

Carina Tatiana Giunco

**Avaliação Genético-Clinica e Citogenética Molecular
das Regiões 7q31-q33 e 15q11-q13 em Transtornos
Invasivos do Desenvolvimento**



1910001061



CARINA TATIANA GIUNCO

***Avaliação Genético-Clínica e Citogenética
Molecular das Regiões 7q31-q33 e 15q11-
q13 em Transtornos Invasivos do
Desenvolvimento***



T 1061/02

**Dissertação apresentada para
obtenção do Grau de Mestre em
Genética.**

São José do Rio Preto - SP

2002

CARINA TATIANA GIUNCO

***Avaliação Genético-Clínica e Citogenética
Molecular das Regiões 7q31-q33 e 15q11-q13 em
Transtornos Invasivos do Desenvolvimento***

Dissertação apresentada ao Programa
de Pós-Graduação em Genética, do
Instituto de Biociências Letras e
Ciências Exatas da Universidade
Estadual Paulista – UNESP, para a
obtenção do título de Mestre.



T1061/02

São José do Rio Preto

2002



†576.3:575
G537a

20601000

Giunco, Carina Tatiana

Investigação genético-clínica e citogenética molecular das regiões
7q31-q33 e 15q11-q13 em Transtornos Invasivos do Desenvolvimento/

Carina Tatiana Giunco: [s.n.], 2002

129 f. : il. ; 30 cm.

Orientador: Agnes Cristina Fett Conte

Tese (mestrado)-Universidade Estadual Paulista. Instituto de
Biociências, Letras e Ciências Exatas.

1. Transtornos Invasivos do Desenvolvimento. 2. Autismo. 3. FISH.
4. Antecedentes familiares. 5. Malformações físicas. I. Fett-Conte, Agnes
Cristina. II. Universidade Estadual Paulista. Instituto de Biociências,
Letras e Ciências Exatas. III. Investigação genético-clínica e citogenética
molecular das regiões 7q31-q33 e 15q11-q13 em Transtornos Invasivos
do Desenvolvimento.

CDU – 575

CARINA TATIANA GRUNCO

*Avaliação Genético-Clinica e Citogenética Molecular
das Regiões 7q31-q33 e 15q21-q23 em Transtornos
Invasivos do Desenvolvimento*

*Este trabalho foi realizado no Laboratório de Genética e no Laboratório
de Citogenética Molecular do Hospital de Base da Faculdade de Medicina
de São José do Rio Preto, com auxílio financeiro da FAPESP, FAMERP e
CNPq.*

São José do Rio Preto, ____/____/____

CARINA TATIANA GIUNCO

***Avaliação Genético-Clínica e Citogenética Molecular
das Regiões 7q31-q33 e 15q11-q13 em Transtornos
Invasivos do Desenvolvimento***

COMISSÃO JULGADORA

DISSERTAÇÃO PARA OBTENÇÃO DO GRAU DE MESTRE

Presidente e Orientador:

2º Examinador:

3º Examinador:

São José do Rio Preto, ____/____/____.

Julgue seu sucesso pela medida em que você

está desfrutando de paz,

saúde e amor.

(autor anônimo)

Agradecimentos

A todas as famílias do grupo de estudos de paraflexia com PDEs e do grupo controle pelas informações, tempo disponível e pela confiança que tiveram a partir desta gratificante experiência.

A Dra. Agnes Cristina Felt Conte pela dedicação, paciência e principalmente pelo apoio, que me deu a força suficiente para esse empreendimento.

As colegas do Laboratório de Genética: Bráulio Fátima Mafel Martins, Valéria Cristina Ferraz de Silva, Cristina Benitez Vendrame Galoni, Andréia Barduchi e Karen Bárbara Jalland, pela ajuda e pelo ambiente de cordialidade e respeito que tornaram esse trabalho agradável.

A todos os professores e funcionários do curso de Pós-Graduação em Genética do Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas-UNESP, particularmente à Prof. Dra. Ana Elisabete Silva, por acolherem meu sonho. Muito obrigada mesmo.

A Dr. Simone Serra Rocha e à toda equipe da Escola de Artes de São José do

*Dedico à mãe **Marina** e a Avó **Soledade**, mulheres exemplos de luta e perseverança, que me ensinaram que todo sonho é possível, que fizeram de cada obstáculo um apoio a mais, um fator de encorajamento para a luta do dia a dia. Sem esta educação o mundo não*

seria tão bonito.

Com carinho

Agradecimentos

*À todas as famílias do grupo de estudos de **pacientes** com PDDs e do grupo controle, pelas informações, tempo disponível e pelo contato, este último a parte mais gratificante deste estudo.*

*À **Dra. Agnes Cristina Fett Conte** pela dedicação, paciência e principalmente pelo apoio, que me deram a força suficiente para esse empreendimento.*

*Às amigas do Laboratório de Genética: **Brasilina Fátima Mafei Martins, Valéria Cristina Ferrarese da Silva, Cristina Benitez Vendrame Goloni,, Andréia Borduchi e Karen Bábara Juliani**, pela ajuda e pelo ambiente de cordialidade e respeito que tornaram esse trabalho agradável.*

*À todos os professores e funcionários do curso de Pós-Graduação em Genética do Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas-UNESP, particularmente à **Prof. Dra. Ana Elisabete Silva**, por acolheremo meu sonho. Muito obrigada mesmo.*

*À **Dr. Simone Secco Rocha** e à toda equipe da **Escola do Autista de São José do Rio Preto e de Barretos** por “abrirem as portas” e por toda cooperação recebida neste estudo.*

*Ao **Prof. Dr. Cordeiro** , pela orientação na análise estatística dos resultados.*



*À **Adriana Barbosa de Oliveira** por participar ativamente do projeto e pela amizade e companheirismo durante a realização deste.*

SUMÁRIO

*Ao meu irmão **Aureo Giunco Junior**, por todo apoio emocional e técnico recebido na finalização deste trabalho.*

*À **FUNFARME/FARMERP** que me cederam toda a estrutura necessária para a realização deste estudo.*

*À **FAPESP, FAMERP e CNPq** pelo apoio.*

Aos amigos, riqueza desta vida.

À todas as pessoas especiais que acreditaram, ou não, na realização deste. Meus agradecimentos.

Sumário

I – Introdução.....	11
I.1. Os Transtornos Invasivos do Desenvolvimento (PDDs)....	11
I.2 Genes, Cromossomos e PDDs.....	17
I.3. PDDs e anormalidades físicas.....	25
I.4 Objetivos.....	27
II – Material e Métodos.....	28
II.1 Caracterização da casuística	28
II.2.Métodos.....	31
II.2.1 Caracterização da classe social	31
II.2.2 Antecedentes familiares psiquiátricos.....	31
II.2.3 Avaliação das características físicas.....	36
II.2.4 Cultura de linfócitos e bandamento GTC.....	38
II.2.5 Citogenética Molecular.....	39
II.2.6 Extração de DNA de leucócitos.....	41
III – Resultados.....	43
III.1 Característica Gerais.....	43
III.2 Antecedentes familiares e pessoais.....	46
III.3 Características Físicas.....	52
III.4 Associação com outras doenças genéticas ou ambientais	63
III.5 Estudo citogenético.....	78
III.6 Maturidade Social.....	81

IV – Discussão.....	83
IV.1 Características Gerais.....	83
IV.2 Antecedentes Pessoais.....	87
IV.3 Antecedentes Familiares Psiquiátricos.....	89
IV.4 Características físicas.....	93
IV.5 Associação com outras síndromes genéticas	95
IV.6 Estudo Citogenético.....	102
IV.7 Maturidade Social.....	106
V – Conclusões.....	107
VI – Referências Bibliográficas.....	109
VII – Resumo.....	125
VIII – Abstract.....	127

I.INTRODUÇÃO

I.1- Os Transtornos Invasivos do Desenvolvimento (PDDs)

Os Transtornos Invasivos do Desenvolvimento (Pervasive Developmental Disorders-PDDs), são definidos como aqueles que interferem no desenvolvimento emocional e cognitivo. Ocorrem em cerca de 18 a cada 10.000 crianças (Fombonne, 1999) e se caracterizam por um prejuízo severo das áreas do desenvolvimento, como a capacidade de interação social recíproca e de comunicação, pela presença de comportamento estereotipado, interesses e atividades restritos. As deficiências qualitativas características dessas condições manifestam-se através do desvio acentuado em relação ao nível de desenvolvimento ou idade mental do indivíduo.

Os PDDs incluem cinco diagnósticos: o Transtorno Desintegrativo da Infância, os Transtornos Invasivos do Desenvolvimento Sem Outra Especificação [Pervasive Developmental Disorders, Not Otherwise Specified (PDD-NOS)], as síndromes de Rett, de Asperger e o Autismo (CID 10, 1993; APA, 1994). São doenças graves, de etiologia complexa, heterogênea e pouco conhecida, cujos tratamentos são apenas paliativos e sintomáticos. Dentre elas se destaca o autismo, pela sua precocidade e maior frequência na população (Smalley *et al.*, 1998).

De maneira geral o Transtorno Desintegrativo da Infância é diagnosticado em indivíduos cujo desenvolvimento foi

normal até os dois anos, mas que a partir dessa idade iniciaram um processo de perda das habilidades comportamentais e intelectuais adquiridas, resultando em comportamento autístico. O diagnóstico de PDD-NOS é aplicado aos casos em que ocorre prejuízo severo no desenvolvimento da interação social recíproca capacidade de comunicação verbal ou não-verbal, mas não são satisfeitos os critérios para os outros PDDs. Também nesta classificação inclui-se o autismo atípico, caracterizado por indivíduos que apresentam todas as características do autismo, porém observadas após os três anos de idade. A etiologia destes distúrbios, contudo, não está esclarecida. (APA, 1994).

A síndrome de Rett se manifesta na primeira infância, geralmente no primeiro ano de vida, e acredita-se acometer apenas o sexo feminino. Se caracteriza pela tríade demência-ataxia-autismo e por um padrão característico e progressivo de desaceleração do crescimento craniano, perda de habilidades manuais adquiridas, marcha pouco coordenada e movimentos involuntários das mãos e do tronco. Particularmente durante os anos pré-escolares, as meninas com síndrome de Rett podem exibir dificuldades temporárias de interação social. (CID10, 1993; APA,1994; Sanvito, 1997). A prevalência é de aproximadamente 1 para 10.000 a 15.000 mulheres e há 100% de concordância em gêmeos monozigóticos (Tanguay, 2000). Atualmente tem sido considerada a segunda maior causa de retardo mental em mulheres, depois da Síndrome de Down, e 99,5% dos casos ocorrem por uma mutação esporádica no gene *MECP2*, localizado em Xq28

(Ellaway & Christodoulou, 2001). Embora seja considerada uma doença dominante ligada ao X, com letalidade nos hemizogotos, já foram descritos meninos afetados (Leonard, *et al.*, 2001; Trappe *et al.*, 2001). Inclusive, mutações mitocondriais também têm sido descritas em portadores da Síndrome de Rett (Qi *et al.*, 2001).

A síndrome de Asperger assemelha-se de tal modo ao autismo que é considerada por muitos autores como um subtipo do mesmo (Ehlers *et al.*, 1997). Se diferencia pela ausência de atraso no desenvolvimento da linguagem e pelo fato dos afetados apresentarem uma memória prodigiosa (APA, 1994). Existe uma dificuldade muito grande na realização do diagnóstico e a etiologia não está esclarecida, mas já foi associada à síndrome do cromossomo X frágil (Searcy *et al.*, 2000).

O autismo, por sua vez, se destaca entre os PDDs porque, além de apresentar múltiplas manifestações neurobiológicas, é o mais frequente na população (Jorde *et al.*, 1991).

Em 1943, Léo Kanner, em seu clássico ensaio “Autistic Disturbances of Affective Contact”, lançou o termo autismo infantil e forneceu uma descrição clara e abrangente dessa patologia da primeira infância. Até o surgimento do seu trabalho o autismo era classificado como psicose, assim como todos os outros transtornos mentais severos envolvendo um marcante desvio, atraso e distorções nos processos de desenvolvimento da criança. Kanner suspeitava que o autismo fosse mais freqüente do que parecia e sugeriu que pudesse ser confundido com retardo mental e esquizofrenia (apud Holmes, 1997)

A Organização Mundial de Saúde define o autismo como uma síndrome presente desde o nascimento, que se manifesta antes dos 30 meses de idade, se caracteriza por respostas anormais a estímulos auditivos ou visuais e apresenta fala ausente ou pouco desenvolvida. Ocorrem problemas muito graves de relacionamento social antes dos cinco anos de idade e o comportamento é ritualístico, agregado a rotinas anormais e com resistência a mudanças. A capacidade para pensamentos abstratos e simbólicos ou para jogos imaginativos é diminuída, enquanto a inteligência pode ser subnormal, normal ou acima do normal (ABRA, 1994). É encontrado com maior frequência em meninos (3-5:1), mas as meninas tendem a ser mais severamente afetadas e a terem uma história familiar de prejuízo cognitivo (Jorde *et al.*, 1991).

Diferentes estudos mostram uma prevalência para o autismo que varia de 4 a 5 casos por 10.000 nascimentos que, se incluído o retardo mental severo com alguns aspectos autistas, pode atingir 20 casos por 10.000 nascimentos (Edelson, 1999). Segundo Gillberg & Wing (1999) com a utilização de novos critérios diagnósticos, esta afecção parece ser consideravelmente mais comum do que o previsto anteriormente, com uma estimativa de cerca de um afetado para cada 1000 nascimentos.

As condições médicas associadas ao autismo abrangem 34% dos casos e incluem fatores pré e peri-natais, entre os quais algumas doenças infecciosas, como a embriopatia rubeólica, a infecção pré-natal por citomegalovírus e a toxoplasmose congênita

(Rutter *et al.*, 1991; Le Couter, 1993; Edelson, 1995). Alguns estudos de identificação de fatores de risco pré e peri-natais para o desenvolvimento da doença apontam para o peso ao nascimento, nível de escolaridade materna, idade paterna, cuidados pré-natais no primeiro trimestre e duração da gestação (Burd *et al.*, 1999). Segundo London (2000) e Woodward (2001), a exposição a alguns agentes físicos e químicos durante a gravidez também poderia causar ou contribuir para o desenvolvimento do autismo.

Embora os critérios diagnósticos da doença não estejam associados com alguma região cerebral ou sistema específico, os avanços médicos das últimas quatro décadas têm trazido evidências de uma base neurológica consistente para o autismo. Contudo, a etiologia das anomalias neurofuncionais observadas em autistas não está esclarecida (Edelson & Cantor, 1998). Muitos estudos sugerem um desenvolvimento anormal do núcleo motor do nervo craniano (Rodier *et al.*, 1996), enquanto outros mostram redução do volume do lobo parietal em 43% dos casos (Courchesne *et al.*, 1993). Segundo Gillberg (1992) há uma possível causa para a disfunção cerebral em cerca de 46% dos casos e os 54% restantes estão associados a síndromes médicas específicas (34%), são idiopáticos (13%) ou têm agregação familiar (7%).

Desde a primeira descrição feita por Kanner, foram notados traços particulares de personalidade em alguns parentes de autistas, com características comportamentais semelhantes às das crianças afetadas. Inicialmente, essas observações foram interpretadas

como evidências de envolvimento do ambiente, mas foi sugerido que certos traços familiares poderiam culminar no desenvolvimento da doença na criança. O reconhecimento subsequente do autismo associado com retardo mental e epilepsia levou a compreensão de que, de fato, há bases orgânicas para esta patologia (Schroer *et al.*, 1998).

Há muitas descrições que mostram uma frequência elevada de doenças psiquiátricas e personalidade introvertida em parentes de autistas (Piven *et al.*, 1990; 1991; 1994; Landa, 1992; Murphy *et al.*, 2000), além de escores menores de QI e desempenho fraco em leitura e grafia entre irmãos de afetados (Fombonne, 1997). Piven *et al.* (1994), sugeriram que o déficit cognitivo pode ser uma expressão mais branda dos genes responsáveis pelo autismo, que essa característica pode contribuir para uma maior definição do fenótipo e que, portanto, existe antecipação genética. Estudos recentes falam de um amplo espectro fenotípico para o autismo, que segregaria independentemente em parentes, sendo sua identificação uma estratégia complementar para estudos moleculares em autismo (Piven, 2001).

1.2. Genes, Cromossomos e PDDs

Desde a década de 70, vem sendo demonstrada progressivamente a participação de fatores genéticos na etiologia do autismo. Além de diversos relatos de recorrência familiar, a concordância em gêmeos monozigóticos de 64% e em dizigóticos de 9%, favorece essa afirmação. Embora a influência genética exista, o autismo não segue padrões clássicos de herança mendeliana. Alguns autores propuseram um modelo de herança multifatorial e risco para a irmandade entre 3 e 5% (Smalley & Collins, 1996). Hallmayer *et al.* (1996), pela análise de heredogramas, descartaram a herança ligada ao X, que era a mais considerada, em função da incidência maior em meninos. Atualmente, os estudos confirmam uma grande heterogeneidade genética e apontam de três a dez genes envolvidos, com provável expressão diferencial e epistasia (Gurrieri *et al.*, 1999; Bradford *et al.*, 2001).

Os PDDs em geral, e especialmente o autismo, têm sido associados a certas doenças genéticas e aberrações cromossômicas autossômicas e de cromossomos sexuais, entre as quais se destacam a síndrome do fra(X) e da Esclerose Tuberosa (ET) (Levitas *et al.*, 1983; Mazzoco *et al.*, 1997). Contudo, a relação etiológica entre estas afecções não é conhecida. A síndrome do fra(X), que é a principal causa hereditária de retardo mental em meninos e afeta 1:1000 indivíduos da população, é considerada como um subtipo específico de autismo (Levitas *et al.*, 1983; Gillberg *et al.*, 1986;

Hargerman, 1993) e há sugestões de que seja, inclusive, a etiologia mais comum desta doença (Cohen *et al.*, 1991).

A ET, por sua vez, é uma desordem neurocutânea de transmissão autossômica dominante, causada por mutações nos genes *TSC1*, localizado em 9q34, e *TSC2*, localizado em 16p13.3 (Milolozza *et al.*, 2000). Em 1993, Le Couteur observou autismo em 5% dos indivíduos com fra(X) e em 21 a 39% dos indivíduos com ET acompanhada de retardo mental e epilepsia. Mais recentemente, inclusive, Daniels *et al.* (2001) mostraram a ligação do gene *TSC2* com distúrbio bipolar, epilepsia e autismo.

Existem descrições da ocorrência simultânea de autismo e várias outras patologias, como síndrome de Tourette, Noonan, Angelman, Goldenhar, Cornélia de Lange e hipotireoidismo (Comings & Comings, 1991; Sverd, 1991; Landgren *et al.*, 1992; Bay *et al.*, 1993; Ghaziuddin *et al.*, 1994; Steffenburg *et al.*, 1996; Kadesjo *et al.*, 1999).

Além das patologias gênicas, muitos estudos descritos de maneira crescente na literatura, mostram diferentes anormalidades cromossômicas em autistas e em outros portadores de PDDs. Há uma grande variabilidade de achados, com alterações numéricas e estruturais, além de rearranjos complexos envolvendo autossomos e cromossomos sexuais (Fryns & Kleczkowska, 1992; Ghaziuddin *et al.*, 1993; Spiker *et al.*, 1993; Heráult *et al.*, 1994).

Gillberg (1998), em um trabalho de revisão da literatura sobre aberrações cromossômicas em autismo, referiu uma



associação da desordem autista ou do comportamento autístico com todos os cromossomos, exceto o 14 e o 20. Sugeriu, inclusive, que vários casos provavelmente resultam da interação de diferentes genes mutantes, mas que o cromossomo 15, especialmente o seu braço longo, e os cromossomos sexuais parecem conter as chaves para o entendimento da patogênese desta doença.

Na tentativa de limitar as investigações dos genes de susceptibilidade aos PDDs, especialmente ao autismo, a um número pequeno de regiões cromossômicas, diversos estudos apontam para algumas regiões específicas. Os braços longos dos cromossomos 7 e 15 têm sido considerados as regiões mais provavelmente envolvidas na etiologia destes transtornos (Schroer et al., 1998; Barret et al., 1999; Wassink & Piven, 2000).

O cromossomo 7, mais especificamente a região 7q31-q33, foi apontada como uma região muito significativa pelo International Molecular Genetic Study of Autism Consortium (1998), em um estudo realizado em 99 famílias. Além disso, há várias descrições de PDDs com anormalidades cromossômicas envolvendo o cromossomo 7 (Lopreiato & Wulfsberg, 1992; Heder, 1993; Vicent et al., 2000). Estudos mais recentes mostram, inclusive, desequilíbrio de ligação da região 7q31-q33 e sugerem um locus de susceptibilidade (*AUTS1*) para o autismo nesta região (Barret et al., 1999; Philippe et al., 1999; Warbunton et al., 2000; IMGSAC, 2001). Asley-Koch et al. (1999), identificaram uma família com desordem autística na qual os três irmãos herdaram de sua mãe uma inversão paracêntrica de 7q.



Nesta família, dois irmãos eram autistas e a irmã apresentava problemas relacionados com a fala e a linguagem.

Em 7q estão localizados muitos genes cujos produtos são encontrados no cérebro humano. Estes incluem: *GPR37* (*G protein-coupled peptide receptor*); *PTPRZ1* (*protein tyrosine phosphatase receptor type f polypeptide*); *EPHB6* (*ephrin tyrosine kinase receptor*); *M2* (*muscarinic acetylcholine receptor*); *PTN* (*pleiotrophin*); *NEDD2/ICHI/CASP2* (*neural precursor cell expressed developmentally down-regulated 2*) e *GRM8* (*glutamate receptor metabotropic 8*) (International Molecular Genetic Study of Autism Consortium, 1998). Um outro gene, o *WNT2* tem sido considerado como outro forte candidato por várias razões. Ele faz parte da família WNT que atua no desenvolvimento do sistema nervoso central e também apresenta desequilíbrio de ligação em irmãos de indivíduos autistas que manifestam problemas de fala e de linguagem (Wassink *et al.*, 2001)

Marcadores extra cromossômicos envolvendo a região 15q11-q13 são as anomalias mais frequentemente relatadas em autismo e outros PDDs (Abuelo, 1995; Wolpert *et al.*, 2000), e há um numero crescente de trabalhos sobre o assunto, sugerindo que a expressão clínica pode variar de acordo com a dosagem dos genes localizados nessa região (Baker *et al.*, 1994; Hotopf & Bolton, 1995; Schoer *et al.*, 1998).

Gillberg *et al.* (1992) e mais tarde, Buoni *et al.* (2000), propuseram a existência de uma síndrome de retardo mental moderado



a severo, comportamento autístico e alguns sinais clínicos discretos, associadas com duplicações de 15q. Relatos semelhantes foram descritos, com variações cromossômicas estruturais diversas, mas sempre resultando em trissomia ou tetrassomia da região 15q11-q13 (Shibuya *et al.*, 1991, Bunday, 1994; Hotof & Bolton, 1995; Flejter *et al.*, 1996; Schroer *et al.*, 1998).

Embora o tipo de anomalia cromossômica varie entre os casos, estes revelam uma associação com alguns sinais clínicos. Por exemplo, inversões e duplicações de 15q [invdup15q11-q13], incluindo a região 15q11-q13, crítica das síndromes de Angelman e de Prader-Willi, estão associadas com atraso de crescimento, eletroencefalograma anormal, sinais faciais (orelhas anormais, estrabismo, inclinação antimongolóide da fissura palpebral, palato alto, epicanto, assimetria facial e narinas antivertidas), atraso do desenvolvimento neuro-psico-motor, hipotonia e retardo mental (Robinson *et al.*, 1993).

A caracterização de 11 pacientes com invdup(15), realizada por Cheng *et al.* (1994), através de técnicas de citogenética convencional, citogenética molecular e Southern blot, permitiu classificar o marcador nos tipos 1 e 2, ambos com duplicação pequena e que diferem somente pela ausência ou presença, respectivamente do locus *DI5S18* proximal ao centrômero, e tipo 3 com inversão grande e duas cópias adicionais para todos os loci *DI5S12* distais ao centrômero. Os tipos 1 e 2 foram encontrados em três indivíduos com fenótipo normal e em um com síndrome de Prader-Willi. O tipo 3 foi

observado em sete indivíduos com retardo mental severo. Leanna-Cox *et al.* (1994) afirmaram que inversões e duplicações do cromossomo 15 são morfologicamente heterogêneas e são encontradas em indivíduos com diferentes fenótipos. Flejter *et al.* (1996), sugeriram que o fenótipo clínico de pacientes com invdup(15) é determinado não apenas pela extensão da duplicação e pela dosagem de genes localizados em 15q11-q13, mas também pela origem parental do cromossomo.

