiao_deficiencia.pdf. Acesso em: março de 2015.

CLARK, R. J.; FELSENFELD, G. Association of arginine-rich histones with GC-rich regions of DNA chromatin. **Nature (New Biol)** 240: 226-27, 1972.

COMINGS, D. E.; AVELINO, E.; OKADA, T.; WYANDT, H. E. TG, P. R. L. The mechanism of C-and G-banding of chromosomes. **Exp Cell Res.** 77: 469-93, 1973.

DANIEL, A.; LAM-PO-TAN, P. R. L. C. Mechanism for the chromosome banding phenomenon. **Nature.** 244: 358-59, 1973.

DE CARVALHO, E.; MACIEL, D. Nova concepção de deficiência mental segundo a American Association on Mental Retardation - AAMR: sistema 2002. **Temas em Psicologia da SBP.** vol. 11, n. 2, 147. 56. 2003.

DECLARAÇÃO DE MONTREAL SOBRE A DEFICIÊNCIA INTELECTUAL. Montreal . Canadá OPS/OMS - 06 de outubro de 2004. TRADUÇÃO: Dr. Jorge Márcio Pereira de Andrade, Novembro de 2004. Disponível em: <http://www.adiron.com.br/arquivos/Montreal.pdf>. Acesso em: 09/08/2014.

DELLA-ROSA, V. A. et al. Oito Anos de Citogenética Clínica na Universidade Estadual de Maringá: Integrando Ensino e Pesquisa. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE EXTENSAO UNIVERSITÁRIA, 2., 2004, Belo Horizonte, **Anais**, Belo Horizonte: Universidade Estadual de Maringá . UEM, 2004. Disponível em: <https://www.ufmg.br/congrent/Saude/Saude123.pdf>. Acesso em: 09/08/2014.

DRETS, E.; SHAW, M. Specific banding patterns in human chromosomes. **Proc Natl Acad Sci U.S.A.** Sep; 68(9): 2073-7. 1971

FORD, C. E.; HAMERTON, J. L. The Chromosomes of Man. **Nature.** 178:1020-3, 1956.

FORD, C. E.; HAMERTON, J. L. A colchicines, hypotonic citrate, squash sequence for mammalian chromosomes. **Stain Technol.** Nov; 31 (6): 247-51. 1956.

FRAGA, D.; VAIRO, F.; MALUF, S. Alterações cromossômicas numéricas. In: MALUF, S.W. et al. **Citogenética Humana.** Porto Alegre: Artmed, 2011. cap. 7

GUERRA, M. Heterocromatina e bandeamento cromossômico. In: _____. **Introdução à Citogenética Geral**. Rio de Janeiro: Guanabara, 1988.

HOFFE, P. A. **Genética Médica Molecular**. Rio de Janeiro: Guanabara/Koogan, 2000.

HSU, T. C. Mammalian chromosomes in vitro: I. The karyotype of man. **J Hered.** Jul; 43 (4): 167-72. 1952.

HSU, T.C.; POMERAT C.M. Mammalian chromosomes in vitro: II. A method for spreading the chromosomes of cells in tissue culture. **J Hered.** Jan; 44(1):123-95. 1953.

KASAHARA, S. **Práticas de Citogenética**. Rio claro: [s.n.], 2003. 96 f.

LICHTER, P. et al. Delineation of individual human chromosomes in metaphase and interphase cells by in situ suppression hybridization using recombinant DNA libraries. **Human Gent.** 80(3): 224-34, 1988.

LINHARES, N.; SVARTMAN, M.; VALADARES E. Diagnóstico citogenético de pacientes com retardo mental idiopático. **J. Bras Patol Med Lab.** vol. 48, n. 1, p. 33-39. 2012.

MAIA, A. C. B.; FONSECA, M. L. Quociente de Inteligência e Aquisição de Leitura: Um Estudo Correlacional. **Psicologia: Reflexão e Crítica.** 15(2), pp 261-70. 2002.