Alguns cromossomos 15 extranumerários já investigados mostraram sempre origem materna, tanto nos casos com deleção, como naqueles com duplicação da região 15q11-q13 (Shibuya *et al.*, 1991; Schoer *et al.*, 1998; Gurrieri *et al.*, 1999; Veenstra-Vanderwelle *et al.*, 1999;). A duplicação de origem materna tem sido associada com casos severos de autismo, o que sugere a ocorrência de “imprinting” genômico na manifestação autística relacionada ao cromossomo 15 (Cook *et al.*, 1997; Gurrieri *et al.*, 1999).

A origem paterna da duplicação tem sido associada com fenótipo normal, contudo, Mohandas *et al.* (1999), descreveram o primeiro caso de origem paterna em um menino com dois anos de idade que apresentava atraso global do desenvolvimento. Alguns estudos sobre a origem parental do marcador encontraram, também, mães saudáveis portadoras da duplicação que tiveram filhos afetados. Essas mães herdaram a duplicação de seus alelos paternos, reforçando que a origem paterna se associa com fenótipo normal. Segundo Hotof

& Bolton (1995), é possível que a invdup(15) interfira com algum aspecto do desenvolvimento ou função cerebral e que leve ao autismo.

Tanto deleções quanto duplicações de 15q podem resultar em distúrbios de comportamento e retardo mental em seus portadores (Baker *et al.*, 1994). Pelegrino *et al.* (1995) descreveram a perda de 15q11-q13 em um paciente que apresentava Hipomelanose de Ito, retardo mental e distúrbios comportamentais. Kerbeshian *et al.* (1990), descreveram a del(15)(q12) em uma paciente autista, com retardo mental e distúrbio bipolar. Gurrieri *et al.* (1999) relataram uma duplicação do cromossomo 15 em indivíduos com autismo atípico e Abuelo (1995) sugeriu uma relação direta entre invdup(15) e problemas comportamentais. Além disso, a região 15q11-q13 está relacionada a etiologia das síndromes de Prader-Willi e de Angelman, cujos afetados apresentam retardo mental e distúrbios de comportamento (Nurmi *et al.*, 2001).

Diante desses fatos, Gurrieri (1999) sugeriu que em 15q11-q13 existam genes para autismo, possivelmente relacionados com epilepsia, que agem por dose-dependência e estão sujeitos a “imprinting”, sendo ativos apenas os maternos. O autor refere que uma avaliação cuidadosa de 15q parece ser muito promissora na pesquisa para genes da região “responsável” pelos Transtornos Invasivos do Desenvolvimento.

Entre os genes mapeados no segmento proximal do braço longo do cromossomo 15, comumente associados ao autismo, se destacam os da região crítica de Prader-Willi e Angelman, das

subunidades do receptor do GABA (*GABRB3*, *GABRA5* e *GABRG3*), o neurotransmissor inibitório mais importante em humanos, e o gene da proteína ubiquitina ligase (*UBE3A*). Um desequilíbrio na disposição das subunidades dos receptores do GABA, por exemplo, poderia alterar a atividade destes receptores e consequentemente a atividade cerebral. Mutações no *UBE3A* têm sido apontadas como a causa da Síndrome de Angelman. Tais mutações poderiam interferir no desenvolvimento ou função cerebral normal por alteração na proteólise mediada pela ubiquitina, que é uma pequena proteína que marca outras proteínas para degradação, ou por outros mecanismos ainda não elucidados (Schroer *et al.*, 1998).

Apesar do número significativo de investigações citogenéticas em autismo, poucos estudos têm sido realizados nos outros Transtornos Invasivos do Desenvolvimento. A respeito disto, Weidmer-Mikhail *et al.* (1998) ressaltaram a importância de avaliações genéticas nos demais distúrbios de comportamento e relataram os resultados de suas investigações em 92 indivíduos portadores desses transtornos. Segundo os autores, é possível que as alterações citogenéticas sejam mais comuns nos demais PDDs do que em autismo.

I.3. PDDs e anormalidades físicas

Quando o Transtorno Invasivo do Desenvolvimento está relacionado ou faz parte do quadro fenotípico de uma doença genética, as manifestações clínicas esperadas incluem as da própria doença. Inclusive, como já referido, os PDDs já foram associados com diversas doenças genéticas, entre as quais a síndrome do fra(X), a Esclerose Tuberosa, a síndrome de Down, de Turner, entre outras (Mazzoco, 1997, Bailey *et al.*, 1998; Donnelly *et al.*, 2000; Ghaziuddin, 2000,).

Contudo, independentemente dos achados clínicos específicos, das alterações gênicas e citogenéticas, uma frequência aumentada de malformações físicas menores tem sido descrita em autismo e em outros PDDs. Rodier *et al.* (1997), relataram que a alteração mais frequente e específica observada no fenótipo físico dos autistas é a rotação posterior dos pavilhões auriculares. Além desta, pés pequenos, mãos grandes e redução da distância interpupilar também são consistentemente observados.

Fombonne *et al.* (1999), encontraram uma frequência significativamente superior de macrocefalia e de microcefalia em pacientes com diagnóstico de autismo. Enquanto a microcefalia foi significativamente associada com a presença de afecções médicas, a macrocefalia não estava associada a qualquer condição, nem mesmo à presença de epilepsia ou à severidade do quadro autístico. Entretanto, Filder *et al.*, (2000) e Bolton *et al.*, (2001) sugeriram que a



macrocefalia pode ser um fator de risco familiar na patogênese do autismo.

A identificação de sinais clínicos que façam parte do espectro fenotípico dos PDDs e a identificação de subgrupos relacionados aos mesmos, pode auxiliar no diagnóstico e na identificação de "marcadores" físicos dos eventos relacionados à etiologia destes distúrbios tão complexos (Miles, 2000).

Toda esta complexidade mostra que vários genes podem contribuir aditivamente na etiologia do autismo e dos outros PDDs e que os estudos que propiciem um diagnóstico etiológico mais preciso e a definição do fenótipo dos afetados são essenciais nestas patologias, com implicações diretas no aconselhamento genético das famílias.



I.4.Objetivos

Diante do exposto, fica evidente que a investigação de síndromes gênicas, anomalias cromossômicas, anormalidades físicas menores e dos antecedentes pessoais e familiares dos portadores de PDDs, pode auxiliar na compreensão dos mecanismos biológicos envolvidos nestes distúrbios e no esclarecimento do espectro fenotípico dos mesmos.

Assim, o presente trabalho teve como objetivos:

1-Realizar a avaliação cariotípica de portadores de PDDs, por bandamento GTG, e analisar as regiões cromossômicas 7q31-q33 e 15q11-q13, com a utilização da técnica de FISH;

2-Estudar as características físicas, os antecedentes pessoais e familiares destes indivíduos;

3-Relacionar os resultados com possíveis fatores etiológicos envolvidos no aparecimento dos PDDs.

II. MATERIAL E MÉTODOS

II.1. Caracterização da casuística

Em conformidade com as Normas Regulamentadoras de Pesquisas em Seres Humanos, após a obtenção do termo de consentimento livre e esclarecido (pela própria pesquisadora responsável pelo trabalho), foram estudados indivíduos com diagnóstico de Transtorno Invasivo do Desenvolvimento, segundo os critérios do DSM-IV (APA,1994), provenientes da Escola Municipal do Autista “Maria Lúcia de Oliveira” (EMA) de São José do Rio Preto (EMA), da Associação Amigos dos Autistas (AMA) de Barretos e da clínica psiquiátrica da Dra. Simone Secco Rocha de São José do Rio Preto. Os diagnósticos foram realizados por psiquiatras e psicólogos especialistas em PDDs.

Não foram incluídos no estudo pacientes com outros distúrbios psiquiátricos da infância, como por exemplo, psicóticos. Além desses, foram excluídos os portadores de PDDs cujas famílias não concordaram em participar e aqueles que, mesmo com autorização do responsável para participação do projeto, apresentaram desconforto exacerbado diante da possibilidade do exame físico e/ou da punção venosa, de acordo com orientação dos psiquiatras e psicólogos.

Freqüentam de maneira regular a EMA (São José do Rio Preto) e a AMA (Barretos), que também funcionam como centro de triagem e diagnóstico, cerca de 30 e 10 crianças, respectivamente,

portadoras de PDDs. Considerando estes números e as limitações orçamentárias do projeto, dado o custo elevado da técnica de FISH, aliados às frequências maiores que 5% de achados clínicos e cromossômicos descritos na literatura, foram estudados 48 indivíduos portadores de PDDs (Grupo1), ou seja, 18 (37,5%) a mais do que o proposto inicialmente. A caracterização da casuística quanto ao diagnóstico, idade em anos, sexo e etnia é apresentada na Tabela 1.

Para comparação das características físicas e antecedentes, foi constituído um grupo controle (Grupo 2) com 48 indivíduos saudáveis, pareados por sexo, idade e classe social, provenientes da população em geral, após obtenção do termo de consentimento livre e esclarecido.

Tabela 1. Caracterização da casuística quanto ao diagnóstico, idade em anos, sexo e etnia.

caso	diagnóstico	idade	sexo	etnia
1	AUTISMO	22	F	C
2	AUTISMO	10	M	C
3	AUTISMO	27	F	C
4	AUTISMO	16	M	C
5	AUTISMO	16	M	C
6	AUTISMO	16	M	N
7	AUTISMO	23	F	C
8	AUTISMO	15	M	C
9	AUTISMO	18	F	C
10	AUTISMO	14	F	C
11	AUTISMO	14	F	C
12	AUTISMO	6	F	C
13	AUTISMO	16	F	C
14	AUTISMO	10	M	N
15	ASPERGER	10	M	C
16	PDD-NOS	33	F	C
17	RETT	13	F	C
18	AUTISMO	27	M	C
19	AUTISMO	15	F	C
20	AUTISMO	10	M	C
21	ASPERGER	22	M	C
22	AUTISMO	16	M	N
23	AUTISMO	16	F	C
24	RETT	25	F	C
25	PDD-NOS	7	M	C
26	AUTISMO	12	M	C
27	AUTISMO	29	M	C
28	PDD-NOS	15	M	C
29	AUTISMO	14	M	C
30	AUTISMO	32	F	C
31	PDD-NOS	14	M	C
32	AUTISMO	5	M	C
33	AUTISMO	11	M	C
34	PDD-NOS	11	M	C
35	AUTISMO	11	M	C
36	AUTISMO	11	M	C
37	AUTISMO	8	M	C
38	AUTISMO	11	M	C
39	AUTISMO	11	F	C
40	AUTISMO	14	M	A
41	AUTISMO	8	M	C
42	AUTISMO	8	M	C
43	AUTISMO	7	M	C
44	AUTISMO	10	M	C
45	AUTISMO	7	M	C
46	ASPERGER	11	M	C
47	AUTISMO	14	F	C
48	PDD-NOS	13	M	C

M=masculino F=feminino; A=asiático; N=negróide; C=caucasóide

II.2.Métodos

II.2.1. Caracterização da classe social

Para inclusão dos indivíduos e controles em classes sociais foram adotados os critérios de Lombardi *et al.*(1998), para a população brasileira, que basearam sua classificação no processo saúde-doença. Esse estudo define as seguintes classes sociais: (1) burguesia; (2) nova pequena burguesia; (3) pequena burguesia tradicional; (4) proletariado não típico; (5) proletariado típico e (6) subproletariado. As Figuras 1, 2 e 3 demonstram o esquema de operacionalização dessas classes sociais.

II.2.2. Antecedentes familiares psiquiátricos

Na investigação de antecedentes familiares psiquiátricos, foram considerados como distúrbios psiquiátricos (DP) aqueles que constam nos critérios do CID 10 e que foram confirmados e acompanhados por psiquiatra. Entre eles foram incluídos depressão, alcoolismo, transtorno de humor e transtorno bipolar.

Relatos de internações psiquiátricas associadas a alterações de comportamento, sem diagnóstico definido, foram considerados como distúrbios psiquiátricos não especificados (DPNE).

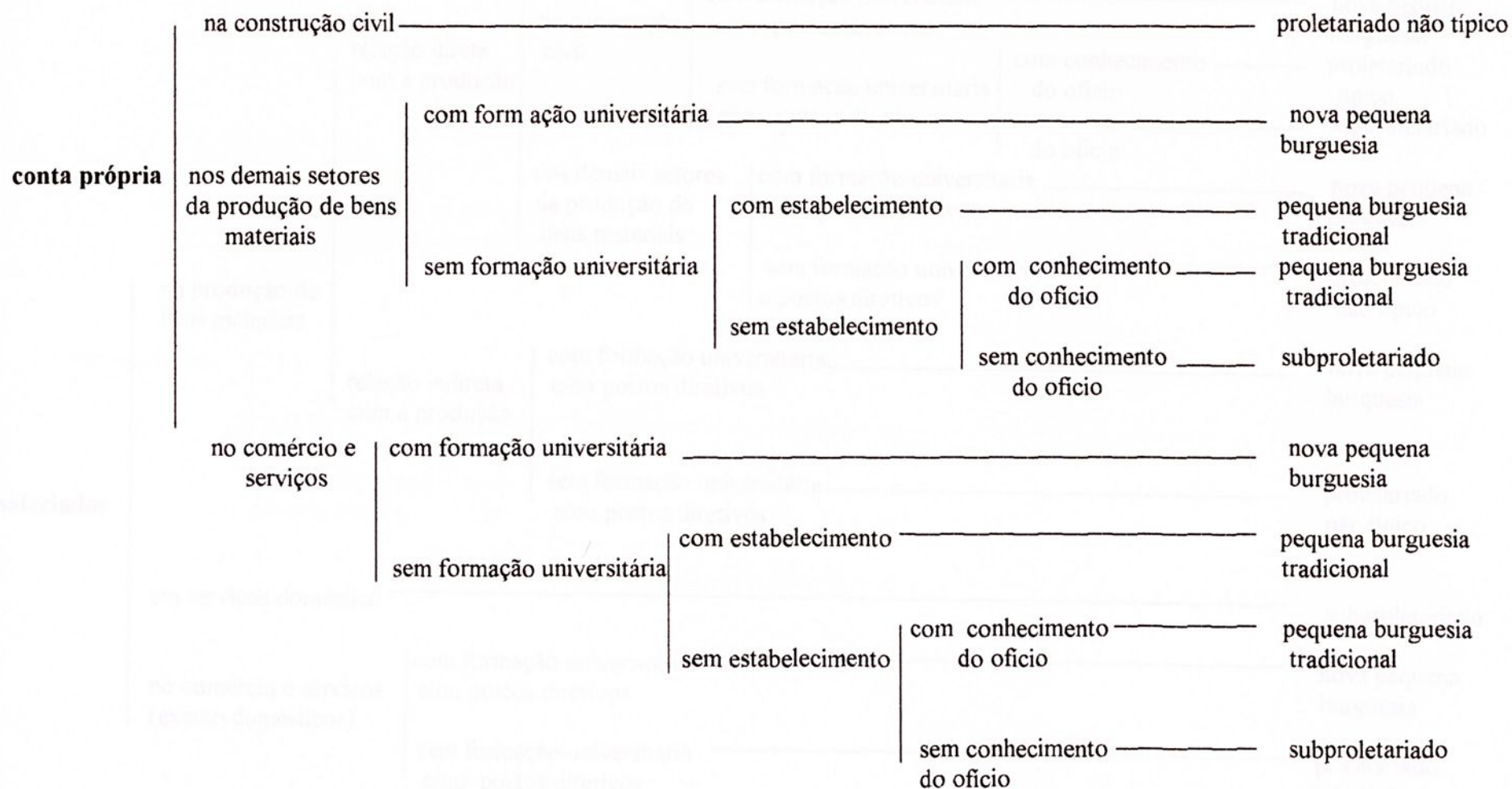


Figura 1. Esquema de operacionalização de nova pequena burguesia, pequena burguesia tradicional, proletariado não típico e subproletariado, segundo Lombardi *et al.* (1998).

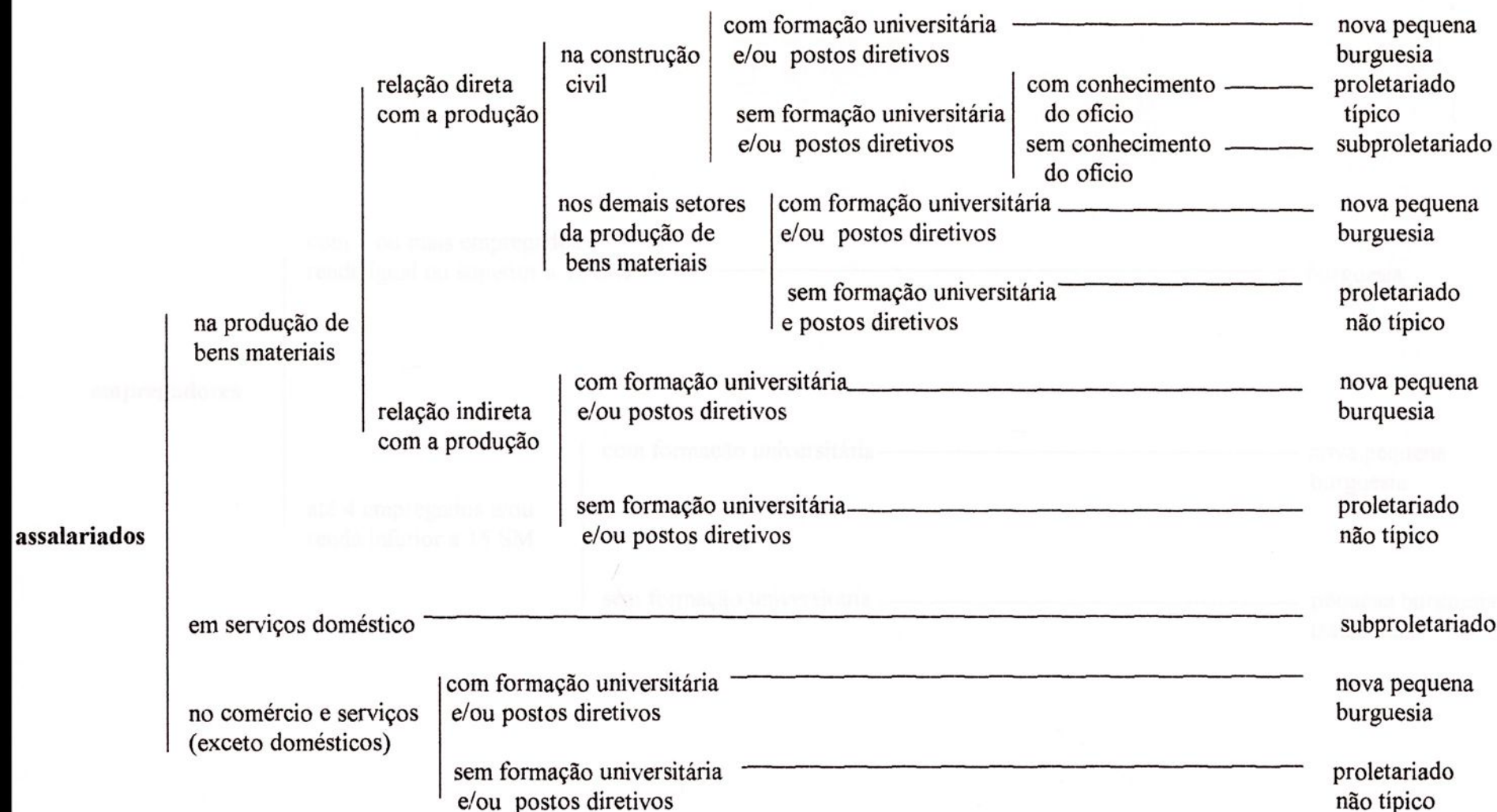


Figura 2. Esquema de operacionalização de nova pequena burguesia, proletariado não típico, proletariado típico e subproletariado, segundo Lombardi *et al.* (1998).

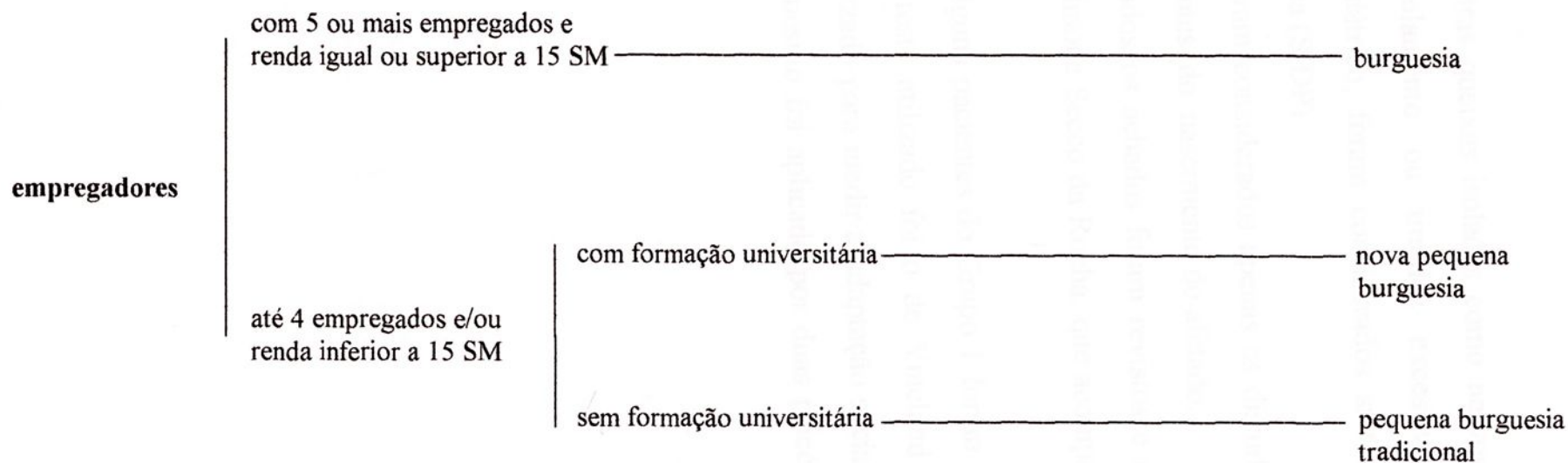


Figura 3. Esquema de operacionalização de burguesia, nova pequena burguesia e pequena burguesia tradicional, segundo Lombardi *et al.* (1998).

Outras queixas isoladas como nervosismo excessivo, tendência ao isolamento ou timidez excessiva, também sem diagnóstico psiquiátrico, foram considerados sintomas isolados de doença psiquiátrica (SIDP).

Foram considerados apenas os distúrbios ou sintomas que ocorreram antes do nascimento do afetado.

Todos os achados foram revistos e discutidos com a psiquiatra Dra. Simone Secco da Rocha, que acompanhou as famílias estudadas.

Alguns pacientes do Grupo 1 foram testados quanto à idade social. O teste utilizado foi o de Vineland (Freeman *et al.*, 1999), que é utilizado para medir a adaptação social segundo a idade cronológica. O mesmo foi aplicado por duas psicólogas das escolas citadas.

II.2.3. Avaliação das características físicas

Cada paciente foi avaliado individualmente, no Ambulatório de Genética do Hospital de Base de São José do Rio Preto e/ou na sala de Fisioterapia das escolas.

Foram investigadas características e medidas físicas, sempre pela mesma equipe, composta entre outros, por um geneticista e um médico pediatra, de acordo com o protocolo padrão utilizado no processo de aconselhamento genético desenvolvido rotineiramente no Hospital. Também foram investigados os antecedentes gestacionais, pessoais e familiares de cada paciente, que foi fotografado em vista frontal e lateral.

Os sinais clínicos observados e possíveis diagnósticos também foram discutidos com geneticistas clínicos de outras instituições (Dr. Antonio Rechieri Costa, USP-Bauru e Dr. Danilo Moretti Ferreira, UNESP-Botucatu)

As alterações físicas e os desvios do padrão de normalidade foram considerados de acordo com os critérios contidos em Jones (1998). Os valores normais esperados para um indivíduo são obtidos utilizando-se curvas de normalidade, construídas a partir de valores observados em grandes grupos amostrais tomados ao acaso, respeitando-se sexo e idade. É considerado anormal todo valor que supera dois desvios padrões da curva média pelo fato deste intervalo de confiança incluir 98% do universo populacional. Nesse estudo foram considerados percentis menores que 2% e maiores que 98%



como desviantes.

Para análise estatística dos resultados obtidos, foi realizada a comparação das proporções encontradas no grupo controle com as respectivas proporções esperadas provenientes do grupo de PDDs. Foi utilizado o teste para comparação de uma proporção com valor fixo (esperado = grupo de PDDs), o teste de Fisher, quando indicado, para comparação de duas proporções, o teste não paramétrico de Krush-Wallis para comparação de medidas e o qui-quadrado para independência e tabelas cruzadas. Para o teste de Fisher foi utilizado o programa S-Plus para Windows, versão 3.3, e outros testes foram feitos pelo MINITAB para Windows, versão 12.23. Foram considerados significativos os valores de $P < 0,05$, ou seja o nível de significância de 5%.



II.2.4.Cultura de linfócitos e bandamento GTG

Para o estudo citogenético foram utilizadas metáfases obtidas de culturas de linfócitos obtidos a partir da coleta de cerca de 5ml de sangue venoso periférico, que foi realizada com seringa estéril descartável, por profissional qualificado (enfermeira). Tais culturas foram desenvolvidas por 72 horas, segundo a técnica de Moorhead *et al.* (1960), com modificações, de acordo com o protocolo padrão utilizado pelo Laboratório de Genética da FAMERP.

Para cada indivíduo foram montados três frascos de cultura. Cada frasco continha 5ml de meio de cultura RPMI 1640, suplementado com 20% de soro fetal bovino, penicilina (100U/ml) e fito-hemaglutinina (PHA-Gibco-0,2 ml/5ml de meio).

Para interrupção da divisão celular, foi adicionado 0,1ml de solução de colquicina Houdé a 4×10^{-6} M em cada réplica, 30 minutos antes da colheita. Após o bloqueio celular, o material foi centrifugado, o sedimento hipotonizado com KCl a 0,075M por 10 minutos, a 37°C, e fixado em metanol: ácido acético (3:1). A suspensão celular foi, então, gotejada em lâminas limpas, molhadas e geladas. Cada caso foi identificado durante toda a execução do projeto por um código, que era conhecido apenas pelos responsáveis pela pesquisa.

De cada paciente, foi realizada a análise do cariótipo em 20 metáfases submetidas ao bandamento GTG, segundo a técnica de Grouchy & Turleau (1977), com modificações. A lâmina foi

mergulhada sequencialmente em tampão Sörensen pH6,8; solução de tripsina 0,2% e solução salina de PBS, respectivamente, por 15 minutos, 2 a 10 segundos e 1 minuto. Posteriormente, foi corada em solução de Giemsa 2% por 3 minutos e lavada em água destilada.

II.2.5.Citogenética Molecular

A técnica de Hibridização *In Situ* Fluorescente (FISH), foi realizada segundo descrição de Knoll *et al.* (1993), com modificações. Para tanto, foram consideradas como áreas ideais para hibridação, aquelas contendo maior densidade de metáfases sem sobreposição de cromossomos, que foram marcadas com lápis diamante, na face inferior de lâminas envelhecidas naturalmente por cerca de cinco dias, à temperatura ambiente.

Inicialmente, foi realizado o pré-tratamento das lâminas, que consistiu da desidratação em uma série de etanol, a 70%, 85% e 100%, por 2 minutos cada, a temperatura ambiente, seguida de secagem ao ar. Logo após, as mesmas foram banhadas em ácido acético 70% durante 1 minuto e meio, lavadas em 3 banhos de 1xPBS por três minutos cada e novamente submetidas à desidratação. Depois de seco, o material foi submetido à ação de uma solução de RNase (100µg/ml) durante 45 minutos, em câmara úmida, a 37°C.

Posteriormente, o material contido nas lâminas foi lavado em três banhos consecutivos de 2xSSC, por 5 minutos cada e

novamente desidratado. A desnaturação do material foi realizada com solução de formamida 70%, pH 7.0, a 75°C, durante 2 minutos, seguida da desidratação com a série de etanol a -20°C.

Para a hibridação foram utilizadas sondas fluorescentes com marcação direta específica; uma para a região 15q11-q13 (LSI Prader Willi - Angelman Region SWRPN - SNRPN Spectrum Orange / CEP D1521, Spectrum Green / PML Spectrum Orange - Dual Color Probe-VYSIS) e a outra para a região 7q31-q33 (LSI D7S486 Spectrum Orange/CEP 7 Spectrum Green Dual Color Probe- VYSIS).

Cada sonda foi preparada segundo o protocolo do fabricante. Foi diluída na solução de Hybrisol 65%, desnaturada a 73°C por 5 minutos e imediatamente aplicada na área de hibridação desejada. Para a hibridação, foram colocados 5µl da solução de sonda sobre as lâminas, que foram imediatamente cobertas com lamínulas de vidro, vedadas com selante e incubadas a 37°C em câmara umedecida com água, por um período de 48 horas.

Após o período de incubação o selante foi retirado e as lâminas mergulhadas em 2xSSC para remoção das lamínulas. Em seguida, para retirar o excesso de sonda, foram lavadas em solução de NP40 0,5% a 63°C durante 2 minutos. Após um banho rápido em 2xSSC à temperatura ambiente, as lâminas foram desidratadas e secas ao ar. Finalmente, receberam 10µl do contracorante (DAPI ou PI) e, então, foram cobertas com lamínula de vidro.

Para controle da eficiência de hibridação foram utilizadas lâminas obtidas de cultura de linfócitos de indivíduos normais. As

análises foram realizadas por dois pesquisadores, que analisaram, cada um, cerca de 20 metáfases, em microscópio de fluorescência Olympus BX60 equipado com lâmpada de 100W. Para a documentação dos resultados foi utilizado Filme Ektachrome 400 ASA (KODAK).

A hibridização foi considerada eficiente nas lâminas com mais de 60% das metáfases marcadas (Harris *et al.*, 1995), que foram analisadas em diferentes quadrantes, para minimizar os problemas resultantes da variação e da eficiência da hibridação. Foram analisadas somente metáfases sem sobreposições e as metáfases sem sinais foram excluídas.

II.2.6.– Extração de DNA de leucócitos

Para posterior investigação molecular da presença da mutação no gene *FMRI*, o DNA genômico de cada indivíduo do sexo masculino foi extraído a partir de leucócitos de sangue venoso periférico, segundo a técnica descrita por Abdel-Rahman *et al.* (1994), com modificações.

O volume de 5ml de sangue venoso periférico foi coletado em tubo *vacutainer* com EDTA. Em um tubo de polipropileno de 15ml foram adicionados 3,5ml de FICOLL PAQUE e 5ml de sangue periférico, este último foi transferido pela parede do tubo. O material foi, então, centrifugado por 30 minutos a 3.500rpm. O sobrenadante (plasma) foi retirado e desprezado. O anel de

leucócitos foi transferido para outro tubo e o volume de 15ml foi completado com PBS. Nova centrifugação foi realizada a 3.500rpm por 12 minutos. O sobrenadante foi retirado e agitado até dissolver o “*pellet*” quando, então, foi completado o volume de 15ml com PBS. O material foi centrifugado a 3.500rpm por 12 minutos e o sobrenadante foi recolhido. O “*pellet*” de leucócitos foi homogeneizado, em seguida foram adicionados 1ml de PBS, 3ml de tampão de lise, (0,2ml da solução SDS, 50µl de proteinase K e 40µl de RNase) e o material foi incubado à 37°C *overnight*.

Ao “*pellet*” de leucócitos foi acrescentado 1ml de NaCl 6M saturado. O tubo foi agitado vigorosamente, colocado no gelo por 15 minutos e agitado novamente, sendo o material centrifugado a 3.500rpm por 15 minutos. O sobrenadante foi transferido para um novo tubo de 15ml e completado com 10ml de etanol absoluto, para precipitação do DNA. O tubo foi invertido delicadamente até a visualização do DNA precipitado, em forma de fios brancos enovelados. O DNA foi “pescado” e colocado em um *eppendorf* de 1,5ml com 500µl de etanol a 70% gelado. O material foi centrifugado a 14.000rpm por três minutos, o etanol 70% foi descartado e o tubo deixado em repouso por 15 minutos. O DNA foi, então, diluído em água estéril e incubado a 37°C por três a quatro dias para diluição. Após este período, o material foi dividido em alíquotas e estocado a -20°C. A estimativa da concentração do DNA foi realizada através de leitura em espectrofotômetro (GeneQuant, Pharmacia).

III-RESULTADOS

III.1-Características Gerais

Foram estudados 48 indivíduos com diagnóstico de Transtornos Invasivos do Desenvolvimento, sendo 32 (67%) homens e 16 (33%) mulheres, com idades que variaram de 5 a 33 anos ($m=14,7$; $dp=6,8$). Entre eles, 37 (77%) apresentaram diagnóstico de autismo, seis (13%) de PDD-NOS, três (6%) de síndrome de Asperger e dois (4%) de síndrome de Rett. Um (2%) era de etnia asiática, três (6%) de etnia negra e 44 (92%) eram caucasóides (Tabela 1). As Figuras 4 e 5 apresentam, respectivamente, as frequências quanto ao sexo e diagnóstico dos pacientes.

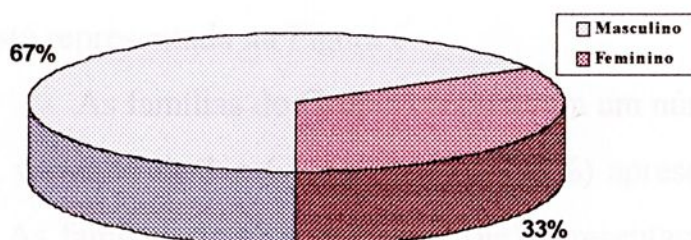


Figura 4. Gráfico representativo das frequências de indivíduos masculinos e femininos na casuística estudada.

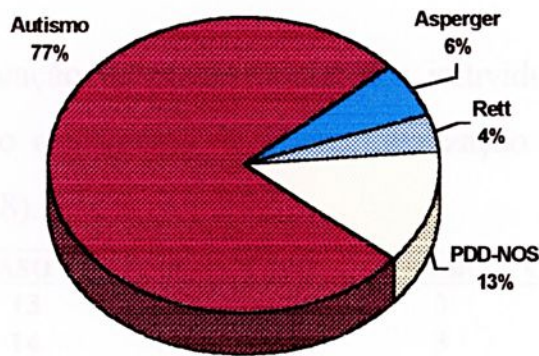


Figura 5. Frequências dos diagnósticos dos pacientes.

A Tabela 2 mostra a classificação das famílias dos indivíduos com PDDs (Grupo 1) quanto à classe social. A maior parte deles (58%) pertencia à classe 4 (proletariado não típico), 15% pertencia à classe 3 (pequena burguesia tradicional), 12,5% à classe 2 (nova pequena burguesia), 12,5% à classe 6 (subproletariado) e 2% pertencia à classe 5 (proletariado típico). A distribuição das classes sociais está representada na Figura 6.

As famílias do Grupo 1 mostraram um número médio de 2,5 filhos, variando de 1 a 6, e a maioria (40%) apresentou 2 filhos por casal. As famílias do Grupo 2 (controle) apresentaram uma média de 2,8 filhos, variando de 1 a 6 e a maioria (37%) também apresentou 2 filhos por casal. Portanto, não houve diferença significativa quanto às frequências de filhos por casal entre os dois grupos.

Em apenas uma família do Grupo 1 (caso 34), os pais eram consanguíneos, primos em primeiro grau. No Grupo 2 não houve relato de consanguinidade.

Tabela 2. Classificação de classe social dos indivíduos do Grupo 1 segundo o esquema de operacionalização de Lombardi *et al.*(1998).

CASO	CLASSE	CASO	CLASSE	CASO	CLASSE	CASO	CLASSE
1	4	13	4	25	3	37	4
2	5	14	4	26	3	38	4
3	6	15	4	27	4	39	4
4	6	16	4	28	4	40	3
5	3	17	4	29	4	41	4
6	6	18	3	30	2	42	4
7	4	19	4	31	2	43	4
8	2	20	4	32	6	44	4
9	4	21	3	33	4	45	4
10	6	22	2	34	4	46	2
11	6	23	4	35	3	47	4
12	4	24	2	36	4	48	4

1=burguesia; 2=nova pequena burguesia; 3= pequena burguesia tradicional;

4= proletariado não típico; 5= proletariado típico; 6 subproletariado

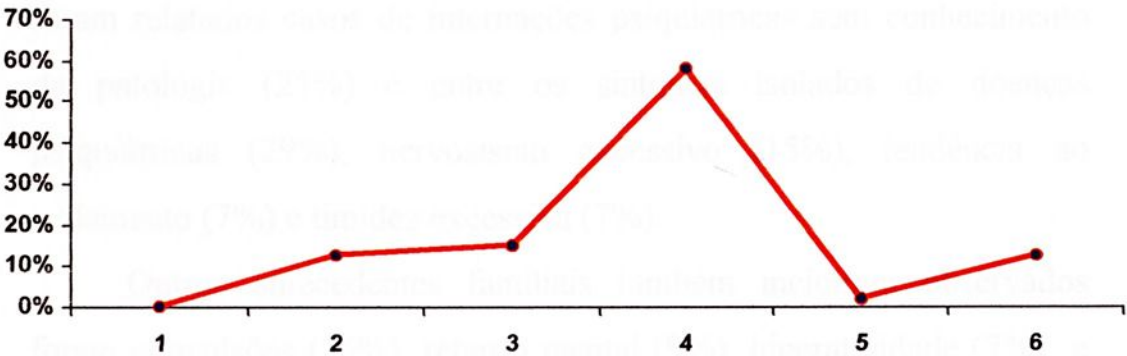


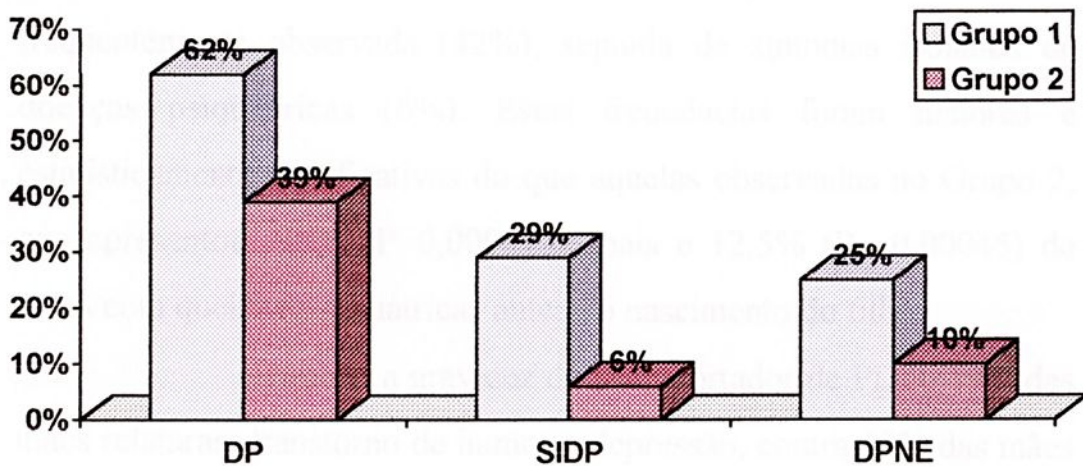
Figura 6. Distribuição das classes sociais do Grupo 1.

III.2. Antecedentes familiares e pessoais

Os antecedentes familiares de distúrbios psiquiátricos (DP) foram observados em 28 (62%) das famílias do grupo de estudo (Grupo 1) e em 19 (39%) daquelas do grupo controle (Grupo 2) e esta diferença foi estatisticamente significativa ($P=0,0065$). Os distúrbios psiquiátricos não especificados (DPNE) e sintomas isolados de distúrbios psiquiátricos (SIDP) foram observados em 25% e em 29% respectivamente, das famílias do Grupo 1 e em 6% e 10% das do Grupo 2 e estas diferenças também foram significativas ($P=0,016$ e $P=0,0005$).

Entre os distúrbios psiquiátricos, os antecedentes mais observados no Grupo 1 foram alcoolismo (47%), depressão (51%), instabilidade de humor (4%) e transtorno bipolar (2%). Entre os DPNE foram relatados casos de internações psiquiátricas sem conhecimento da patologia (25%) e entre os sintomas isolados de doenças psiquiátricas (29%), nervosismo excessivo (15%), tendência ao isolamento (7%) e timidez excessiva (7%).

Outros antecedentes familiares também incluíram observados foram convulsões (35%), retardo mental (9%), hiperatividade (7%) e problemas de fala e linguagem (4%). A Figura 7 mostra a comparação entre os grupos quanto às três classes de antecedentes psiquiátricos.



DP= distúrbio psiquiátrico; SIDP= sintomas isolados de distúrbios psiquiátricos; DPNE= distúrbio psiquiátrico não especificado

Figura 7. Comparação das frequências de distúrbios psiquiátricos entre os dois grupos.

No Grupo 1, a idade média dos pais (idade paterna) foi de 46 anos, variando de 33 a 68 anos, com escolaridade predominante de até segundo grau incompleto (66%) e apenas 8% com superior completo. A idade média materna foi de 41 anos, variando de 25 a 58 anos, e o grau de escolaridade predominante também foi o de até o segundo grau incompleto (54%), com apenas 8% com superior completo. Estas frequências não diferiram significativamente daquelas obtidas do Grupo 2.

Os antecedentes paternos do Grupo 1 revelaram 49% dos pais e 49% das mães com queixas psiquiátricas antes do nascimento do filho afetado. Nos pais as mais freqüentemente observadas foram alcoolismo (28%), depressão (12%) instabilidade de humor (4%) e

transtorno bipolar (2%). Nas mães, a depressão foi a mais frequentemente observada (42%), seguida de sintomas isolados de doenças psiquiátricas (6%). Estas freqüências foram maiores e estatisticamente significativas do que aquelas observadas no Grupo 2, que apresentou 10% ($P=0,0005$) de pais e 12,5% ($P=0,00045$) de mães com queixas psiquiátricas antes do nascimento do filho.

Durante a gravidez do filho portador de PDD, 49% das mães relataram transtorno de humor e depressão, contra 19% das mães dos controles o que também foi estatisticamente diferente entre os dois grupos ($P=0,00093$). O nível de depressão diagnosticada foi de leve a severo, sendo prescrito inclusive, em um caso (21), transfusão sanguínea por falta de alimentação materna.

Quanto à gravidez, foram observados no Grupo 1, dois (4%) casos de rubéola no segundo mês de gestação (casos 3 e 10), dois (4%) casos de mioma (casos 23 e 46), dois (4%) casos de hipertensão arterial (casos 15 e 16), uma (2%) ameaça de aborto (caso 6), uma (2%) tentativa de interrupção com uso de medicamentos (caso 25), um (2%) caso de queda no sétimo mês com fratura dos dois braços (caso 4), um (2%) caso de uso abusivo de álcool até pelo menos o terceiro mês (caso 20) e um (2%) caso de uso de várias drogas ilícitas durante toda a gravidez (caso 25).

Foram detectados 13 casos com história de abortos espontâneos anteriores (casos 2, 4, 6, 8, 10, 14, 19, 20, 26, 33, 40, 42 e 43), dois com recorrência (casos 6 e 26), e quatro casos com história de natimorto (casos 6, 26, 33 e 42). No grupo 2, foram detectados 9

casos de abortos espontâneos, um com recorrência, e 3 casos com história de natimortos.

No Grupo 1, o parto em 45% dos casos foi normal e de 55% cesárea, com 11% dos nascimentos a pré-termo, dois de 7 meses (casos 23 e 25) e três de 8 meses (casos 4, 26 e 32). No Grupo 2, 39% dos partos foram normais e 61% cesareanas, com 14% nascidos a pré-termo. Estas diferenças não diferiram estatisticamente.

O peso médio ao nascimento dos pacientes do Grupo 1 foi de 2,960 Kg, variando de 2,020 a 4,050 Kg e a altura média foi de 48cm, variando de 38 a 53cm. Os casos 18, 25 e 38 foram adotados e estas informações só puderam ser obtidas do caso 38. No Grupo 2, o peso médio ao nascimento foi de 3,272Kg, variando de 1,720 a 6,000Kg, e a altura média foi de 50cm, variando de 45 a 59cm. Estas frequências diferiram estatisticamente com o Grupo 1 apresentando um maior número de crianças com baixo peso e estatura ao nascimento ($P=0,0037$ e $P=0,0012$).

Por outro lado, 14 crianças portadoras de PDDs (31%) necessitaram de cuidados adicionais ao nascimento, principalmente da permanência em incubadora, uma criança teve anoxia neonatal (caso 44), e duas tiveram parada cardíaca e necessitaram de manobras de ressuscitação (casos 17 e 47). Além disso, patologias infantis ocorreram em 54% dos casos, do Grupo 1 e as mais relatadas foram infecções de repetição (31%), febres altas recorrentes sem causa definida (10%) e alergias em geral (6%). A Tabela 3 mostra peso, altura, necessidade de cuidados ao nascimento e ocorrência de



patologias infantis do Grupo 1.

No Grupo 2, seis crianças (12%) necessitaram de cuidados adicionais ao nascimento e onze (23%) tiveram ocorrência de patologias infantis, e estas frequências diferiram estatisticamente daquelas do Grupo 1 ($p=0,01452$; $p=0,00120$).

A recorrência de PDDs foi encontrada em seis famílias (14%) do Grupo 1 e ocorreu entre meio irmãos, tios e primos. Algumas famílias não souberam precisar o quadro e referiram que os outros afetados tinham o mesmo comportamento do seu filho afetado. A família do paciente 33, com diagnóstico de autismo, referiu uma meio-irmã por parte de mãe com retardo mental e comportamento autístico. A paciente 46, com autismo, mostrou um meio-irmão por parte do pai com o mesmo quadro. O caso 47, com diagnóstico de Asperger, apresentou um tio paterno com o mesmo diagnóstico. O caso 2, portador de autismo, teve um tio avô materno com o mesmo quadro. O paciente 19, com autismo, apresentou três outros casos de autismo na família, duas primas e um primo em segundo grau paternos, e o caso 14, também com diagnóstico de autismo, mostrou um primo de terceiro grau com o mesmo quadro.



Tabela 3. Descrição do tipo de parto, peso em grs, altura em cm, e necessidades de cuidados adicionais ao nascimento e ocorrência de patologias na primeira infância do Grupo1.

caso	parto	peso	altura	cuidados	patologias
1	NI	3500	48	N	S
2	C	3050	46	N	N
3	C	1080	45	N	S
4	C	4050	53	N	S
5	NI	2100	42	S	N
6	NI	2200	47	N	S
7	C	3450	51	N	N
8	C	3300	51	N	N
9	C	3450	50	N	N
10	NI	2130	49	S	S
11	NI	3000	48	N	N
12	C	2600	48	N	N
13	C	2800	48	S	N
14	NI	3200	50	N	S
15	NI	2850	47	N	N
16	NI	2900	47	N	N
17	C	2550	48	S	N
18	NI				S
19	C	3200	50	S	N
20	NI	2800		N	S
21	NI	3200	51	S	S
22	C	2720	47	N	N
23	C	2047	47	S	S
24	NI	2650	46	S	S
25	NI				S
26	C	2720	41	N	S
27	NI	3900	53	S	S
28	C	4100	51	N	S
29	C	3150	49	N	S
30	NI	2670	47	N	S
31	C	3800	49	N	S
32	NI	2920	48	N	N
33	C	2090	47	S	S
34	NI	3050	50	N	S
35	C	3500	50	N	N
36	NI	2750	48	N	N
37	NI	4100	53	N	N
38	C	2800	48	N	N
39	NI	2750	47	N	N
40	C	2020	38	N	N
41	C	3500	51	N	N
42	NI	3450	49	S	S
43	C	2200	45	S	S
44	C	3320	49	S	S
45	C	2400	50	N	S
46	C	3500	50	N	S
47	NI	2900	49	S	N
48	C	3600	49	N	S

C=normal; NI=normal; S=sim; N=não



III.3. Características Físicas

Em 54% dos pacientes do Grupo 1 foi observado peso atual abaixo da média, com 27% dos casos situando abaixo do percentil 2 em relação à idade. A altura também mostrou 73% de pacientes abaixo da média, com 27% apresentando $P < 2$. Estas diferenças foram significativamente menores do que aquelas do Grupo 2, que apresentou 6% dos casos com $P < 2\%$ em relação ao peso e 8% com $P < 2\%$ para estatura ($p=0,0023$ e $p=0,003$, respectivamente).

As medidas do perímetro torácico (PT) não revelaram diferença significativa entre os dois grupos. Quanto ao perímetro cefálico (PC), 29% dos indivíduos situaram-se abaixo da média, com 12,5% dos casos com microcefalia ($P < 2\%$); 62% mostraram PC acima da média, com 29% dos casos apresentando macrocefalia ($P > 98\%$). No Grupo 2, 19% dos indivíduos apresentaram PC abaixo da média, com 0% de microcefalia e 70% tinham este perímetro acima da média, com 20% dos casos com macrocefalia. Embora as frequências de crianças com macro e microcefalia no Grupo 1 tenham sido maiores, elas não diferiram estatisticamente das do Grupo 2.

A medida da distância intercantal interna (DII) mostrou hipertelorismo ocular ($P > 98\%$) em 29% dos casos do Grupo 1 e em 6% dos do Grupo 2. Estas diferiram estatisticamente ($P=0,0023$).

Entre os pacientes do Grupo 1, 69% e 60%, respectivamente, mostraram mãos e pés pequenos, sendo que 27% dos

pacientes mostraram percentis menores que 2% para o tamanho das mãos e 29% deles para o tamanho dos pés. Estas frequências diferiram significativamente daquelas do Grupo 2 ($P=0,0014$ e $P=0,0023$). A Tabela 4 apresenta os percentis obtidos das medidas dos pacientes do Grupo 1 e as Figuras 8, 9, 10, 11, 12, 13 e 14 mostram a comparação entre os dois grupos quanto ao peso e estatura atuais, PC, PT, DII e comprimento das mãos e dos pés, respectivamente.