MATTTEVI, M.; MIRANDA, J. História da citogenética clínica. In: MALUF, S.W. et al. **Citogenética Humana**. Porto Alegre: Artmed, 2011. cap. 1

MCKAY, R. D. G. The mechanism of G and C banding in mammalian metaphase chromosome. **Chromosoma.** 44: 1-14, 1973.

MERGENER, R.; LUDWIG, L.; MALUF, S. Alterações cromossômicas estruturais. In: MALUF, S.W. et al. **Citogenética Humana**. Porto Alegre: Artmed, 2011. cap. 8

MIRANDA, J.; MATTTEVI, M. Técnicas de bandeamento e coloração cromossômica. In: MALUF, S.W. et al. **Citogenética Humana**. Porto Alegre: Artmed, 2011. cap. 6

MICHAELIS: **moderno dicionário da língua portuguesa**. São Paulo: Companhia Melhoramentos, 2259p. 1998.

MOHAMED, A. M. et al. Intellectual Disability Secondary to a 16p13 Duplication in a 1;16 Translocation. Extended Phenotype in a Four-Generation Family. **Am J Med Genet Part A.** 167A: 128-36. 2014.

MOORHEAD, P. S. et al. Chromosome preparations of leukocytes cultured from human peripheral blood. **Exp. Cell Res.** 20:613-616. 1960.

MYTHILI, K.; KUMARI, V. J. Cytogenetic Analysis of Mentally Retarded Patients in Srikakulam. **Int J Hum Genet.** 11(3): 183-92. 2011.

MUNDHOFIR, F. et al. A cytogenetic study in a large population of intellectually disabled Indonesians. **Genet Test Mol Biomarkers.** 16(5):412-7, 2012.

NASIRI, F. et al. Cytogenetic findings in mentally retarded iranian patients. **BJMG** 15/2 29-34, 2012.

ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DE SAÚDE. **CID-10.** OMS. 2ª. Ed. Editora da Universidade de São Paulo. SP, 1995.

ORGANIZAÇÃO DAS NAÇÕES UNIDAS - ONU. **Intellectual disability: programs, policies, and planning for the future.**[Simpósio internacional promovido por The National Institute of Child Health and Human Development, The Joseph P. Kennedy, Jr. Foundation, e The 1995 Special Olympics World Games]. Nova York, 30 de junho de 1995.

PINKEL, D.; STRAUME, T.; GRAY, J. W. Cytogenetic analysis using quantitative, high-sensitivity, fluorescence hybridization. **Proc Natl Acad Sci USA.** 83(9): 2934-8, 1986.

RAJASEKHAR, M. et al. A Cytogenetic Study of Children with Developmental Delay Mental Retardation. **Int J Hum Genet.** 11(2): 89-92 ,2011.

ROCHA, N. **Busca de microrrearranjos no cromossomo X em meninos com deficiência intelectual.** Dissertação de Mestrado em Ciências da Saúde pelo Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde da Universidade de Brasília. Brasília, 19 de fevereiro de 2014.

SEABRIGTH, M. A rapid banding technique for human chromosomes. **Lancet.** 2: 971-72, 1971.

SHUH, B.E.; KORF, B. R.; SALWEN, M. J. Dynamic aspects of trypsin-Giemsa banding. **Humangenetik.** 28: 233-38, 1975.

STORNILO, L. M. et al. Aconselhamento genético de famílias de pacientes com deficiência intelectual da APAE de São Carlos, São Paulo, Brasil. **Cad. Saúde Colet.** Rio de Janeiro, 19 (3): 375-83, 2011.

TALLANTYRE, E.; ROBERTSON, N. P. Autism and intellectual disability. **Journal of neurology.** v. 260, n. 3, p. 936. 9, mar. 2013.

TJIO, J. H.; LEVAN, A. The chromosome numbers of man. **Hereditas.** May;42(1-2): 1-6. 1956.