Tabela 4. Percentis obtidos à partir das medidas de peso, altura, PC, PT, DII e comprimento da mãos e dos pés dos pacientes do Grupo 1.

CASO	PESO	ALTURA	PC	PT	DII	MÃOS	PÉS
1	<98	25-50	<98	<98	<98	50	75-98
2	<98	25-50	50-98	<98	<98	25-50	75-98
3	70-95	>25	50	<98	25-50	25-50	>2
4	<98	25-50	<98	<98	<98	2-25	<98
5	>2	>2	50	25-50	<98	2-25	>2
6	>2	50-75	50-98	25-50	25-50	2-25	50-75
7	<98	>25	<98	<98	25-50	25-50	25-50
8	>2	50	50-98	25-50	75-98	25-50	25-50
9	>2	25-50	50-2	25-50	>2	25-50	50
10	>2	>2	>2	25-50	75-98	>2	>2
11	25-50	>2	50-2	75-98	>2	2-25	>2
12	25-50	>2	50	25-50	2-25	2-25	>2
13	>2	>2	50-2	25-50	25-50	25-50	2-25
14	50-75	25-50	50-98	<98	<98	>2	2-25
15	50	50-75	<98	25-50	75-98	25-50	2-25
16	<98	>2	50-98	<98	<98	25-50	2-25
17	25-50	>25	50-98	<98	25-50	50-75	50-75
18	75-98	50-75	<98	>2	75-98	<98	<98
19	>2	>25	50-98	25-50	75-98	25-50	25-50
20	>2	>25	>2	2-25	2-25	>2	2-25
21	<98	50-75	<98	<98	<98	<98	<98
22	25-50	25-50	50-98	75-98	75-98	<98	<98
23	>2	>2	>2	25-50	50	>2	>2
24	25-50	25-50	<98	75-98	50	>2	>2
25	50-75	25-50	<98	2-25	<98	>2	>2

Continua

Tabela 4. Continuação

CASO	PESO	ALTURA	PC	PT	DII	MÃOS	PÉS
26	<98	75-90	<98	<98	75-98	25-50	50-75
27	<98	25-50	<98	<98	50	<98	75-98
28	25-50	50-75	<98	50	25-50	75-98	50-75
29	25-50	50-75	50-2	50-75	50-75	>2	50-75
30	50-75	>2	50-98	<98	<98	2-25	2-25
31	75-98	>25	50-2	75-98	50	25-50	2-25
32	2-25	>25	50-2	<98	<98	25-50	25-50
33	2-25	>2	50-98	<98	<98	>2	>2
34	50	25-50	50-98	75-98	<98	50	>2
35	75-98	50	<98	<98	50	>2	75-98
36	50-75	50	50-75	<98	25-50	<98	75-98
37	2-25	2-25	>2	25-50	50-75	>2	>2
38	50-75	50-75	50-98	75-98	75-98	<98	75-98
39	2-25	25-50	50-98	25-50	75-98	50-75	>2
40	2-25	>2	50-98	25-50	75-98	50-75	>2
41	>2	>2	2-50	2-25	50-75	>2	>2
42	75-98	50-75	50-98	50-75	75-98	50-75	>2
43	>2	>2	>2	2-25	<50-75	>2	2-25
44	>2	2-25	>2	2-25	<98	50	2-75
45	50	25-50	2-50	2-25	50-75	>2	50-75
46	<98	<98	<98	<98	75-98	<98	75-98
47	25-50	>2	50	50	50	25-50	75-98
48	25-50	25-50	50-98	75-98	<98	2-25	>2

PC= perímetro cefálico; PT= perímetro torácico; DII= distância intercantal interna

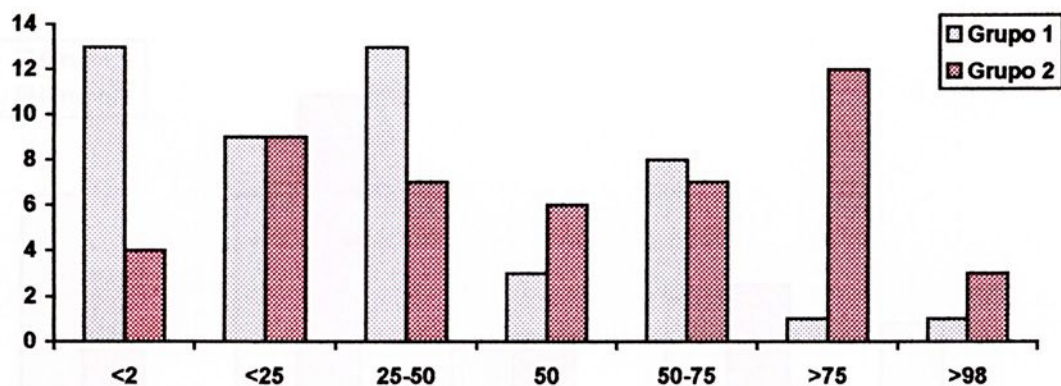


Figura 8. Comparação dos percentis de peso dos dois grupos.

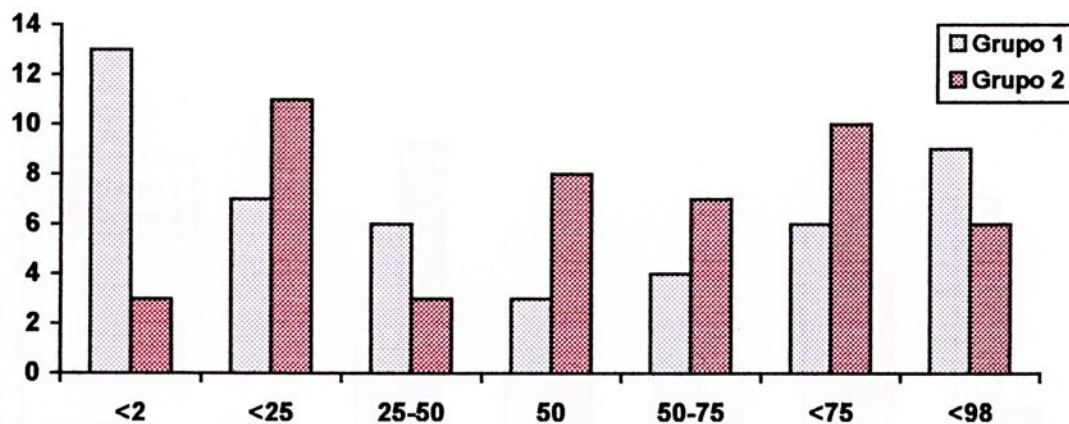


Figura 9. Comparação dos percentis da estatura dos dois grupos.

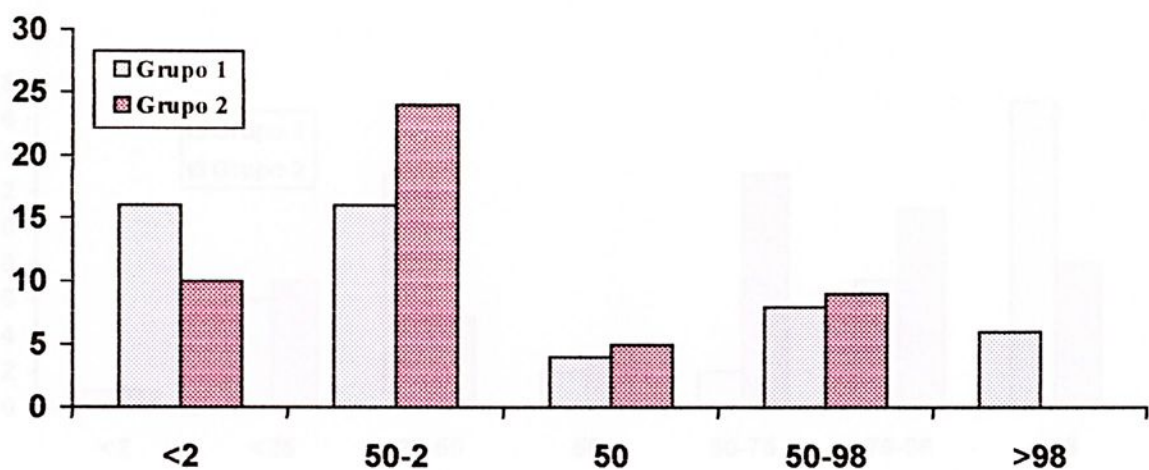


Figura 10. Comparação dos percentis do perímetro cefálico dos dois grupos.

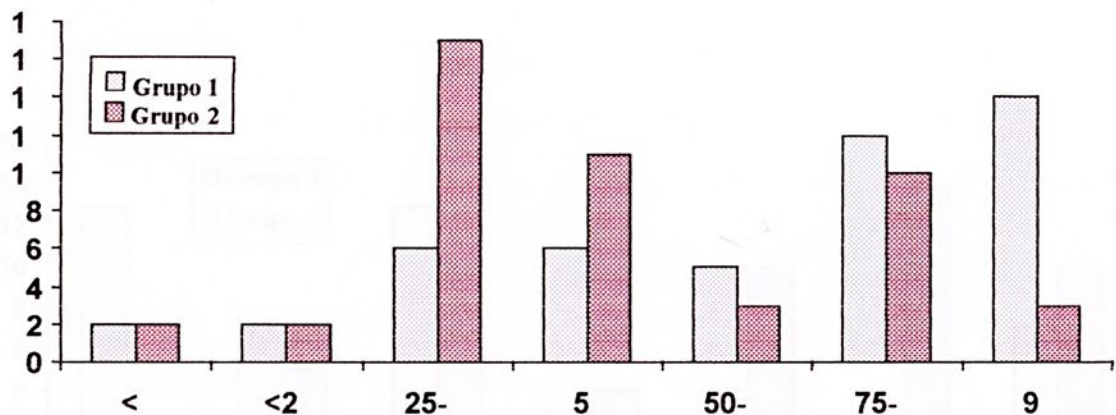


Figura 11. Comparação dos percentis do perímetro torácico dos dois grupos

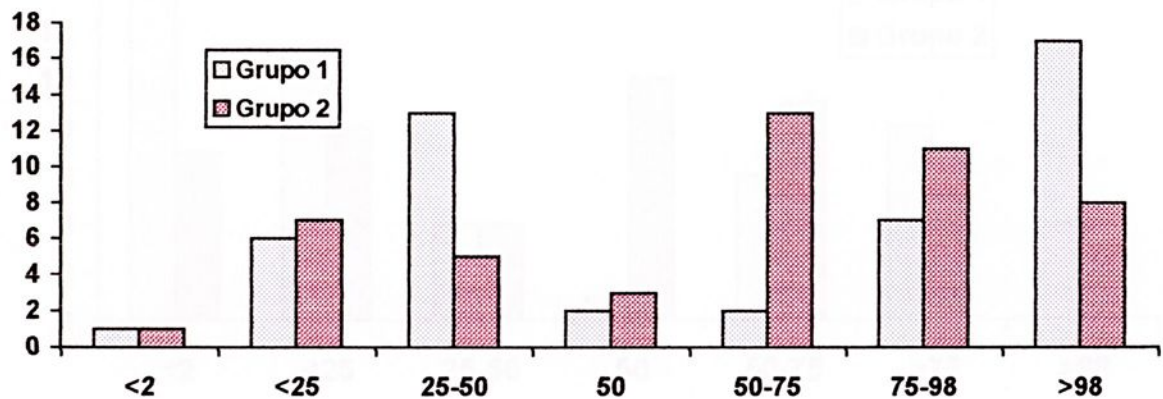


Figura 12. Comparação dos percentis de distância intercanal interna dos dois grupos.

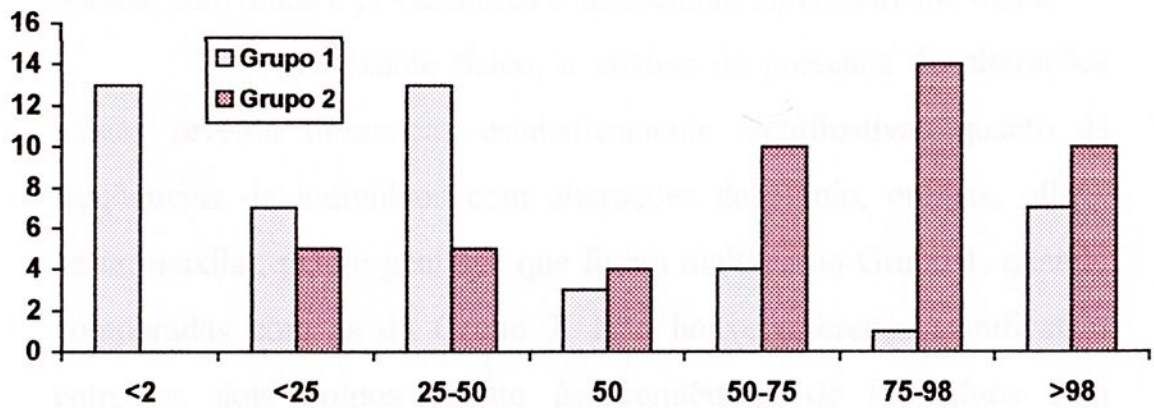


Figura 13 . Comparação dos percentis do comprimento das mãos dos dois grupos

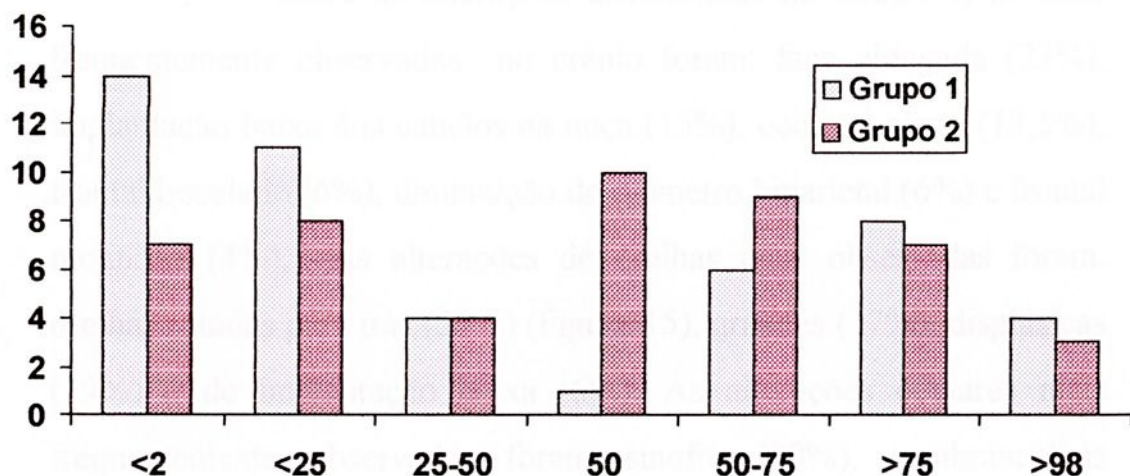


Figura 14. Comparação dos percentis do comprimento dos pés dos dois grupos.

Portanto, a análise destas medidas revelou que os pacientes do Grupo 1 foram significativamente menos pesados, mais baixos, com mãos e pés menores e apresentam hipertelorismo ocular.

Ao exame físico, a análise da presença de alterações físicas revelou diferenças estatisticamente significativas quanto às frequências de indivíduos com alterações de crânio, orelhas, olhos, nariz, maxilar, pele e genitais, que foram maiores no Grupo 1, quando comparadas com as do Grupo 2. Não houve diferença significativa entre os dois grupos quanto às frequências de indivíduos com alterações em boca, tórax, coluna, membros superiores e inferiores. A Tabela 5 mostra as frequências de pacientes com alterações, por região do corpo, nos dois grupos estudados.

Entre as alterações encontradas no Grupo 1, as mais frequentemente observadas no crânio foram: face alongada (23%), implantação baixa dos cabelos na nuca (15%), occipital plano (12,5%), frontal bocelado (6%), diminuição do diâmetro biparietal (6%) e frontal reclinado (4%). As alterações de orelhas mais observadas foram: orelhas rotadas para trás (33%) (Figura 15), grandes (17%), displásicas (19%) e de implantação baixa (6%). As alterações oculares mais frequentemente observadas foram sinofre (20%), sombrancelhas hirsutas (16%), epicanto (15%), fissuras palpebrais oblíqua para baixo (15%), fissuras palpebrais estreitas (10%), ptose palpebral (4%), nistagmo (4%) e microftalmia (4%). Alterações mais frequentes no nariz e região nasal foram: narinas antivertidas (21%), columela proeminente (19%), nariz pequeno (17%) e filtrum naso labial longo (10%). Prognatia e macrognatia ocorreram em 27% e 8% dos casos, respectivamente. Macrogenitalismo e hérnia umbilical tiveram uma frequência de 6%, hipogenitalismo de 4% e criptorquidia de 2%. Alterações mais frequentes encontradas na pele foram hirsutismo generalizado (10%) e nevos pigmentados.



Tabela 5. Frequências de pacientes quanto à presença de alterações físicas menores em diferentes locais do corpo, nos grupos 1 e 2.

Local	Grupo 1		Grupo 2		P
	Nº	%	Nº	%	
Crânio	34	71	10	21	0,0000*
Orelhas	31	64	15	31	0,0005*
Olhos	42	87	26	54	0,0001*
Nariz	31	64	16	33	0,0011*
Boca	20	41	15	31	0,1445
Maxilar	21	44	10	21	0,0818
Pescoço	4	8	0	0	0,2053
Tórax	16	33	14	29	0,3298
Coluna	12	25	51	0	0,3064
Abdomen	10	21	0	0	0,0004*
MMSS	28	58	21	44	0,0764
MMII	18	37	15	31	0,2595
Genitais	10	21	0	0	0,0004*
Musculatura	11	23	2	4	0,0036*
Pele	20	41	2	4	0,0000*

* diferença estatisticamente significativa

MMSS= membros superiores

MMII= membros inferiores

III.4. Associação com outras doenças genéticas ou ambientais

Pode ser sugerida comorbidade com outras patologias genéticas em 13 (27%) casos e com doenças ambientais em 4 (8%) dos casos. A Tabela 6 mostra os diagnósticos sugeridos para cada um dos casos.

A Tabela 6. Diagnósticos sugeridos para os pacientes do Grupo 1.

Paciente	Diagnóstico
1	Síndrome de Cohen
3	Embriopatia rubeólica
8	Síndrome do X frágil
10	Embriopatia rubeólica
20	Síndrome Alcoólica Fetal
23	Síndrome de Turner
25	Disrupção por drogas ilícitas
27	Síndrome de Momo
28	Síndrome do X frágil
29	Esclerose Tuberosa
34	Síndrome do X frágil
37	Síndrome do X frágil
40	Síndrome do X frágil
41	Síndrome do X frágil
43	Cornélia de Lange
44	Síndrome do X frágil
48	Síndrome do X frágil

Figura 16. Paciente 1, portadora da Síndrome de Cohen

A paciente 1 (Figura 16), 22 anos, com diagnóstico de autismo, apresentou hipotonia, baixa estatura, obesidade truncal, ponte nasal alta,iltrum naso labial curto, boca frequentemente aberta, incisivos centrais proeminentes, hipoplasia maxilar, micrognatia, retardo mental, mãos e pés pequenos, dedos e artelhos afilados e longos, genu valgo e diminuição da acuidade visual. O cariótipo foi compatível com feminino normal (46,XX) e o quadro clínico foi sugestivo da síndrome de Cohen. Os pais são fenotipicamente normais, não consanguíneos e negaram a presença de outros casos semelhantes na família.

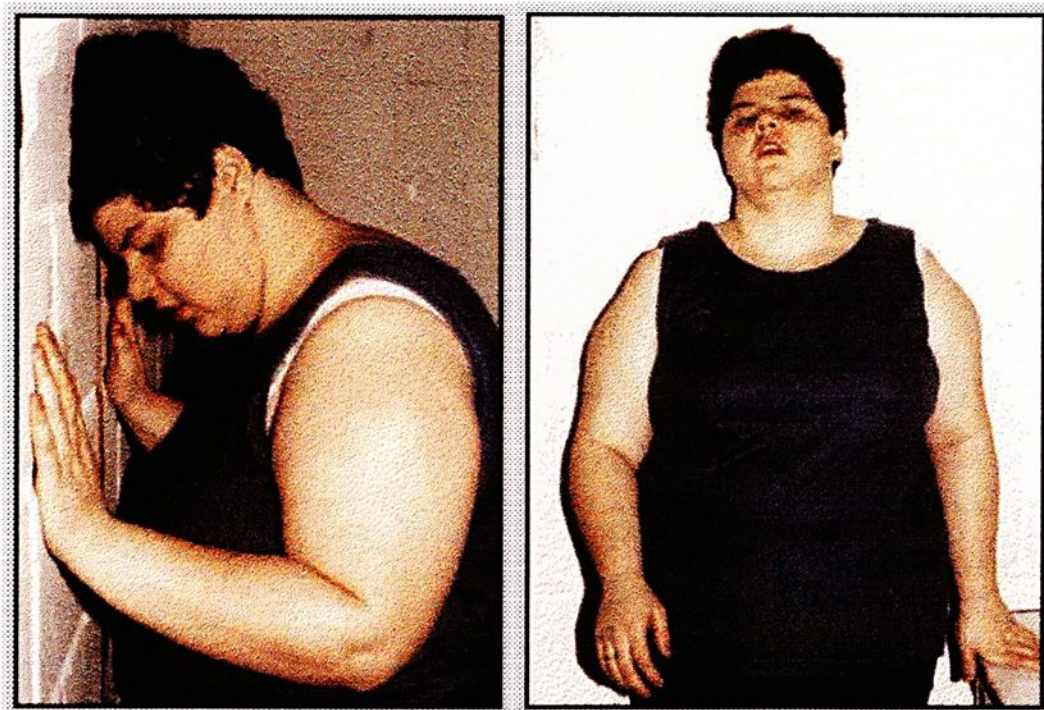


Figura 16. Paciente 1, portadora da Síndrome de Cohen.

A paciente 23 (Figura 17), 16 anos, portadora de autismo, apresentou 10% de células monossômicas para o cromossomo X, observadas com o uso do bandamento GTG (45,X/46,XX) e da técnica de FISH (Figura 18). Os sinais clínicos foram compatíveis com a síndrome de Turner e incluíram: amenorréia primária, baixa estatura, implantação baixa dos cabelos na nuca, pescoço curto e alado, ptose, estrabismo, pavilhões auriculares grandes e com implantação baixa, aumento da amplitude da boca, lábio superior reto, nevos pigmentados em face e torax, destrocardia, problemas intestinais congênitos e alterações eletroencefalograficas. Os pais são normais, não consangüíneos e negaram a presença de outros casos semelhantes na genealogia.

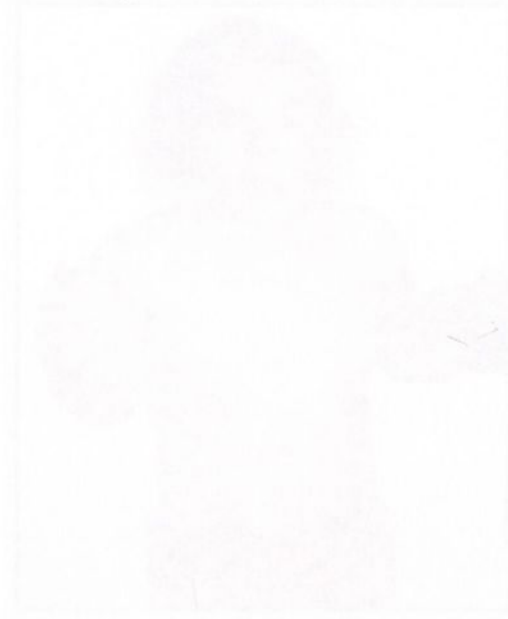


Figura 17. Paciente 23, portadora da síndrome de Turner.

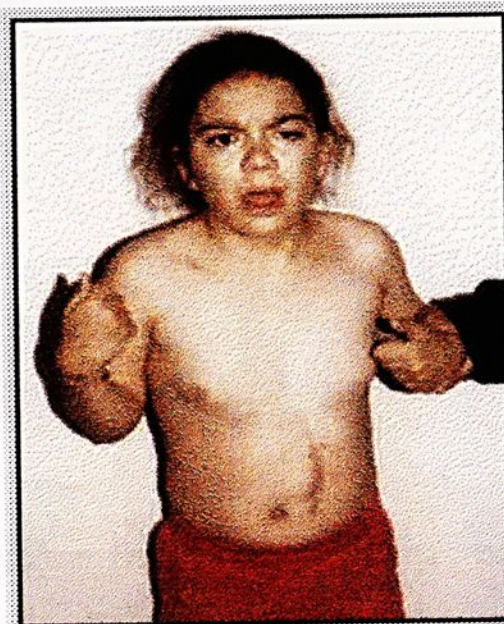
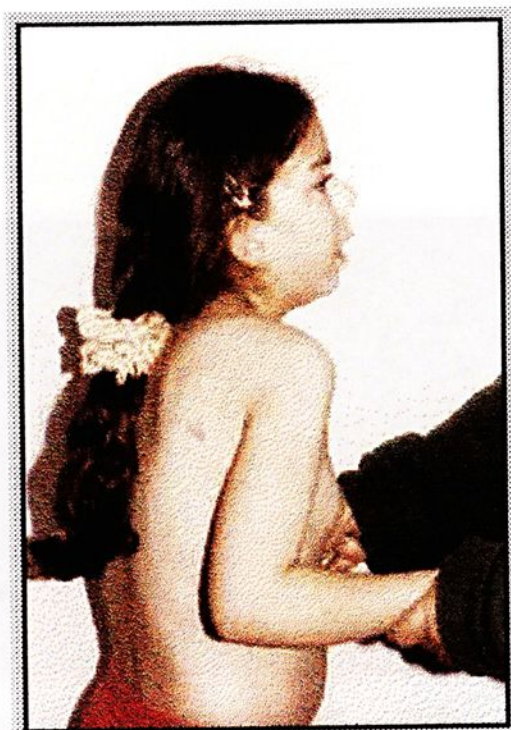


Figura 17. Paciente 23, portadora da síndrome de Turner.

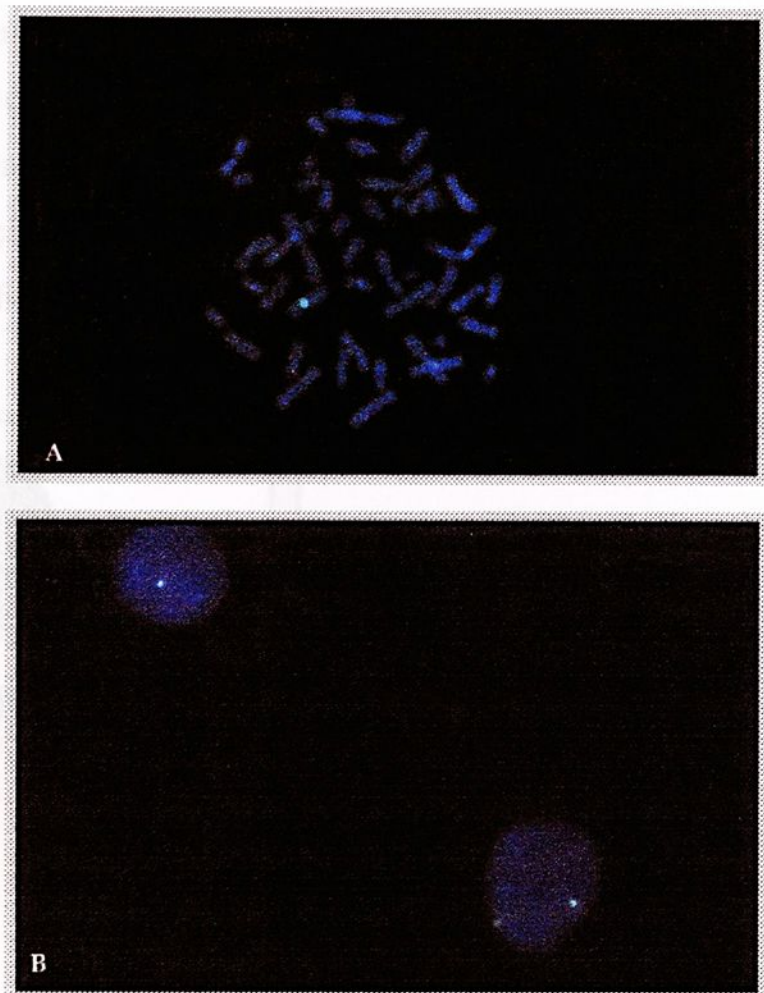


Figura 18. Metáfase (A) e núcleos interfásicos (B) submetidos à técnica de FISH, hibridadas com a sonda centromérica para o cromossomo X, apresentando células 45,X e 46,XX, da paciente 23.

A síndrome de MOMO pôde ser sugerida para o paciente 27 (Figura 19). Neste paciente, autista, 29 anos, pode ser observado: obesidade, macrocefalia, pescoço curto, microftalmia, estrabismo, hipertelorismo ocular, base e ponte nasal largas, macroglossia, palato alto e mãos e pés grandes. O exame do cariótipo foi compatível com masculino normal (46,XY) e o eletroencefalograma mostrou desorganização difusa da atividade elétrica cerebral. Trata-se de caso esporádico, filho de pais normais, não consanguíneos.

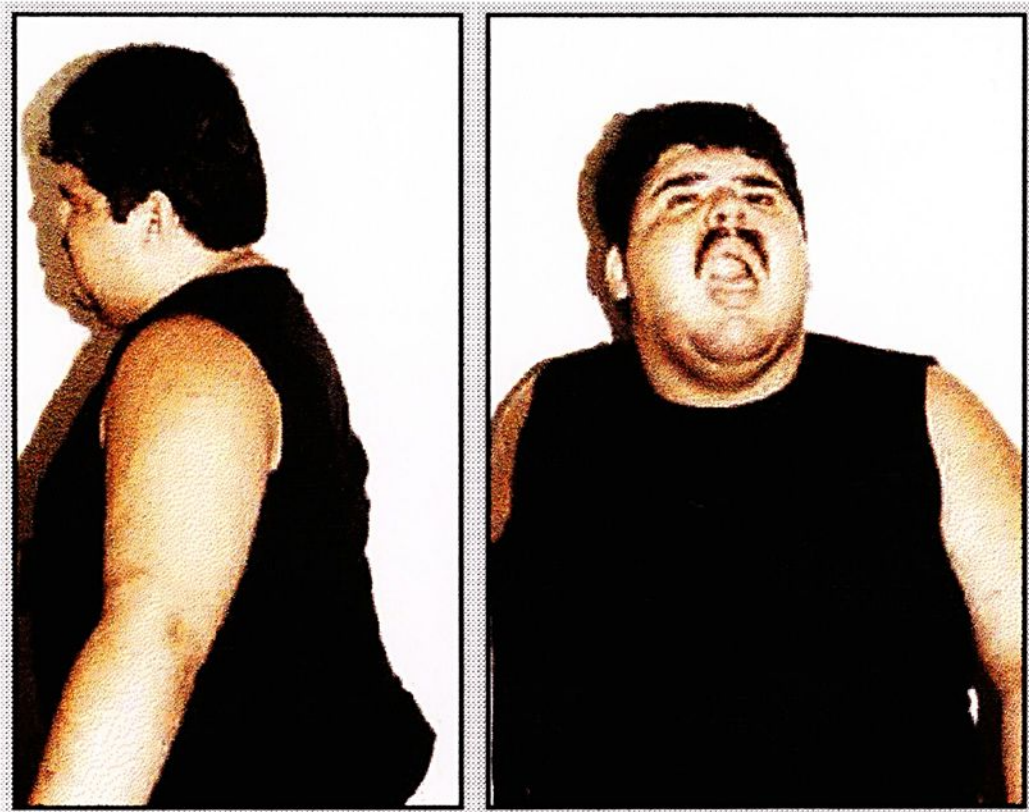


Figura 19. Paciente 27, possível portador da síndrome de Momo

O paciente 29 (Figura 20 A e B), portador de PDD-NOS mostrou sinais clínicos sugestivos de Esclerose Tuberosa (doença de Bourneville): calcificações intracranianas, nódulos cutâneos hamartomatosos na face, especialmente no nariz, bochecha e no sulco naso labial, máculas brancas e defeitos do esmalte dentário. O paciente apresentou, ainda, tumores de Koenen nos quirodáctilos (Figura-20C). O exame do cariotipo, foi compatível com masculino normal (46,XY).

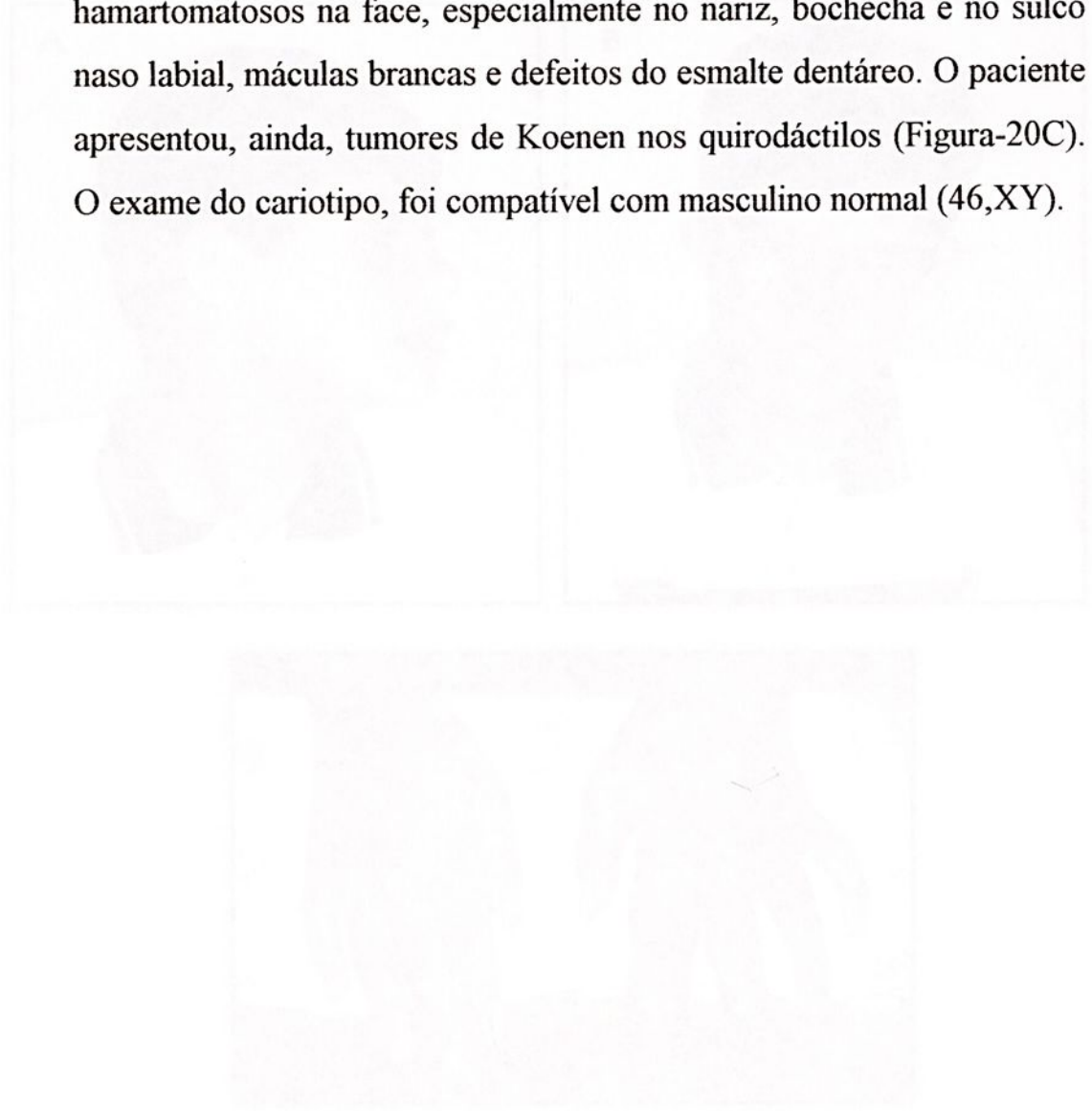


Figura 20. Paciente 29, portador de Esclerose Tuberosa. (A) radiografia do crânio, (B) sinais faciais e (C) nódulos dos quirodáctilos.

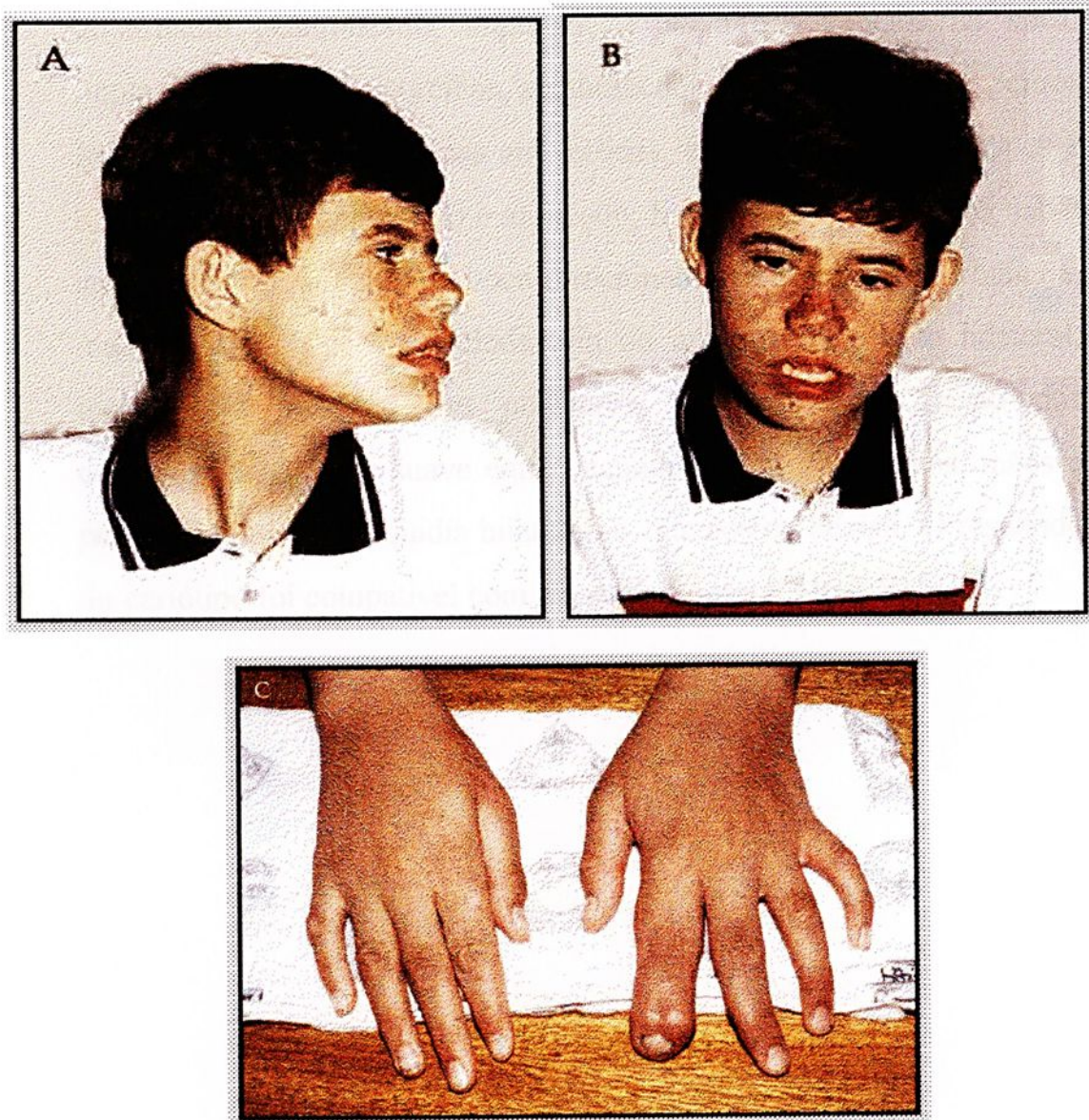


Figura 20. Paciente 29, portador de Esclerose Tuberosa. (A) vista lateral, (B) vista frontal e (C) mãos do paciente.

O Caso 43 (Figura 21), autista, 7anos, apresentou sinais clínicos sugestivos de síndrome de Brachmann De Lange (Cornélia de Lange) que incluiu a presença de baixa estatura, atraso da idade óssea, microcefalia, braquicefalia, choro fraco e rosnante, hirsutismo generalizado, implantação baixa dos cabelos na nuca, implantação baixa das orelhas, sombrancelhas espessas, sinofres, cílios longos e recurvados, narinas antivertidas, erupção tardia dos dentes e dentes esparsos, palato alto e arqueado, filtrum naso labial longo, lábio superior fino e angulos da boca direcionados para baixo, micrognatia, mamilos hipoplásicos, clindodactilia do quinto quirodactilo bilateral, implantação proximal dos polegares, contratura em flexão dos cotovelos, sindactilia suave entre segundo e terceiro artelhos, mãos e pés pequenos, criptorquidia bilateral, e cálculos na bexiga. O resultado do cariótipo foi compatível com masculino normal (46,XY).

Figura 21. Fotografia da criança do caso 43, Cornélia de Lange.

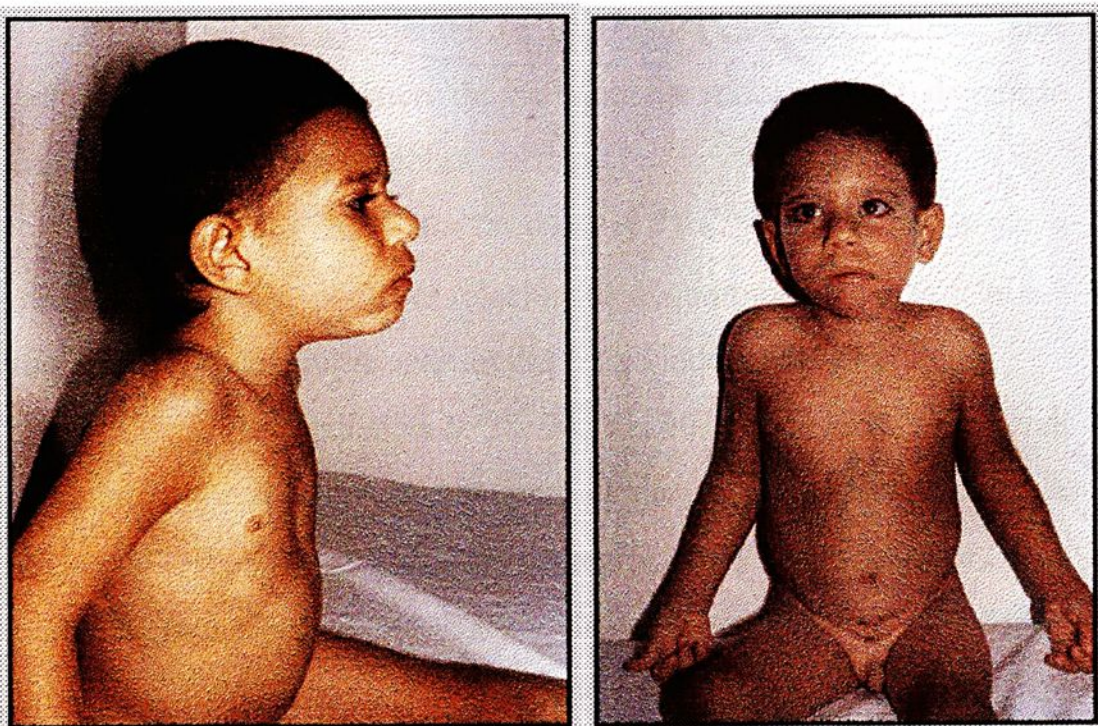


Figura 21. Paciente 43, portador da síndrome de Cornélia de Lange

Em função do quadro clínico e das histórias gestacionais, confirmadas por dados obtidos de prontuário médico e de informações coletadas e confirmadas por assistentes sociais em visitas domiciliares, outras hipóteses diagnósticas puderam ser sugeridas para alguns pacientes do Grupo 1.

Para a pacientes 3 e 10 (Figura 22 A e B), autista, pôde ser sugerido o diagnóstico de embriopatia rubeólica, ou disrupção causada pelo vírus da rubéola.

Nos casos 20 e 25 (figuras 23 e 24), respectivamente, a etiologia do PDDs pôde ser relacionada à síndrome alcoólica fetal e à disrupção causada por drogas ilícitas no período gestacional.

Os pacientes 8, 28, 34, 37, 40, 41, 44 e 48, todos com diagnóstico de autismo apresentaram clínica sugestiva de FRAXA. A Figura 25 mostra três destes pacientes com sinais clínicos que incluíram face alongada, orelhas grandes e em abano e macroorquidia.

Os pacientes com síndromes gênicas associadas não foram excluídos da análise estatística para comparação das características físicas, pois a relação etiológica entre estas síndromes e PDDs não é esclarecida, e os estudos da literatura não relatam tal exclusão.

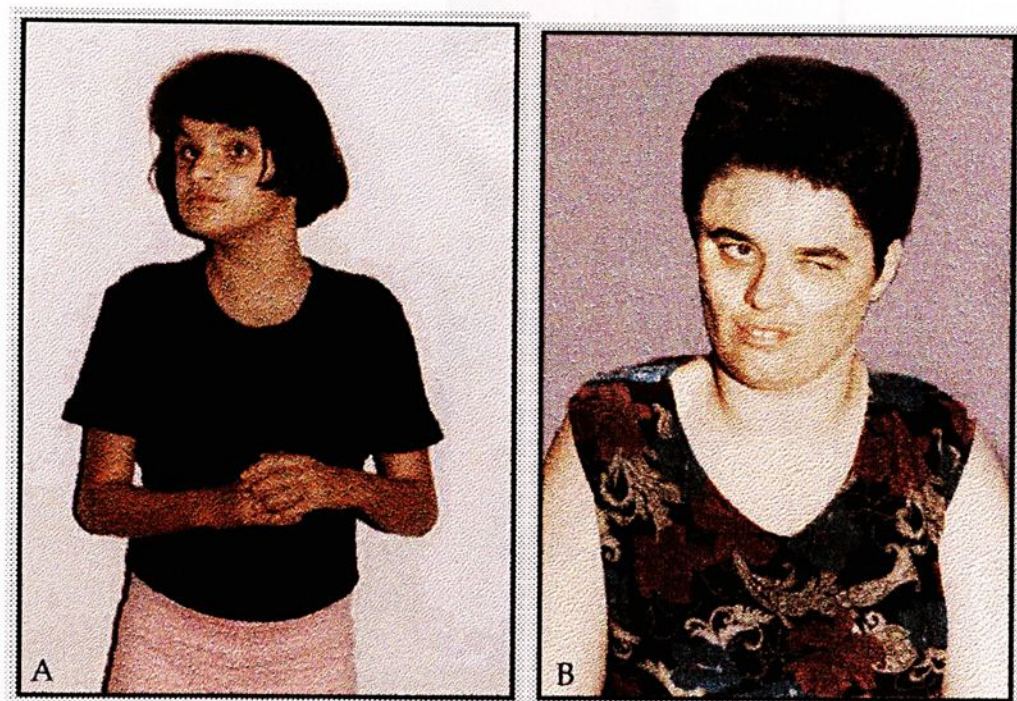


Figura 22. Pacientes 3 (A) e 10 (B) com embriopatia rubeólica

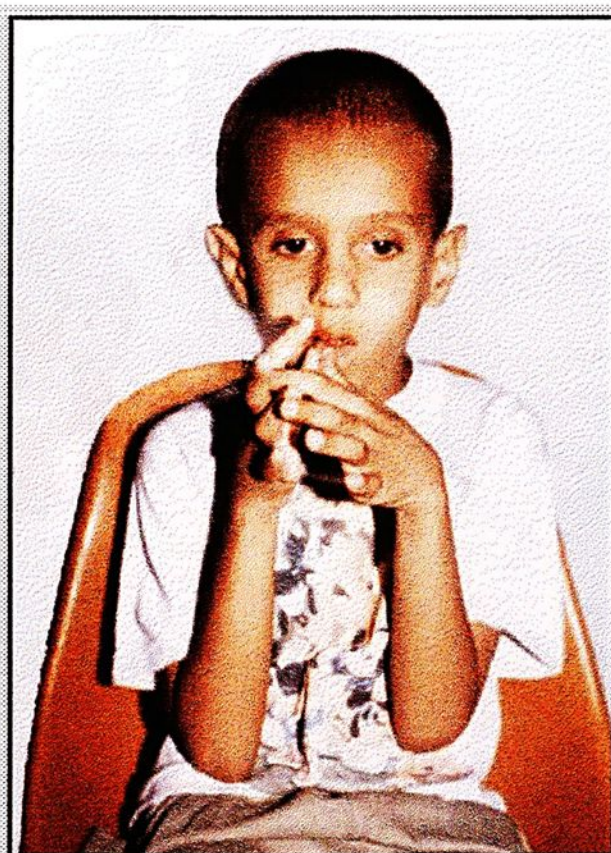


Figura 23. Paciente 20, apresentando síndrome alcoólica fetal.



Figura 24. Paciente 25, com provável disrupção causada por drogas ilícitas durante a gravidez.