TRACHOO, O. et al. Chromosome 20p inverted duplication deletion identified in a Thai female adult with mental retardation, obesity, chronic kidney disease and

characteristic facial features. **European Journal of Medical Genetics**. 56: 319-24. 2013.

VASCONCELOS, B. et al. Anormalidades cromossômicas nos pacientes atendidos em serviço de genética. **Revista de Pediatria**. São Paulo, v. 29, n. 1, p. 26-32, 2007.

ANEXOS

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Pelo presente instrumento que atende às exigências legais (**Resolução CNS nº 196, de 10 de outubro de 1996**) estamos desenvolvendo uma pesquisa intitulada: **Diagnóstico Citogenético em indivíduos com Déficit Intelectual (DI), não Síndrome de Down**.

Com a mesma pretendemos realizar a análise do sangue de indivíduos com DI para avaliação das características do cariótipo. Assim, gostaríamos de convidá-lo a participar, permitindo que coletemos fotos, dados pessoais, histórico clínico e sangue seu(a) filho(a) de acordo com as cláusulas descritas a seguir.

Cláusulas para participação no Projeto:

1. A natureza e o objetivo do projeto de pesquisa, foram explicadas a mim/a meu filho
2. Compreendo que eu (ou meu filho) poderei **não** ter benefício direto no estudo
3. Entendo que os possíveis riscos e/ou efeitos adversos, desconfortos e inconveniências, foram explicados a mim: dor e/ou tontura passageira na hora da coleta do sangue
4. Compreendo que, apesar das informações obtidas no estudo poderem ser publicadas, elas serão confidenciais e eu (ou meu filho) não serei identificado a partir delas
5. Compreendo que posso me retirar (ou retirar meu filho) do estudo em qualquer etapa e que isto não irá afetar os cuidados médicos ou quaisquer outros aspectos da relação minha (ou do meu filho) com esta Instituição
6. Compreendo que não haverá pagamento para mim (ou meu filho)
7. Tive a oportunidade de discutir a minha participação (ou de meu filho) neste projeto de pesquisa com um membro da família ou amigo e/ou tive a oportunidade de ter um membro da família ou amigo presente enquanto o projeto de pesquisa estava sendo explicado pelo pesquisador
8. Estou ciente de que terei uma cópia deste Termo de Consentimento a qual deverei guardar
9. Concordo com a coleta de sangue de meu/minha filho(a) e com sua utilização no projeto acima
10. Estou ciente que os resultados desta análise do sangue coletado (análise de cariótipo) pode demorar alguns meses para ficar pronto

Se necessário, pode entrar em contato com o pesquisador responsável pelo projeto **Jeane Cristina Ribeiro Lima**, fone: (92) 991738540/ 984154683. Telefone do Comitê de Ética em Pesquisa: 36550100

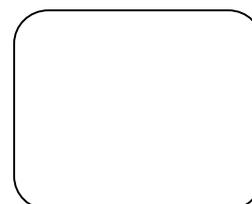
Assinatura do Pesquisador

Tendo sido informado sobre a pesquisa **Diagnóstico Citogenético em indivíduos com Déficit Intelectual (DI), não Síndrome de Down**, concordo em participar da mesma.

Nome _____

Assinatura _____

Data ____/____/____.