III.3. Exame clínico

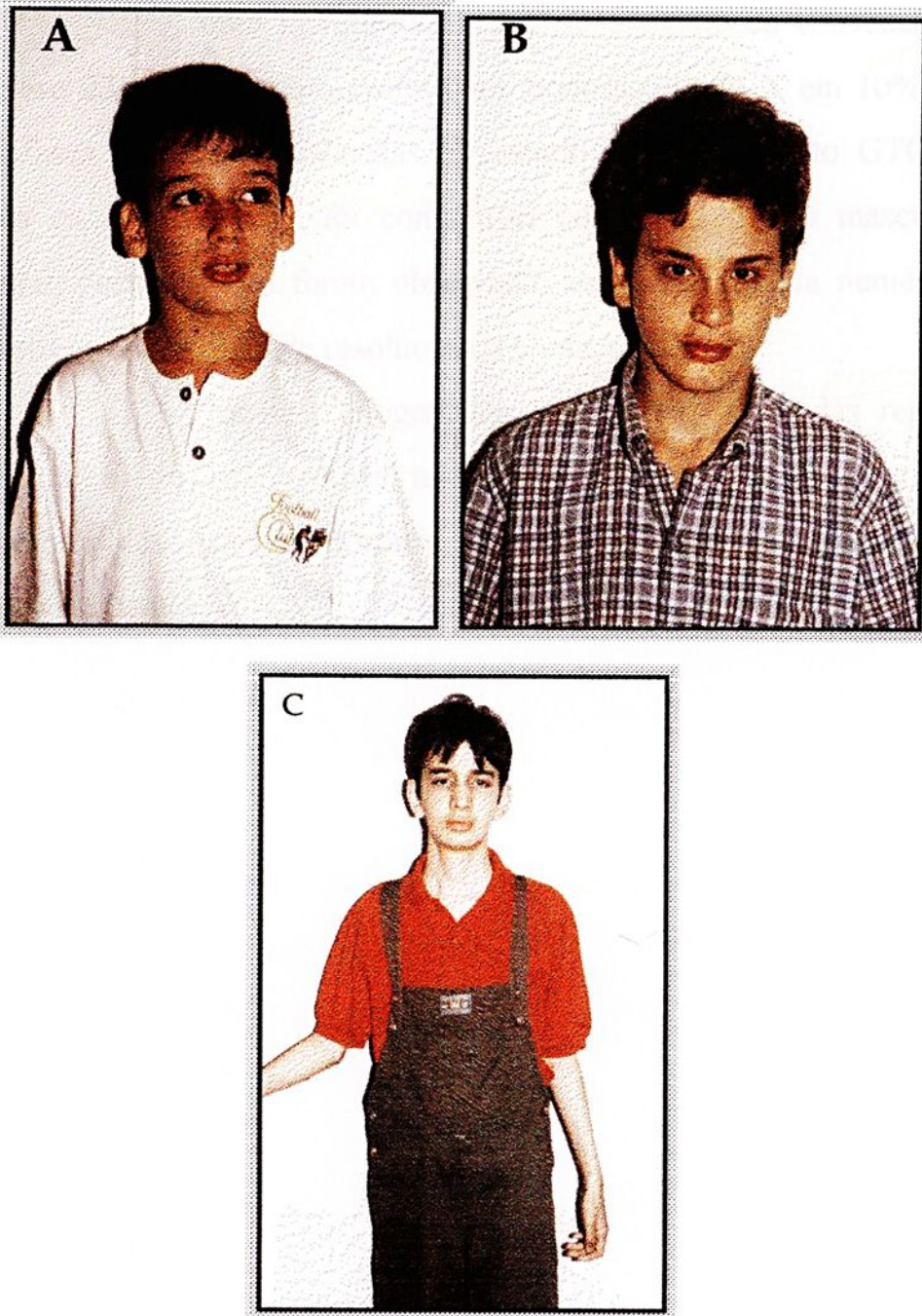


Figura 25. Pacientes 34 (A), 28 (B) e 8 (C) com hipótese diagnóstica de síndrome do cromossomo X frágil.

III.5. Estudo citogenético

Como já referido, a análise citogenética convencional do caso 23 mostrou mosaicismo para monossomia do X em 10% das metáfases e núcleos analisadas. O estudo em bandamento GTG de todos os demais casos foi compatível com feminino ou masculino normal, portanto, não foram observadas cromossomopatia numéricas ou estruturais no nível de resolução da técnica utilizada.

A análise citogenética molecular (FISH) das regiões 7q31-q33 e 15q11q13 também não mostrou variação de número ou de tamanho dos sinais normais esperados (Figura 26 e 27, respectivamente).

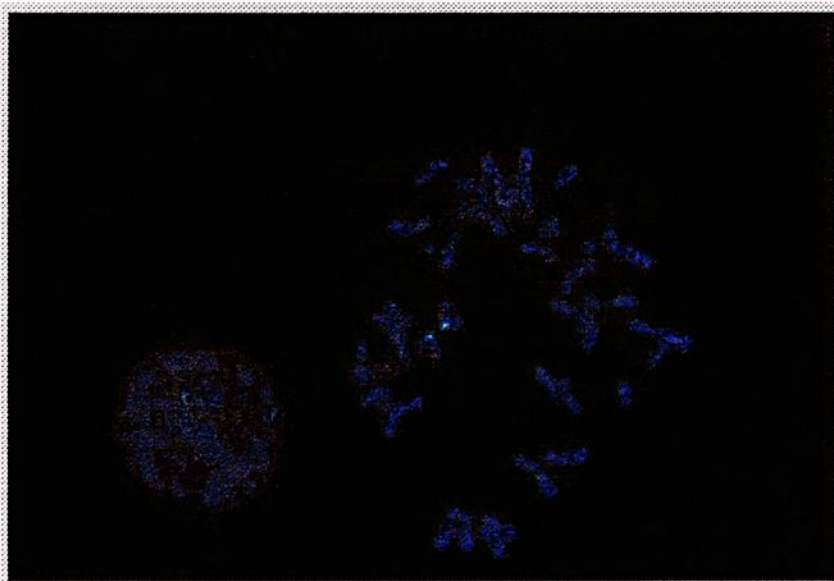


Figura 26. Metáfase submetida à técnica de FISH, hibridada com a sonda específica para a região 7q31-q33 (vermelho) e centromérica (verde), com ambos como cromossomos apresentando sinais normais.

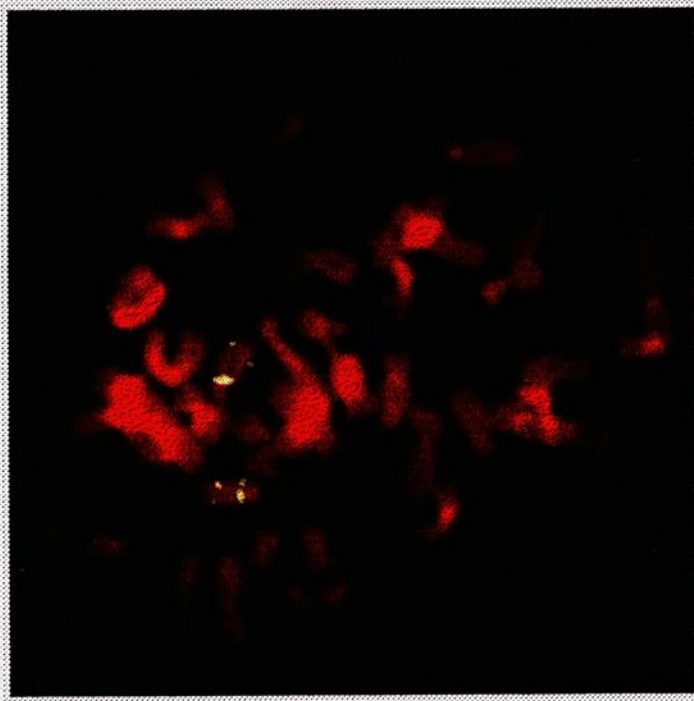


Figura 27. Metáfase submetida à técnica de FISH, hibridada com a sonda específica para a região 15q11-q13 e 15q22 (amarelo) e centromérica (verde) com ambos os cromossomos apresentando sinais normais

III.6. Maturidade Social

Trinta e três pacientes foram testados, no período deste estudo, quanto à maturidade social. O teste utilizado foi aplicado por duas psicólogas especializadas no atendimento de pacientes com PDDs, das escolas de onde procederam os pacientes. Os resultados são apresentados na Tabela 7. Todos os casos mostraram uma idade social atrasada em relação à idade cronológica.

Tabela 7. Idade cronológica e social, revelada pelo teste de Vineland, em anos, dos pacientes nos quais a aplicação do teste foi possível.

Paciente	Idade	Idade social	Paciente	Idade	Idade social
1	22	6	25	7	-
2	10	5	26	12	4
3	27	6	27	29	-
4	16	2	28	15	8
5	16	3	29	14	-
6	16	3	30	32	9
7	23	6	31	14	-
8	15	-	32	5	2
9	18	2	33	11	-
10	14	3	34	11	4
11	14	3	35	11	3
12	6	3	36	11	8
13	16	3	37	8	3
14	10	-	38	11	-
15	10	9	39	11	7
16	33	2	40	14	3
17	13	1	41	8	-
18	27	5	42	8	-
19	15	7	43	7	-
20	10	2	44	10	3
21	22	-	45	7	4
22	16	8	46	11	-
23	16	3	47	14	-
24	25	3	48	13	-

IV- DISCUSSÃO

IV.1. Características Gerais

A maioria (77%) dos indivíduos estudados, era autista, 13 % apresentava PDD-NOS, 6 % Asperger e 4 % síndrome de Rett. Realmente, no Grupo de Transtornos Invasivos do Desenvolvimento (PDDs) o autismo tem uma maior prevalência, de cerca de 62,6 por 10.000 e as outras doenças têm sido consideradas como variantes menores do mesmo (Chakrabarti & Fombonne, 2001; Lord *et al.*, 2001). Inclusive, estudos mais recentes demonstram não haver diferença entre autistas e PDD-NOS quanto à pontuação obtidas nos testes verbais e de adaptação (Allen *et al.*, 2001).

Alguns autores sugeriram uma possível “epidemia de autismo” e tentaram relacionar a vacinação contra rubéola como um possível agente desencadeador da doença, entretanto, outros não confirmaram esta associação e sugeriram que a introdução de novos critérios diagnósticos pode ser responsável pelo aumento no número de casos (apud Fombonne & Chakrabarti, 2001).

Faz sentido, pois em 1980 o DSM-II introduziu a terminologia de Transtornos Invasivos do Desenvolvimento englobando apenas o conceito prévio de autismo infantil. A mudança do DSM-II para DSM-II-R em 1987, ampliou o conceito de PDDs, mas às custas de sua especificidade. Somente em 1994, as categorias diagnósticas de síndrome de Rett, Asperger e transtorno desintegrativo

da infância foram introduzidos pela primeira vez no DSM-IV como subcategorias dos PDDs. Entretanto, o aumento da taxa de autismo na população vem sendo observado nos últimos 30 anos e parece refletir a adoção de uma definição mais ampla da doença, como o reconhecimento de autistas entre indivíduos com inteligência normal. O acesso mais facilitado a serviços diagnósticos e à mudança nos critérios diagnósticos desde a década de 70 também devem ser considerados (Fombonne, 2001).

A discussão sobre o aumento na taxa de autismo tem possibilitado o reconhecimento das limitações metodológicas dos testes existentes e descartam uma epidemia da doença. A introdução de sistemas de monitoramento mais completos do que os correntemente usados, que auxiliem na identificação e definição dos casos, focando a mudança da criança nos anos pré-escolares, controlando as mudanças populacionais (de migração) e com um tamanho amostral adequado, é necessária para a realização de futuras pesquisas epidemiológicas na área, antes da afirmação de uma mudança secular na taxa de PDDs (Fombonne, 2001).

No presente trabalho 92% dos casos eram caucasóides 6% negróides e 2% asiáticos. Não existem estudos sobre diferenças étnicas entre os PDDs e há registros de afetados de todas as etnias. Entretanto, a maioria das descrições envolve indivíduos caucasóides, o que pode ser explicado pelo fato de que a maior concentração de pesquisas sobre o tema ocorre em países ou regiões com predomínio de caucasóides, como na Inglaterra e no norte dos Estados Unidos, onde

estão os dois maiores grupos de pesquisa em autismo (International Molecular Genetic Study of Autism Consortium and Center for the Study of Autism, Salem, Oregon).

Por outro lado, a proporção sexual entre os indivíduos afetados, com cerca de 3-5 indivíduos do sexo masculino para 1 do sexo feminino, tem fomentado muita discussão (Jorde et al., 1991). A proporção encontrada neste trabalho foi de 2:1, compatível com os dados da literatura que mostram maior incidência no sexo masculino (Edelson, 1999).

A possibilidade de herança ligada ao X já foi descartada pelos estudos de heredogramas (Hallmayer, 1996). Contudo, muitos trabalhos têm demonstrado a participação dos cromossomos sexuais no desenvolvimento dos PDDs. A comorbidade com a síndrome do cromossomo X frágil, que predomina no sexo masculino, e um possível envolvimento GABAminérgico, o maior neurotransmissor inibitório da espécie humana, com os genes que codificam a subunidade alfa 3 do receptor GABA-A, foram mapeados em Xq28 (Hussman, 2001).

Quanto à idade, o presente estudo incluiu indivíduos entre 4 e 33 anos. Não há registros sobre prejuízo na sobrevivência destes indivíduos e as descrições são mais frequentes em crianças, o que poderia ser pela própria fase de diagnóstico destes distúrbios.

A possibilidade de herança autossômica recessiva já foi considerada para o autismo (Smalley, 1991). Embora neste trabalho a consanguinidade parental tenha ocorrido apenas em um caso (2%), para esta família, este padrão de herança não pode ser descartado.

Apesar dos PDDs ocorrerem em todas as classes sociais, aquela a qual pertence o indivíduo afetado pode ser considerada como um fator de risco para o desenvolvimento da doença, pois reflete o nível de informação dos pais e a influência ambiental, o que pode, inclusive, determinar a severidade da doença, que é considerada pela maioria dos autores como hereditária com padrão de herança multifatorial, ou seja, dependente de vários genes e de fatores ambientais atuando juntos (Burd *et al.*, 1999; Edelson, 1999).

Neste estudo, segundo os critérios de Lombardi *et al.* (1998), a maior parte das famílias pertencia a classe 4, denominada proletariado não típico, e tinham em média dois filhos, o que reflete a realidade brasileira e a tendência mundial de constituição familiar. Pôde ser observada, portanto, uma frequência maior de classes sociais mais baixas, com predominância do proletariado não típico (58%), seguida pela pequena burguesia tradicional (15%), subproletariado (12,5%), nova pequena burguesia (12,5%) e proletariado típico (2%). Estes dados podem sugerir que as dificuldades inerentes a um baixo poder aquisitivo podem ter influenciado no aparecimento da doença de alguns pacientes deste estudo.

O nível predominante de formação escolar dos pais dos indivíduos afetados, foi o segundo grau incompleto (66%), o que é também apontado por alguns autores como fator de risco para o desenvolvimento de PDDs pelo próprio nível baixo de informação e poder aquisitivo geralmente associados (Burd *et al.*, 1999).

IV.2. Antecedentes pessoais

Muitos fatores pre, peri e neonatais tem sido apontados como significativos na etiologia dos PDDs. Entre eles, há relatos de incidência aumentada de hemorragias uterinas, infecções vaginais, hiperbilirubinemia, baixo peso ao nascimento, nível educacional materno baixo, idade paterna elevada, necessidade de cuidados adicionais nos primeiros três meses, prematuridade, necessidade de medidas de ressuscitação, infecções fetais ou neonatais, transfusão por anemia e trauma severo durante a gravidez (Bolton *et al.*, 1997; Deb *et al.*, 1997; Burd *et al.*, 1999; Juul-Dam, *et al.*, 2001).

Os pacientes aqui estudados mostraram uma frequência significativamente maior de complicações/exposições durante a gravidez, como infecção por rubéola, trauma severo, uso de álcool e de drogas ilícitas, assim como fatores neonatais, como baixo peso e estatura ao nascimento, necessidade de manobras de ressuscitação, anoxia e permanência em incubadora. Além disso, infecções de repetição, febres altas recorrentes sem causa definida e alergias em geral, se destacaram como fatores pós natais.

É sabido que infecções, traumas e uso de drogas podem causar disrupção no feto, o que, por mecanismos não conhecidos, poderia levar ao comportamento autista. Apesar das várias anomalias neurofuncionais observadas em PDDs não estarem esclarecidas, há evidências favoráveis de que a exposição a agentes xenobióticos, no desenvolvimento do sistema nervoso central, possa ser o melhor

modelo para definir os dados comportamentais encontrados nestas populações (Edelson & Cantor, 1998). Inclusive, uma nova teoria sobre a etiologia do autismo sugere que pode ser uma doença desencadeada no começo do desenvolvimento embrionário, aproximadamente entre os dias 20 e 24 de gestação (London, 2000).

Segundo Bolton *et al.* (1997), o número maior de complicações obstétricas em indivíduos autistas e também uma proporção maior de complicações em parentes com variantes menores, sugerem que estas complicações podem ser consideradas como fatores etiológicos no autismo.

Quanto ao peso e estatura ao nascimento, a literatura sustenta que não devem ser considerados como causas ou consequências dos PDDs (Burd *et al.*, 1999). Por outro lado, as infecções de repetição, febres e alergias, sugerem a participação de genes do complexo major de histocompatibilidade (MHC) na etiologia destes transtornos, que resultariam de uma combinação de fatores genéticos, imunológicos e ambientais. Uma explicação para essa associação seria a localização dos genes do MHC, que mostram desequilíbrio de ligação em indivíduos autistas (Torres *et al.*, 2001).

Estudos adicionais são necessários para corroborar essas associações, e auxiliar no entendimento da etiologia dos PDDs. Os resultados poderiam ser utilizados para elaborar o perfil de alto risco, que, em conjunto com os critérios diagnósticos, pode ajudar no diagnóstico precoce, levando a intervenções e assistência nas primeiras fases do desenvolvimento destas desordens, aumentando a qualidade

de vida dos afetados e da família.

IV.3. Antecedentes familiares e psiquiátricos

No presente trabalho, as frequências de distúrbios psiquiátricos, distúrbios psiquiátricos não especificados e de sintomas isolados de doenças psiquiátricas entre os familiares de indivíduos com PDDs, foram significativamente maiores do que as do grupo controle. Estes resultados corroboram outros previamente descritos que sugerem expressividade variável e antecipação genética em PDDs (Gurrieri *et al.*, 1999; Bradford *et al.*, 2001; Piven, 2001). Inclusive, vários estudos têm mostrado que traços autísticos, chamados de variantes menores, ocorrem mais comumente que o esperado em irmãos, pais e outros parentes dos afetados. Embora existam evidências de que estas variantes signifiquem uma variabilidade de expressão do genotipo PDDs, há também uma correlação com prejuízos cognitivos e outras desordens psiquiátricas (Szatmari *et al.*, 1998; 2000; Lord *et al.*, 2001; Piven, 2001).

Desde as primeiras descrições feitas por Kanner, são notados traços particulares da personalidade de parentes de indivíduos autistas. Por exemplo, Landa (1992), observou que parentes de autistas mostram comportamento mais pragmático e atípico que os controles. Entretanto, até pouco tempo isso era considerado por psicólogos como causa e não consequência da doença. Hoje se considera que estes traços particulares podem ser reflexo da segregação de genes que

conduziriam, juntamente com outros fatores ambientais, ao desenvolvimento da patologia.

Por outro lado, é esperado que a dinâmica familiar fique comprometida, pelo menos até sua adaptação, quando do diagnóstico de PDDs. O distúrbio muda o contexto familiar por interromper as atividades sociais normais da família, que se une à disfunção de sua criança, na tentativa de se adaptar. Paralelamente, torna-se inviável reproduzir normas e valores sociais e, conseqüentemente, se manter no mesmo contexto social. A família sente-se, então, frustrada e diminuída frente ao meio e seus membros refletem as dificuldades com a mudança de seus comportamentos (Sprovieri *et al.*, 2001). Entretanto, a estratégia de enfrentamento de cada familiar pode depender do seu genótipo e do chamado fenótipo comportamental, ou seja, as frequências maiores de comportamentos pragmáticos, personalidade introvertida, timidez excessiva, ou mesmo de transtornos como a depressão observada, inclusive, antes do nascimento do afetado, podem, na verdade, representar um fenótipo comportamental mais brando da mesma doença (Szatmari *et al.*, 2000; Bradford *et al.*, 2001).

As características psiquiátricas observadas em parentes têm mostrado um paralelo com os três critérios básicos de diagnóstico de autismo. O primeiro critério é a inabilidade para relações sociais e os parentes de afetados são socialmente mais reservados e têm poucos amigos (Piven *et al.*, 1994). O segundo é a falta ou anormalidade no desenvolvimento da linguagem e estes parentes, frequentemente, tem problemas de linguagem ou linguagem pragmática (Landa, 1992). O

terceiro critério é marcado pela resistência a mudanças, como mostrado pelos comportamentos repetitivos e baixa gama de interesses. Parentes desses indivíduos são descritos por eles mesmos como inflexíveis nos seus atos, preferências e opiniões (Piven *et al.*, 1997).

No presente trabalho foi encontrada uma frequência significativamente maior de queixas de traços da personalidade psiquiátricas entre os familiares do grupo de PDDs. Foram observados depressão, instabilidade de humor, transtorno bipolar, alcoolismo, nervosismo excessivo, tendência ao isolamento e timidez excessiva. Outros antecedentes familiares observados com frequência aumentada no grupo de estudo foram convulsões, retardo mental, hiperatividade e problemas de fala e linguagem.

Há evidências de que parentes de indivíduos com PDDs têm risco aumentado para estas sintomatologias, principalmente depressão maior, uma das queixas mais frequentes, inclusive, nos resultados aqui obtidos (Piven *et al.*, 1991). Problemas de fala e linguagem também têm sido frequentemente encontrados, como referido, e há evidências de que mais de um locus de susceptibilidade para PDDs esteja relacionado ao desenvolvimento da fala, inclusive, um locus relevante em 7q tem sido considerado (Bradford *et al.*, 2001).

Esses achados de agregação familiar de variantes menores mostram que os genes para PDDs conferem susceptibilidade variável para a severidade do quadro, que o ambiente é importante e que estas doenças são geneticamente heterogêneas (Szatmari *et al.*, 2000). A heterogeneidade genética se refere à possibilidade de vários

genes independentes atuarem na etiologia dos PDDs. Por exemplo, a Esclerose Tuberosa, uma das doenças mais associada ao autismo, pode ser causada por dois genes, um mapeado no cromossomo 9 e outro no cromossomo 16, que conferem fenótipos idênticos (Povey *et al.*, 1994). A detecção da heterogeneidade genética é essencial para determinar o modelo de transmissão e o sucesso dos estudos de mapeamento. Se a desordem é heterogênea, o risco de recorrência em parentes representa a média do risco conferido por genes independentes, e não pelo padrão de transmissão de qualquer um desses genes (Ott, 1985).

Alguns autores sugerem, ainda, o fenômeno de antecipação genética envolvendo cerca de quatro a dez genes e da epistasia, na expressão do fenótipo comportamental (Piven, 1997; Bradford *et al.*, 2001).

Na verdade, a variabilidade fenotípica provavelmente é consequência de mais de um mecanismo biológico envolvido e a inclusão das variantes menores no fenótipo autista pode ajudar a reduzir a taxa de falsos negativos, entretanto, inevitavelmente pode aumentar a taxa de falsos positivos ou fenocópias (Bailey *et al.*, 1998). Portanto, estudos que definam o fenótipo e estimem as taxas de risco são muito importantes e, inclusive, há alguns grupos trabalhando na elaboração de testes experimentais que possam definir o estilo cognitivo dos familiares e auxiliar na compreensão do espectro fenotípico (Pickles *et al.*, 1995; Happé *et al.*, 2001).

As estimativas de recorrência de PDDs nas famílias de afetados aumenta cinco vezes em relação a população em geral, que é

de 0,04% (Burd *et al.*, 1999), o que sugere a forte influência genética na manifestação da doença. Neste trabalho pôde ser sugerida recorrência de PDDs em seis famílias, ou seja, em 13% dos casos.

Entre as famílias com recorrência de PDDs, dois casos, ocorreram entre meio irmãos, um por parte de pai e outro por parte de mãe. Zwaigenbaum *et al.* (2000), relataram a associação de PDDs em meio irmãos por parte de mãe e sugerem que esta segregação seja sinal de um compartilhamento genético maior do que um fator ambiental.

IV.4.- Características Físicas

O estudo morfológico é um poderoso instrumento para investigação de alterações no desenvolvimento estrutural durante a embriogênese. As malformações físicas menores (MFM) são o primeiro indicador de uma desordem cromossômica, uma síndrome gênica contígua, uma desordem gênica simples ou uma ação teratogênica durante o período de embriogênese (Rodier *et al.*, 1996).

Desde a década de 70, vem sido discutida a presença de MFM em autismo e outros PDDs, e os afetados mostram uma frequência significativamente maior destas quando comparados com os controles (Gourion *et al.*, 2001).

Alguns estudos tentaram correlacionar a presença dessas malformações com complicações obstétricas e idade materna, mas não encontraram uma relação positiva (Links *et al.*, 1980). Entretanto, a influência genética e ambiental no primeiro trimestre de

gravidez vêm sendo consideradas como causas dessas malformações. As características referidas na literatura, principalmente dos olhos e orelhas, sugerem que alterações possivelmente envolvidas com a formação do tubo neural, no primeiro mês de gravidez poderiam também causar ou contribuir para o aparecimento do autismo. Orelhas rotadas tem sido a característica mais relacionada ao autismo. Baixo peso e estatura, pés e mãos pequenos também têm sido considerados (Rodier *et al.*, 1997)

Atualmente, os estudos apontam para a grande heterogeneidade dos PDDs e discutem a definição de subgrupos homogêneos de indivíduos com ou sem alterações fenotípicas. O grupo sem outras características associadas pode ter uma etiologia geneticamente distinta daqueles com malformações físicas (Miles *et al.*, 2000). Essa diferença pode ser explicada por vários níveis de expressão gênica no fenótipo clínico e comportamental, dada à heterogeneidade da doença.

Os resultados deste trabalho foram compatíveis com os dados da literatura e demonstram a presença de MFM principalmente de crânio e face nos pacientes com PDDs.

Portanto, estudos que definam subgrupos homogêneos podem aumentar a eficiência de estudos de associação e análise de ligação e podem ser a chave para o desenvolvimento efetivo de estratégias de prevenção, tratamento específico para subgrupos e aconselhamento genético para as famílias.

IV.5. Associação com outras síndromes genéticas

As descrições sobre as frequências de autismo ou outros PDDs associados a outras doenças varia de 10 a 37%. A identificação dessas patologias é de extrema importância e depende de um trabalho multidisciplinar que envolve psicólogos, psiquiatras, pediatras e geneticistas, entre outros profissionais da área de saúde. A identificação de subgrupos de PDDs baseada nestas associações e nos padrões neuropsicológicos, pode auxiliar na compreensão dos mecanismos patológicos envolvidos nestas doenças e no aconselhamento genético para as famílias (Miles, 2000; Bodier *et al.*, 2001).

A associação entre PDDs e a síndrome do X frágil e da Esclerose Tuberosa tem sido frequentemente descrita. Há casos de associação, também, com síndrome de Turner, de Cornélia de Lange, de Down, embriopatia rubeólica e síndrome alcoólica fetal, entretanto, os mecanismos biológicos envolvidos não estão esclarecidos e existem apenas especulações sobre o assunto (Mazzoco, 1997, Bailey *et al.*, 1998, Ghaziuddin, 2000, Donnelly *et al.*, 2000).

Por exemplo, por que uma criança com a síndrome do X frágil tem 5% de risco de apresentar autismo ou outros Transtornos Invasivos do Desenvolvimento ? Essa síndrome afeta aproximadamente 1 em cada 1000 homens e 1 em cada 2500 mulheres, consistindo na principal causa gênica de retardo mental hereditário

(Sherman, 1996). Os homens afetados apresentam alguns sinais clínicos característicos, como face alongada, orelhas grandes e em abano e macrorquidismo, associados com retardo mental e hiperatividade. (Hagerman, 1996). A síndrome do X frágil tem um padrão de transmissão complexo, com características incomuns, como a existência de mães invariavelmente portadoras da pré-mutação, de homens obrigatoriamente portadores da mutação porém não afetados, uma taxa alta de portadoras afetadas (um terço), diferenças na expressividade de acordo com a origem da mutação (por exemplo, o risco de retardo mental em uma mulher portadora é muito maior quando a mutação é herdada de sua mãe do que de seu pai transmissor mentalmente normal) e apresenta o fenômeno de antecipação genética, que consiste no aparecimento de indivíduos mais gravemente afetados nas gerações mais recentes dos heredogramas (Howard-Peebles & Friedman, 1985).

O X frágil resulta de uma expansão de nucleotídeos repetitivos CGG em Xq27.3, o que reduz efetivamente ou impede a produção da proteína FMR1, sabidamente essencial para a função cerebral normal. Os níveis desta proteína entre os afetados variam e influenciam no crescimento e desenvolvimento. Também não está esclarecido se o comportamento autístico é parte do espectro da síndrome ou se o X frágil é parte do espectro autista, ou se são dois distúrbios distintos com aumento da comorbidade (Bailey, 2001). As pesquisas têm se limitado a correlacionar ou comparar estas duas patologias e não têm examinado a relação entre a expressão da proteína

e o comportamento autista, estendendo a questões sobre quais destas variáveis interagem ou estão correlacionadas.

Por outro lado, em Xq28 há o gene que codifica a subunidade alfa 3 do receptor GABA-A, como referido anteriormente. O GABA é o neurotransmissor inibitório mais importante em mamíferos e uma alteração das subunidades poderia alterar a atividade do receptor e, conseqüentemente, a atividade cerebral (Schroer *et al.*, 1998).

Uma outra região muito evidente nos estudos de genes de susceptibilidade para o autismo tem sido a 15q11-q13, que também contem genes para subunidades do GABA. Portanto, embora a amplitude dos prejuízos neurológicos pareça ser causada por múltiplos defeitos em sistemas independentes, o autismo pode resultar da disfunção de um único fator compartilhado por muitos sistemas. Mais especificamente, as disrupções observadas em autismo podem estar ligadas a supressão GABAminérgica, e essa hipótese é sustentada por duas observações: (1) alterações nos receptores GABA são comuns em várias suspeitas etiológicas de autismo e (2) a supressão GABAminérgica resulta em patologias nas quais o autismo é observado entre as características fenotípicas (Hussman, 2001).

A Esclerose Tuberosa (ET), que foi observada em um dos casos aqui estudados (caso 29) também mostra uma comorbidade alta com o autismo e pôde ser considerada um fator de risco para o desenvolvimento da doença no paciente. A freqüência deste distúrbio na ET é relatada entre 21 e 39% (Le Couter, 1993). Esta doença foi

primeiramente descrita por Bourneville, em 1880, e apresenta importantes aspectos neurocutâneos. Trata-se de uma afecção genética, autossômica dominante, cujas manifestações se iniciam na infância. O retardo mental também pode ser observado e decorrer das complicações da doença. As crises epiléticas, que são frequentes, podem ser generalizadas ou focais; as crises convulsivas são resistentes aos tratamentos habituais e podem concorrer para a deterioração do psiquismo dos afetados. Do ponto de vista anatomopatológico, as lesões cerebrais apresentam-se sob a forma de nódulos bem delimitados, constituídos por tecido neuroglial disgenético. Cerca de 60% destas formações podem se calcificar com o tempo (apud Sanvito, 1997; Jones 1998).

A ET é geneticamente heterogênea. Estudos de ligação identificaram dois genes, *TSC1*, localizado em 9q34 e *TSC2* em 16q13. O gene *TSC1* produz uma proteína chamada harmatina de função desconhecida. O *TSC2* produz a tuberina, com provável função no crescimento, migração e diferenciação neuronal, altamente expressa em regiões cerebrais sugestivas de estarem envolvidas no autismo. Três hipóteses poderiam explicar essa associação: a de que mutações nos genes *TSC* levem a modificações dos estágios iniciais da neurogenesis e a um desenvolvimento cerebral anormal de regiões envolvidas na etiologia do autismo; que um gene para susceptibilidade ao autismo esteja em desequilíbrio de ligação com um gene *TSC* ou que efeitos secundários das mutações em *TSC*, como o desenvolvimento gestual, retardo mental ou tuberculose cortical em regiões cerebrais específicas,

também incluíam o autismo (Smalley, 1998).

O fato do autismo ou dos sinais autísticos serem comuns na ET e da neuropatologia da ET ser relativamente entendida, provê um contexto particular onde pode ser investigada a relação entre lesões cerebrais específicas e autismo (Weber *et al.*, 2000).

Outra associação com doença genética encontrada neste trabalho foi no paciente 43, que apresentou sinais clínicos da síndrome Cornélia de Lange.

Em 1933, a Dra. Cornélia de Lange, uma pediatra holandesa, docente da Universidade de Amsterdã, descreveu com detalhes de duas crianças com características fenotípicas semelhantes internadas simultaneamente. Embora as manifestações variem, na esfera comportamental os indivíduos com essa síndrome costumam ser muito arredios, evitando caracteristicamente o contato físico e/ou a interação social com estranhos ou mesmo com pessoas da própria família. A fala é muito prejudicada e eles podem apenas emitir sons monótonos e ininteligíveis. Frequentemente exibem movimentos estereotipados, que podem ser autoestimulatórios ou automutilatórios (apud Carakushansky, 2001).

Já foram descritos casos de Cornélia de Lange com autismo, entretanto, a etiologia das duas desordens e a relação entre elas, continua sem esclarecimento (Berney *et al.*, 1999; Bay *et al.*, 1993). Portanto, pode ser sugerido que a etiologia do autismo do paciente 43 esteja relacionada à presença da síndrome.

A síndrome de Turner, encontrada na forma de

mosaicismo na paciente 23, também já foi descrita em associação com o autismo e os autores propõe um mecanismo interessante para essa associação (Telvi et al., 1999; Skuse, 2000).

Essa síndrome, cuja incidência é de cerca de uma em 5.000 meninas nativas, é uma desordem genética do sexo feminino, uma cromosomopatia onde todo ou o braço curto de um cromossomo X esta deletado. A inteligência usualmente é normal, mas os problemas de ajuste social são comuns.

Há sugestões de que a monossomia do X materno leve à cognição social reduzida quando comparada à do X paterno. Acredita-se, inclusive, que exista um gene para cognição no cromossomo X que é “imprintado” e não expresso quando o cromossomo é de origem materna (Donnelly et al., 2000). Alguns trabalhos sugerem que a existência desse locus no cromossomo X possa explicar porque homens (46,XY) são os mais vulneráveis para desenvolver desordens de linguagem e cognição social como o autismo, do que mulheres (46,XX) (Skuse et al., 1997). Entretanto, essa questão necessita de esclarecimentos futuros e de estudos que identifiquem este gene que poderia conferir susceptibilidade ao autismo. Não foi possível identificar uma estratégia para determinar a origem do cromossomo X da células monossômicas da paciente 23 entre as técnicas disponíveis no Brasil, em função do mosaicismo da paciente, mas o fenótipo comportamental pôde ser etiológicamente relacionado à presença da síndrome.

Em 1973, Jones definiu um padrão de morfogêneses



anormal e de disfunção do sistema nervoso central em 11 crianças cujas mães eram alcoolistas crônicas e o chamaram de síndrome alcoólica fetal (SAF). Estudos analisaram a evolução de pacientes com SAF e demonstraram que o retardo mental é a principal sequela da exposição intrauterina ao álcool, pois com o decorrer do tempo, há uma diminuição das características crânio faciais. Os efeitos sobre o feto estão correlacionados com a época de exposição, a concentração alcoólica e as variações na predisposição genética, que determinam o resultado final da gestação exposta (apud Castilla *et al.*, 1996).

Embora não existam relatos da associação entre abuso de drogas ilícitas durante a gravidez e autismo, é possível que a exposição intrauterina à alguns agentes químicos também possa causar ou contribuir para o desenvolvimento da doença (London, 2000; Woodward 2001), provavelmente pelos danos causados ao sistema nervoso central, como na embriopatia rubeólica, onde vários trabalhos demonstram um aumento da incidência de autistas em gravidezes expostas ao vírus (Fombonne & Chakrabarti, 2001; Yazbak, 2001).

Neste trabalho foi observado um caso (25) de síndrome alcoólica fetal, um caso de disrupção por drogas (20) e dois de embriopatia rubeólica (3 e 10) e a estas disrupções podem ser atribuídos os fenótipos comportamentais dos pacientes.

Dois casos de associações ainda não descritas com autismo foram encontrados na paciente 1, possivelmente com síndrome de Cohen e no caso 27, provável portador da síndrome de MOMO.

A síndrome de Cohen é de transmissão autossômica recessiva e foi descrita em populações com alta taxa de endocruzamento, em filandeses e judeus asquenaze. Estudos de ligação localizaram o gene na região 8q22-q23, entretanto, casos sugestivos de herança dominante também foram relatados, mostrando uma possível heterogeneidade genética (apud Sanvito, 1997).

A síndrome de MOMO foi assim denominada em função dos achados clínicos de *Macrosomy*, *Obesity*, *Macrocephaly* and *Ocular abnormalities*. Descrita em 1993 por Moretti-Ferreira *et al.*, é uma síndrome rara, sem etiologia definida e nunca foi descrita em associação com autismo. Entretanto os dois únicos trabalhos encontrados na literatura referem problemas comportamentais e retardo mental. A identificação desta síndrome no paciente 27, com autismo, embora possa significar uma coincidência, não permite, descartar a hipótese de que a síndrome de MOMO possa cursar com Transtorno Invasivo do Desenvolvimento.

IV.6 Estudo Citogenético

Como já referido, a análise citogenética convencional do caso 23 mostrou mosaicismo para monossomia do X em 10% das metáfases analisadas. O estudo em bandamento GTG de todos os outros casos não mostrou cromossomopatia numérica ou estrutural.

A análise citogenética molecular (FISH) das regiões 7q31-q33 e 15q11q13 não mostrou variação de número ou de

tamanho dos sinais normais esperados, o que pode ser justificado pelo tamanho da amostra, entretanto, um estudo anterior com número menor (30) de outros indivíduos com PDDs, provenientes da escola (EMA) encontrou uma paciente com um marcador de 15, envolvendo a região 15q11q13, uma outra com $\text{inv}(7)(\text{p15q36})$ em mosaicismo (Estécio *et al.*, 2002 *in press*). Uma outra paciente, que foi diagnosticada como autista na mesma escola, também foi descrita pelo mesmo grupo de pesquisa como portadora de um marcador do cromossomo 15 (Silva *et al.*, 2002, *in press*).

A região 7q31-q33 tem sido implicada em autismo e problemas de fala e linguagem (PFL). O aumento da taxa de PFL em parentes de indivíduos autistas sugere que este fenótipo pode representar uma manifestação da labilidade genética para autismo. Modelos de risco de recorrência e fenótipos mais brandos, como PFL sugerem que 3 ou 4 loci epistáticos podem estar envolvidos, implicando a região 7q31 (Warburton *et al.*, 2000).

O International Molecular Genetic Study of Autism Consortium (2001), apontou para a existência e um locus de susceptibilidade para autismo (*AUTSI*) em 7q e para a necessidade de maiores estudos familiares para o entendimento da posição dos genes candidatos para as variantes etiológicas da doença. Há indícios de que esse locus em 7q tenha expressão paterna (Ashley-Koch *et al.*, 1999).

Um gene candidato desta região, sugerido por Wassink *et al.* (2001), seria o *WNT2* que influencia o desenvolvimento do sistema nervoso central. Os autores sugerem que uma mutação rara neste gene

quando presente em cópia única (heterozigosidade) aumentaria a susceptibilidade para autismo.

Petek *et al.*, (2001) relataram uma alteração cromossômica como ponto de quebra em 7q31, associada com síndrome de Tourette, uma doença neuropsiquiátrica complexa que apresenta uma alta comorbidade com autismo.

Estudos de ligação têm sugerido a região 7q como a mais significativa para susceptibilidade ao autismo (International Molecular Genetic Study of Autism Consortium, 1998; 2001b; Barret *et al.*, 1999; Philippe *et al.*, 1999).

Duplicações afetando 15q11-q13 são as anormalidades cromossômicas mais comuns em populações autistas (Wolpert *et al.*, 2000). Os eventos envolvendo 15q proximal ocorrem como duplicações intersticiais, deleções ou marcadores cromossômicos supranumerários, sendo este último o mais comum e referido como inv dup(15). Duplicações intersticiais resultam em três cópias de 15q11-q13, enquanto os casos de inv dup(15) resultam em quatro cópias da mesma região (Wolpert *et al.*, 2000).

A associação das duplicações com o fenótipo autista depende da origem parental e da dosagem gênica da duplicação (Gurrieri *et al.*, 1999; Leanna-Cox *et al.*, 1994). Duplicações paternas são associadas com fenótipos normal, ao passo que, duplicações maternas resultam ou conferem um risco substancial para o desenvolvimento do fenótipo autista. Duplicações maternas são responsáveis por cerca de 1 a 2% da expressão da doença segundo

Herzing *et al.*, 2001).

Um aumento na copia dos genes indica um efeito de dosagem, com especificidade materna, envolvendo o *UBE3A* ou outro gene maternalmente expresso. Outro gene candidato nesta região inclui o *cluster* do GABA (*GABRB3*, *GABRA5* e *GABRG3*) (Dhar, *et al.*, 2000; Meguro *et al.*, 2001). Além disso, tem sido demonstrada também desequilíbrio de ligação para esta região e é importante notar que este termo indica que há associação alélica e ligação entre a marca e o locus para o autismo (Martin *et al.*, 2000).

O GABA inibe a atividade elétrica dos neurônios, fazendo com que tenham uma menor resposta aos estímulos excitatórios e qualquer alteração na disposição destes genes, alteraria sua função cerebral (Wolpert *et al.*, 2000).

A hipótese da supressão GABAminérgica em autismo é baseada em duas observações: a primeira, de que patologias relacionadas aos receptores GABA emergem como um fator comum em várias suspeitas etiológicas de autismo, e a segunda, de que a desinibição GABAminérgica e a excessiva estimulação dos receptores, geraria as patologias nas quais são observadas o autismo. Embora a amplitude dos prejuízos em autismo possa ser causada por múltiplos defeitos em sistemas independentemente relacionados, pode também, refletir a disfunção de um único fator comum, compartilhado por muitos sistemas. Especificamente, as várias disrupções observadas em autismo podem estar ligadas à supressão da inibição GABAminérgica, resultando numa estimulação excessiva (Hussman, 2001).

Alguns autores acreditam que há uma síndrome de retardo mental moderado a severo, comportamento autístico e sinais clínicos discretos, como hipotonia e atraso do desenvolvimento neuropsicomotor associadas com duplicações de 15q (Gillberg *et al.*, 1992; Buoni *et al.*, 2000; Wolpert *et al.*, 2000).

Seria interessante, portanto, realizar um estudo dos genes GABA em todos os pacientes com PDDs.

VI.7. Maturidade Social

A escala de comportamento adaptativo de Vineland funciona como um determinante da maturidade social e tem sido usado em crianças com PDDs como um teste para medir o quociente de inteligência (Freeman *et al.*, 1999). Neste estudo, 33 pacientes foram testados e todos revelaram atraso em relação à idade, o que vem de encontro com o retardo mental registrado na maioria dos indivíduos com Transtornos Invasivos do Desenvolvimento.



V.CONCLUSÕES

Os resultados obtidos através do presente estudo permitiram as seguintes conclusões:

1-Os PDDs são mais freqüentes em meninos e esta freqüência pode estar associada à presença da síndrome do cromossomo X frágil, que deve ser investigada em todo indivíduo com hipótese diagnóstica de um destes distúrbios, especialmente o autismo;

2-Antecedentes psiquiátricos são muito freqüentes em famílias de indivíduos com PDDs e refletem a possibilidade de antecipação genética para estes transtornos;

3-Antecedentes pré-natais, como a exposição a agentes biológicos e químicos, e neo-natais, como infecções de repetição, alergias e febres, parecem estar relacionados com a etiologia dos PDDs;

4-Não parece haver necessidade da investigação citogenética molecular de rotina das regiões 7q31-q33 e 15q11-q13 em PDDs, apenas para a complementação de achados da citogenética convencional;

5-Indivíduos com PDDs apresentam uma freqüência

aumentada de malformações físicas menores, especialmente em crânio e face, independentemente da associação com outras doenças. Estes indivíduos, em geral, apresentam baixo peso e estatura, mãos e pés pequenos e orelhas rotadas para trás;

6-As síndromes de Cohen e de MOMO também podem estar associadas ao autismo;

7-Todo indivíduo com hipótese diagnóstica de Transtorno Invasivo do Desenvolvimento deve ser encaminhado a uma equipe multidisciplinar especializada nestas doenças, e submetido a exames citogenéticos e físicos detalhados.



V.CONCLUSÕES

Os resultados obtidos através do presente estudo permitiram as seguintes conclusões:

1-Os PDDs são mais freqüentes em meninos e esta freqüência pode estar associada à presença da síndrome do cromossomo X frágil, que deve ser investigada em todo indivíduo com hipótese diagnóstica de um destes distúrbios, especialmente o autismo;

2-Antecedentes psiquiátricos são muito freqüentes em famílias de indivíduos com PDDs e refletem a possibilidade de antecipação genética para estes transtornos;

3-Antecedentes pré-natais, como a exposição a agentes biológicos e químicos, e neo-natais, como infecções de repetição, alergias e febres, parecem estar relacionados com a etiologia dos PDDs;

4-Não parece haver necessidade da investigação citogenética molecular de rotina das regiões 7q31-q33 e 15q11-q13 em PDDs, apenas para a complementação de achados da citogenética convencional;

5-Indivíduos com PDDs apresentam uma frequência aumentada de malformações físicas menores, especialmente em crânio e face, independentemente da associação com outras doenças. Estes indivíduos, em geral, apresentam baixo peso e estatura, mãos e pés pequenos e orelhas rotadas para trás;

6-As síndromes de Cohen e de MOMO também podem estar associadas ao autismo;

7-Todo indivíduo com hipótese diagnóstica de Transtorno Invasivo do Desenvolvimento deve ser encaminhado a uma equipe multidisciplinar especializada nestas doenças, e submetido a exames citogenético e físico detalhados.



VI. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABRA : Associação Brasileira de Autismo. Política de Atenção à Pessoa Portadora da Síndrome. ABRA, 2º Ed.,1994.
- ABDEL-RAHRAM, *et al.*, Isolation of DNA using Salting-out procedure. **Biochem. Toxicol.**,v. 9, p.191-198, 1994.
- ABUELO, A. Developmental delay caused by a supernumerary chromosome, dup(15), identified by fluorescent in situ hybridization. **Clinical Pediatrics**, v. 4, 1995.
- ALLEN,D.A., *et al.* Autistic disorder versus other pervasive developmental disorders in young children: same or different? **Eur. Child Adolesc. Psychiatry**, v.10(1), p. 67-68, 2001.
- APA (American Psychiatric Association): **Diagnostic and Statistical Manual of Mental Retardation**, 4º Ed. Washington, DC: American Psychiatric Press, 1994.
- ASHLEY-KOCH, A. *et al.* Genetics Studies of Autistic Disorder and Chromosome 7. **Genomics**, v.61, p. 227-236, 1999.
- BAILEY, A., *et al.* Autism: the phenotype in relatives. **J. Autism Dev. Disorders**, v. 28(5),p. 369-392,1998.
- BAILEY, D.B.Jr., *et al.* Autistic behavior, FMR1 protein, and developmental trajectories in young males with fragile X syndrome. **J. Autistic Dev. Disord.**, v.31(2),p. 165-167, 2001.
- BAKER, P.; PIVEN, J. SCHWARTZ, S.; PATIL, S. Brief report : duplication of chromosome 15q11-13 in two individuals with autistic disorder. **J. Autism Dev. Disorders** v. 24(4), p. 529-535, 1994.
- BARRET,S. *et al.*, An autosomal genomic screen for autism. **Am. J.**

Med. Genetics, v. 88, p. 609-615, 1999.

BAY, C., MAUK, J.; RADCLIFFE, J.; KALAN, P. Mild Brachmann-de Lange syndrome : delination so the clinical phenotype, and characteristic behaviors in a six-year-old boy. **Am. J. Med. Genetics**, v. 47, p. 956-968, 1993.

BERNEY, T.P.; IRELAND, M.; BURN, J. Behavioural phenotype of Cornelia de Lange syndrome. **Arch Dis Child**, v. 81(9), p.333-336, 1999.

BODIER, C., *et al.* Autism and associated pathologies. Clinical study of 295 cases involving development disorders. **Presse Med.**, v. 1, p.1199-1203, 2001.

BOLTON, P.F. *et al.* Association between idiopathic infantile macrocephaly and autism spectrum disorders. **Lancet**, v.358, p.726-727, 2001.

BRADFORD, Y., *et al.*, Incorporating language phenotypes strengthens evidence of linkage to autism. **Am. J. Medical Genetics**, v. 105, p. 539-547, 2001.

BUNDEY, S. ; HARDY, C. ; VICKERS, S. ; KILPATRICK, M. W. ; CORBETT, J. A. Duplication of the 15q11-13 region in a patient with autism, epilepsy and ataxia. **Dev. Med. Child Neurol.**, v.36, p. 736-742, 1994.

BUONI, S., *et al.* The syndrome of inv dup (15): clinical, electroencephalographic, and imaging findings. **J. Child. Neurol.**, v. 15(6), p. 380-385, 2000.