Impressão do polegar caso o paciente não saiba assinar

Código: _____
 Hipótese diagnóstica: _____
 Data da coleta: ____/____/____

FOTO

FICHA DIAGNÓSTICA

IDENTIFICAÇÃO	
Nome:	
Responsável:	
Endereço:	
Telefones pra contato:	
Motivo do encaminhamento:	
Encaminhado pelo (especialidade):	
Data de nascimento: ____/____/____	Idade na avaliação: ____ anos ____ meses
Sexo: () Masculino () Feminino	
Etnia: () Caucasóide () Negróide () Mista () Outra	
HISTÓRICO GESTACIONAL	
1. Pré-natal: ()SIM ()NÃO	
2. Generalidade: ()SIM ()NÃO	
- Gêmeos: ()Monozigóticos ()Dizigóticos	
3. História de fertilização in vitro: ()SIM ()NÃO	
4. Doenças maternas:	
5. Época das doenças (mês): 1 2 3 4 5 6 7 8 9	
6. Drogas/fármacos na gestação:	
7. Época do uso das drogas (mês): 1 2 3 4 5 6 7 8 9	
8. Outros agentes:	
9. Época dos agentes (mês): 1 2 3 4 5 6 7 8 9	
10. Ameaça de aborto: ()SIM ()NÃO	
11. Época da ameaça (mês): 1 2 3	
12. Trabalho de parto prematuro: ()SIM ()NÃO	
13. Época (mês): 4 5 6 7 8 9	
14. Ultrassom obstétrico: ()SIM ()NÃO	
OBS.:	
HISTÓRICO DO PARTO-PERINATAL	
1. Tipo de parto: () Vaginal () Cesariana	
2. Apresentação fetal: ()Cefálica ()Pélvica ()Transversa	

3. Idade gestacional () < 37 sem. () 37-42 sem. () > 42 sem.

DADOS DO NASCIMENTO	
Peso: _____ g (P _____)	Comprimento: _____ cm (P _____)
Perímetro cefálico: _____ cm (P _____)	Perímetro torácico: _____ cm (P _____)
Apgar 1q _____	Apgar 5q _____

DESENVOLVIMENTO NEUROPSICOMOTOR	
RDNPM: () NÃO () SIM	
Fisioterapia/Terapia ocupacional: () NÃO () SIM	
Sorriso social: _____	Sustentou a cabeça: _____
Sentou sem apoio: _____	Sentou com apoio: _____
Ficou em pé: _____	Engatinhou: _____
Andou com apoio: _____	Andou sem apoio: _____
Controle esfincteriano: _____	
FALA/LINGUAGEM	
Atraso de fala: () NÃO () SIM	
Fonoaudiologia: () NÃO () SIM	
Sons: _____	Dissílabas: _____
Palavras: _____	
Frases incompletas: _____	Frases completas: _____
APRENDIZAGEM	
Escola especial: () NÃO () SIM	
Entrou na escola (série atual):	
Repetências:	
Evolução:	
Intercorrências:	

HISTÓRICO FAMILIAR	
Idade do pai: _____	Idade da mãe: _____ (ao nascimento)
História familiar de DI: () SIM () NÃO	
Consanguinidade entre os pais: () SIM () NÃO	
Número total de gestações: 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 _____	
Ordem do nascimento: 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 _____	
Número de partos: 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 _____	
Número de abortos espontâneos: 1 2 3 _____	
Número de abortos provocados: 1 2 3 _____	
Número de nativos: 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 _____	
Número de natimortos: 1 2 3 _____	
Sexo do natimorto: () M () F () Indeterminado () Desconhecido	

EXAME FÍSICO	
Medidas Antropométricas (na avaliação)	
Altura: _____ cm (P _____) Peso: _____ Kg (P _____) PC: _____ cm (P _____)	
DII: _____ cm (P _____) DIE: _____ (P _____)	
CMão: _____ (P _____) CDedoMédio: _____ (P _____)	
Exame Físico/ Dismorfológico	
ANORMALIDADES CRANIOFACIAIS	
- CRANIO:	
- FACE:	
- OLHOS:	
- NARIZ:	
- BOCA:	
- ORELHAS	
TORAX:	
ABDOME:	
ANOGENITAL:	
MEMBRO SUPERIOR:	
MEMBRO INFERIOR:	
PELE E ANEXOS:	
OUTRAS:	

EXAMES E AVALIAÇÕES COMPLEMENTARES	
OFTALMOLOGICA:	
OTORRINOLARINGOLÓGICA:	
ECOCARDIOGRAFIA:	
RAIO-X DE COLUNA:	