BURD, L., *et al.* Prenatal and perinatal risk factors for autism. **J. Perinat. Med**, v. 27, p. 441-450, 1999.

CASTILLA, E.E. **Prevención Primaria de los defectos congénitos.** Rio de Janeiro, Editora Fio Cruz, 1996.

- CARAKSSHANSKY, G. **Doenças Genéticas em Pediatria**. Rio de Janeiro, Editora Guanabara Koogan, 2001.
- CHAKRABARTI, S.; FOMBONNE, E. Pervasive developmental disorders in preschool children, **JAMA**, v. 285 (24), p. 3093-3099, 2001.
- CHENG, S.; SPINNER, N.B.; ZACKAI, E.H.; KNOLL, J.H. Cytogenetic and molecular characterization of inverted duplicated chromosomes 15 from 11 patients. **Am. J. Hum. Genetics**, v. 55, p. 753-759, 1994.
- CID 10. **Classificação de transtornos mentais e de comportamento da CID 10**. Descrições clínicas e diretrizes diagnósticas. Coord. Organiz. Mundial da Saúde; Trad. Dorgival Caetano, Porto Alegre, Artes Médicas, 1994.
- COHEN, I. L., BROWN, W. T.; JENKINS, E. C.; KRAWCZUN, M.S. Why are autism and fragile-X syndrome associated? Conceptual and methodological issues. **Am. J. Hum. Genet.**, v. 48, p. 195-202, 1991.
- COMINGS, D.E.; COMINGS, B.G. Clinical and genetic relationships between autism pervasive developmental disorder and tourette Syndrome: a study of 19 cases. **Am. J. Med. Genetics**, v. 39, p. 180-191, 1991.
- COOK, E.H. Jr. *et al.*. Autism or atypical autism in maternal but not paternal derived proximal 15q duplication. **Am. J. Hum. Genetic**, v. 60(4), p. 928-934, 1997.
- COURCHESNE, E.; PRESS, G.A.; YENG-COURCHESNE, R. Parietal lobe abnormalities detected with MR in patients with infantile autism, **AJR.**, v. 393, p. 387-393, 1993.
- DANIELS, R.J., *et al.* Sequence, structure and pathology of the fully

- annotated terminal 2 Mb of the short arm of human chromosome 16. **Hum. Mol. Genet.**, v.10(4);p. 339-352, 2001.
- DEB, S.; PRASAD, K.; SETH, H.; EAGLES, J.M. A comparison of obstetric and neonatal complications between children with autistic disorder and their siblings. **J. Intellect. Disabil. Res.**, v. 41, p. 81, 1997.
- DHAR, M., *et al.* A nove ATPase on mouse chromosome 7 is a candidate gene for increades body fat. **Physiol. Genomics**,v.4, p. 93-100, 2000.
- DONELLY, S.L., *et al.*, Female with autistic disorder and monosomy X (Turner syndrome), parent-of-origin effect of the X chromosome. **Am. J. Med. Genet.**, v. 69(3), p. 312-316, 2000.
- EDELSON,S.M. Visión global del autism. **<http://www.autism.org/>**, 1995.
- EDELSON,S.B.; CANTOR,D.S. Autism: xenobiotc influences. **Toxicol. Ind. Healt**, v.14(4), p. 553-563, 1998.
- EDELSON,S.M.Visión global del autismo.**<http://www.autism.org/>**, 1999.
- ELHERS, S., *et al.* Asperger syndrome, autism and attention disorders: a comparative study of the cognitive profiles of 120 children. **J. Child Psychol. Psychiatr.**, v. 38(2), p. 207-217, 1997.
- ELLAWAY, C. & CHRISTODOULOU, J. Rett syndrome: clinical characteristics and recent genetic advances. **Disabil. Rehabil.**, v. 10(23), p. 98-106, 2001.
- ESTÉCIO, M.R.H. **Avaliação citogenética e molecular em autismo e outros transtornos invasivos do desenvolvimento.** São José do Rio Preto, 1999, 97f.. Dissertação (Dissertação de mestrado)- Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas.

FAHSOLD,R.;ROTT,H.D.;CLAUSSEN,U.; SCHMALENBERGER, B. Tuberous sclerosis in a child with de novo translocation t(3;12) (p26.3; q23.3). **Clinical genetics**, v. 40, p. 326-328, 1991.

PHILIPPE, A. *et al.* Genome-wide scan for autism susceptibility genes. **Humam Mol. Genetics**, v. 8, p. 805-812,1999.

FIDLER,D.J.; BAILEY, J.N.; SMALLEY,S.L. Macrocephaly in autism and other pervasive developmental disorders. **Dev. Med. Child. Neurol**, v. 42(11), p.737-740, 2000.

FLEJTER,W. L.; BENNET-BAKER, P.E. ; GHAZIUDDIN,M.; McDONALD,M.; SHELDON,S.; GORSKI,J.L. Cytogenetic and molecular analysis of inv dup(15) chromosomes observed in two patients with autistic disorder and mental retardation. **Am. J. Med. Genetic**, v. 61(4), p. 182-187, 1996.

FOMBONNE, E.; BOLTON, P.; PRIOR, J.; JORDAN, H.; RUTTER, M. A family study of autism- cognitive patterns and levels in parents and siblings.**J. Child. Psychol. Psychiatry**, v. 38 (6), p. 667- 683,1997.

FOMBONNE, E.; ROGÉ, B.; CLAVERIE, J.; COURTY, S.; FRÉMOLLE, J. Microcephaly and macrocephaly in autism. **J. Autism Dev. Disorders**, v. 29 , p. 113-119, 1999.

FOMBONNE, E. Is there an epidemic of autism? **Pediatrics**, v. 107, p. 441-412, 2001.

FOMBONNE, E.; CHAKRABARTI, S. No evidence for a new variant of measles-mumps-rubella-inducedautism. **Pediatrics**, v.108(4), p.E58, 2001

FREEMAN, B.J., *et al.* Vineland adaptative behavior scale scores as a function of age an initial IQ in 210 autistic children. **J. Autism Dev Disorders**, v.29(5), p. 379-384, 1999.

FRYNS, J.P.; KLECZKOWSKA, A. Autism and ring chromosome 18 mosaicism. **Clinical Genetics**, v.15 , p. 55, 1992.

GHAZIUDDIN, M.; SHELDON, S.; TSAI, L.Y.; ALESSI, N. Abnormalities of chromosome 18 in a girl with mental retardation and autistic disorder. **J. of Intellect. Disability Research**, v.37, p. 313-317, 1993.

GHAZIUDDIN, M.; BOLYARD, B.; ALESSI, N. Autistic disorder in Noonam syndrome. **J. Intellect. Disabil. Res.**, v. 38, p. 67-72, 1994.

GHAZIUDDIN, M. Autism in Down's syndrome: a family history study. **J. Intellect. Disabil Res**, v. 44, p. 562-566, 2000.

GILLBERG, C. The autism-fragile-X syndrome (AFRAX) A population-basead study on ten boys. **Journal of Mental Deficiency Research**, v.30, p.27-39,1986.

GILLBERG, C. Autism and autistic-like conditions: subclasses among disorders of empathy. **J. Child Psychl.Psychiatry**, v.33, p.813-842, 1992.

GILLBERG, C. Chromosomal disorders and autism. **J. Autism Dev. Disorders**, v.28 (5), p. 415-425, 1998.

GILLBERG,C.; WING, L. Autism: not an extremely rare disorder. **Acta. Psychiatr. Scand.**, v. 99(6), p. 399- 406, 1999.

GOLDFINE, P. E ; McPHERSON , P. M. ; HEATH , G. A. ; HARDESTY, V. A. ; BEAUREGARD, L.J.;GORDON, B. Association of fragilie X eith autism. **Am. J. Psychiat.**, v.142,p.108-110, 1985.

GOURION, D. French validation of a minor morphologic anomalies in schizophrenic patientes and their parents. **Encephale**, v.27(2),

p.143-147, 2001.

GROUCHY,J.D.E.; TURLEAU,C. Atlas desmaladies Chromosomiques, Paris Expasion Scientifique Francise, 1997.

GURRIERI, F.; BATTAGLIA, A.; TORRISI, L.; ANCREDI,R.; CAVALLARO, C. SANGIORGI, E.; NERI, G. Pervasive developmental disorder and epilepsy to maternaly derived duplication of 15q11-q13. *Neurology*, v.52(8), p.1694-1697, 1999.

HAGERMAN, R. J. Annotation- fragile X syndrome. *Advances and controversy. J. Child. Psychol. Psychiat.*, v. 33, p.1127- 1139, 1996.

HALLMAYER, J. *et al.* Male-to-male transmission in extended pedigrees with multiple cases of autism.. **American Journal of Medical Genetics**, v.67, p. 13-18,1996

HAPPÉ,F.; BRISKMAN, J.; FRITH, U. Exploring the cognitive phenotype of autism: weak "central coherence" in parents and siblings of children with autism: I experimental test . **J. Child Psychol. Pyschiat.** , v. 42(3), p. 299-307, 2001.

HARRIS, C.; ROBISNSON, T., MICHAISKI, K.; MEISNER, L. Specimen sahage whith FISH. **Applied Cytogenetic**, v. 114, p. 66-70,1995.

HÉRAULT,J.; MARTINEAU,J.; PETIT,E.; PERROT,A.; SAUVAGE,D.; BARTHÉLÉMY,C. Genetic markers in autism: association study on short arm of chromosome 11. **J. of Autism and Developmental Disorders**, v. 4, p. 233-236, 1994.

HERZING,L.B.K., *et al.* The human animophospholipid-transporting ATPase gene *ATP10C* maps adjacent to UBE3A and exhibits similar imprinted expression. **Am. J. Hum. Genet.**, v. 68, p. 1501-1505, 2001.

HEDER, G. A. Infantil autisme blant barn Nordland fylke.

- Tidsskrift for Norsk Laegerorening**, v. 113, p. 2247-2249, 1993.
- HOLMES, D.S. **Psicologia dos transtornos mentais**. Porto Alegre: Artes Médicas, 1997.
- HOTOFF, M. ; BOLTON, P. A case of autism associated with partial tetrasomy 15. **J. Autism Dev. Disorders**. v. 25(1), p. 41-49, 1995.
- HOWARD-PEEBLES, P.N.; FRIEDMAN, J.M. Unaffected carrier males in families with fragile-X syndrome. **Am. J. Hum. Genet.**, v.37, p. 956, 1985.
- HUSSMAN, J.P. Supressed GABAergic inhibition as a common factor in suspected etiologies of autism. **J. Autism Dev. Disorders**, v. 31, p. 247-248, 2001.
- INTERNATIONAL MOLECULAR GENETIC STUDY OF AUTISM CONSORTIUM. A full genome screen for autism with evidence for linkage to a region on chromosome 7q. **Human Mol. Genetics**, v.7, p. 571-578, 1998.
- INTERNATIONAL MOLECULAR GENETIC STUDY OF AUTISM CONSORTIUM. Further characterization of the autism susceptibility locus AUTS1 on chromosome 7q. **Humam Mol. Genetics**, v. 10(9), p. 973-982, 2001a.
- INTERNATIONAL MOLECULAR GENETIC STUDY OF AUTISM CONSORTIUM. A genomewide screen for autism: strong evidence for linkage to chromosomes 2q, 7q, and 16p. **Am. J. Hum. Genet.**, v. 69, p. 570-581, 2001b.
- JONES,K.L. **Padrões reconhecíveis de malformações congênitas**. São Paulo. Editora Manole, 1998.
- JORDE,L.B.; *et al.* Complex segregation anlysis of autism. **Am. J. Hum. Genet.**, v. 49, p. 932-938, 1991.
- JUUL-DAM, N.; TOWNSEND J.; COURCHESNE E. Prenatal, perinatal, and neonatal factors in autism, pervasive developmental disorder-not otherwise specified, and general population.

Pediatrics, v. 107(4),p. E63, 2001.

KADESJO, B.; GILLBERG, C.; HABERG, J. Brief report: autism and Asperger syndrome in seven-year-old children: a total population study. **J. Autism Dev. Disord.**, v. 29 (4), p. 327-331, 1999.

KERBESHIAN,J.; BURD,L.; RANDALL,T.; MARTSOLF,J.; JALAJ,S. Autism, proufound mental retardation and atypical bipolar disorder in a 33-year-old female with a deletion of 15q12. **J. Ment. Defic. Res.**, v. 34, 205 - 210, 1990.

KNOLL, J. H.; *et al.* FISH ordering of reference mafkers and of the gene for t he alpha 5 subnit of the aminobutirico acid receptor (GABRA5) within the Angelman and Prader-Willi syndrome chromosomal regions. **Hum. Mol. Genet.**, v.2, p. 183-189, 1993.

LANDA, R. *et al.* Social language use in parents of autistic individuals. **PsycholMed.**,v.22(1),p.245-254, 1992.

LANDGREN, M.; GILLBERG,C.; STROMLAND K. Goldenhar syndrome and autistic behaviour. **Dev. Med. Child Neurol.**, v. 34(11), p. 999-1005, 1992.

LEANNA-COX,J. *et al.* Molecular cytogenetic analysis of invdup(15) chromosomes, using probes specific for the Prader-Willi/Angelman syndrome region: clinical implications. **Am. J. Hum. Genetics**, v. 54, p. 748-756, 1994.

LE COUTER, A. Changing perspectives in autism. **Britsh Journal Hospital Medicine**, v. 50, p. 159-161, 1993.

LEONARD, H., *et al.* Occurrence of Rett syndrome in boys. **J. Chil. Neurol.**, v. 16(5), p. 333-338, 2001.

LEVITAS,A.; HARGERMAN, R.J.; BRADEN, M.; RIMLAND, B.; Mc BOGG,P.; MATUS, I. Autism and fragile X syndrome. **J. Dev. Behav.Pediatr.**, v.4, p. 151- 158, 1983.

LINKS, P.S. Minor physical anomalies in childhood autism. Part I.

- Their relationship to pre-and perinatal complications. **J. Autism Dev. Disord.**, v. 10(3), p. 287-292, 1980.
- LOMBARDI, C., *et al.* Operacionalização do conceito de classe social em estudos epidemiológicos. **Rev. Saúde Publ.**, v.22(4),p. 253-265, 1988.
- LONDON, E.A. The environment as an etiologic factor in autism: a new direction for research. **Environ. Health Perspect.**, v. 108 p. 401-404, 2000.
- LOPREIATTO, J.O. & WULFSBERG, E.A. A complex chromosome rearrangement in a boy with autism. **Journal Dev. Behav. Pediatrics**, v.13,p. 281-283, 1992.
- LORD, C. ; LEVENTHAL, B.L., COOK, E. Quantifying the phenotype in autism spectrum disorders. **Am. J. Medical Genetics**, v. 105, p. 36-38, 2001.
- MARTIN, E. R., *et al.* Analysis of linkage disequilibrium mapping of autistic disorder, with 15q11-q13 markers. **Am. J. Med. Genet.**, v.96, p. 43-48, 2000.
- MAZZOCO, M.M.M. ; WENDY, R. K.; BAUMGARDNER, T.L.; FREUND, L. S.; REISS, A. L.; Autistic behaviors among girls with fragile X syndrome. **J. Autism Dev. Disorders**, v. 27,p. 415-435, 1997.
- MEGURO, M., *et al.* A novel maternally expressed gene, ATP10C, encodes a putative aminophospholipid translocase associated with Angelman syndrome. **Nat. Genet**, v. 28, p. 19-20, 2001.
- MILES, J.H., *et al.* Head circumference is an independent clinical finding associated with autism. **Am. J. Med. Genet**, v. 95(4), p. 339-350, 2000.
- MILOLOZA, *et al.*, The TSC1 gene product, hamartin, negatively regulates cell proliferation. **Hum Mol Genet.**, v.9(12), p. 1721-1727, 2000.

- MOHANDAS, T. K. *et al.* Paternally derived de novo interstitial duplication for proximal 15q in a patient with developmental delay. **Am. J. Med. Genet.**, v. 82, p. 294-300, 1999.
- MOORHEAD, P.S.; NOWELL, P.C.; MELLMAN, W.J.; BATTIPS, D. M. ; HUNGERFORD, D.A. Chromosome preparations of leukocytes cultured from human peripheral blood. **Exptl Cell. Res.**, v. 20, p. 613-616, 1960.
- MORETTI-FERREIRA, D., *et al.* Macrosomia, obesity, macrocephaly and ocular abnormalities (MOMO syndrome) in two unrelated patients: delineation of a newly recognized overgrowth syndrome. **Am. J. Hum. Genet.**, v. 46(5), p. 555-558, 1993.
- MURPHY, M.; *et al.* Personality traits of the relatives of autistic probands. **Psychol Med.**, v. 30(6), 1411-1424, 2000.
- NURMI, E.L., *et al.* Linkage disequilibrium at the angelman syndrome gene ube3A in autism families. **Genomics**, v. 77(1/2), p. 705-713, 2001.
- OTT, J. **Analysis of human genetic linkage**. Baltimore: Johns Hopkins University Press, 1985.
- PELLEGRINO, J. E.; SCHNUR, R. E.; KLINE, R. ; ZACKAU, E. H. ; SPINNER, N. B. Mosaic loss of 15q11q13 in a patient with hypomelanosis of Ito: is there a role for the P gene? **Hum. Genetics**, vol. 96, p. 485-489, 1995.
- PETEK, E., *et al.* Disruption of a novel gene (IMMP2L) by a breakpoint in 7q31 associated with Tourette syndrome. **Am. J. Hum. Genet.**, v. 68, p. 848-858, 2001.
- PHILIPPE, A., *et al.*, Genome-wide scan for autism susceptibility genes. **Human Mol. Genetics**, v. 8(5), p. 805-812, 1999.
- PICKLES, A., *et al.* Latent-class analysis of recurrence risk for complex phenotypes with selection and measurement error: a twin and family history study of autism. **Am. J. Med. Genet.**, v. 57, p.

717-726, 1995.

PIVEN,J.; GAYLE,J.; CAHSE,G.A.; FINK,B.; LANDA,R.; WZOERK,M. M. A family history study of neuropsychiatric disorders in the adult siblings of autistic individuals. **J. Am. Acad. Child. Adolesc. Psychiatry**, v. 29(2), p. 177-183, 1990.

PIVEN,J.; CHASE,G.A.; LANDA,R.; WZOREK,M.; GAYLE,J.; CLOUD,D.; FOLSTEIN, S. Psychiatric disorders in the parents of autistic individuals. **J.Am. Acad. Child Adolesc. Psychiatry**, v.30(3), p.471-478, 1991.

PIVEN,J.; WZOREK,M.; LANDA, R.; LAINHART, J.; BOLTON, D.; CHASE, G. A.; FOLSTEIN,S. Personality characteristics of the parents of autistic individuals. **Psychol. Med.**, v. 24(3), p. 783-795, 1994.

PIVEN, J., *et al.* Broader autism phenotype: evidence from a family history study of multiple-incidence autism families. **Am. J. Psychiat.**, v. 154, p. 185-190, 1997.

PIVEN, J. The broad autism phenotype: a complementary strategy for molecular genetic studies of autism, **Am. J. Psychiat** .v. 105, p. 34-35, 2001.

POVEY, A., *et al.* Two loci for tuberous sclerosis: one on 9q34 and one on 16p13. **Annals Hum. Genet.**, v. 58, p. 107-127, 1994.

QI Y.; LIU, Z.; JIANG, S. Five de novo forms of polymorphisms first found in Chinese mitochondrial genome. **Zhonghua Yi Xue Za Zhi**, v. 81(15), p. 924-926, 2001.

RODIER, P.M. ; INGRAM, J.L. ; TISDALE,B.; NELSON,S.; ROMANO, J. Embryological origin for autism: developmental anomalies of the cranial nerve motor nuclei. **J. Comparative Neurology**, v. 370, p.247-261, 1996.

RODIER,P.M.; BRYSON,S.E.; WELCH,J.P. Minor malformations

and phisical measurements in Autism: data from Nova Scotia. **Teratology**, v. 55, 319-325, 1997.

ROBINSON, W.P.; WAGSTAFF, J.; BERNASCONI, F.; *et al.* Uniparental disomy explains the occurrence of the Angelman or Prader-Willi syndrome in patients with additional small inv dup(15) chromosome. **J. Med. Genet.**, v. 30, p. 756-760, 1993.

RUTTER, M.; BAILEY, A. Autism and known medical conditions: myth and substance. **J. Child. Psychol. Psychiat.**, v. 32, p. 1673-1681, 1991.

SALIBA, J.R.; GRIFFITHS, M. Autism of the Asperger type associated with an autosomal fragile site. **J. Autism Dev. Disord.**, v. 20, p. 569-575, 1990.

SCHROER, R.J. *et al.* Autism and maternally derived aberrations of chromosome 15q. **Am. J. Med. Genetic**, v. 76(4), p. 327-336, 1998.

SEARCY, E., *et al.* Asperger's syndrome, X-linked mental retardation (MRX23), and chronic vocal tic disorder. **J. Child Neurol.**, v. 15(10), p. 699-702, 2000.

SHERMAN, S. Epidemiology. In: Hagerman, R.J.; Siverman, A.C. (eds.). **Fragile X syndrome: diagnosis, treatment and research**. The Johns Hopkins University Press, Baltimore, 1996, p. 3-87.

SHIBUYA, Y.; TONOKI, H.; KAJI, N.; NIIDAWA, N. Identification of a marker chromosome as inv dup(15) by molecular analysis. **Clinical Genetics**, v. 40, p. 233-236, 1991.

SILVA, A.E., *et al.* Tetrasomy 15q11-q13 identified by fluorescence in situ hybridization in a patient with autistic disorder. **Arq Neuropsiquiatr**, 2002, in press.

- SKUSE,D.H., *et al.* Evidence from Turner's syndrome of an imprinted X-linked locus affecting cognitive function. **Nature**, v. 387,p. 705-708, 1997.
- SKUSE, D.H. Imprinting, the X-chromosome, and the male brain: explaining sex differences in the liability to autism. **Pediatr. Res.**, v. 47(1),p. 9-16, 2000.
- SMALLEY, S.L. Genetic influences in autism. **Psychiatr. Clin. North Am.**, v. 14(1), p. 125-139, 1991
- SMALLEY, S.L; COLLINS, F. Brief report: genetic, prenatal, and immunologic factors **Journal of Autism and Developmental Disorders** ,v. 26, p.195-198, 1996.
- SMALLEY,S.L.; ASARNOW,R.F.; SPENCE,M.A. Autism and genetics. A decade of research. **Arch. Gen Psychiatry**, v.45(10), p. 953-961, 1998.
- SANVITO, L.W. **Síndromes Neurológicas**. São Paulo. Editora Atheneu, 2ª edição, 1997
- SPIKER, D. *et al.* Genetics of autism: characteristics of affected and unaffected children from 37 multipled families. **Am J. Med. Genet.**, v. 54, p.27-35, 1994.
- SPROVIERI, M.H.S.; ASSUMPÇÃO, F. B. Dinâmica familiar de crianças autistas. **Arq Neuropsiquiatr**, v. 59(2-A), p. 230-237, 2001.
- STEFFENBURG,S.; GILLBERG,C.; STEFEENBURG,U.; KYLLERMAN, M. Autism in Angelman syndrome: a population-based study. **Pediatr. Neurol.**, v. 14(2), p. 131-136, 1996.
- SZATMARI,P., *et al.* Genetics of autism: overview and new directions, **J. Autism Dev.Disorders**, v. 28,p. 351-368, 1998.

- SZATMARI, P., *et al.* The familial aggregation of the lessser variant in biological and nonbiological relatives of PDD probands: a family history study. **J. Chil. Psychol. Psychiat**, v. 41(5), p. 579-586, 2000.
- TANGUAY, P.E. Pervasive Developemental Disorders: a 10-year review. **J. Am. Acad. Child Adolesc. Psychiatry**, v. 39(9), p. 1079-1095, 2000.
- TELVI, L., *et al.* 45,X/46,XY mosaicism: report of 27 cases. **Pediatrics**, v. 104, p. 304-308, 1999.
- TORRES, A.; MACIULIUS, A.; ODELL, D. The association of MHC genes with autism. **Frontiers in Bioscience**, august (1), p. 936-943, 2001.
- TRAPPE, R., *et al.* MECP2 mutations in sporadic cases of Rett syndrome are almost exclusively of paternal origin. **Am. J. Hum. Genet.**, v. 68(5), p. 1093-1101, 2001.
- VEENSTRA-VANDERWELLE, J. ; GONEN, D. ;LEVENTHAL, B. L. ; COOK, E.H.Jr. Mutation screening of the UBE3A/E6AP gene in autistic disorder. **Mol. Psychiatry**, v. 4(1), p. 64-67, 1999.
- VICENT, J.B. *et al.* Identification of a nove gene on chromosome 7q31 that is interrupted by a translocation break-point in an autistic individual. **Am. J. Hum. Genet.**, v. 96, p. 228-234, 2000.
- WARBURTON, P, *et al.* Support for linkage of autism and specific language impairment to 7q3 from two chromosome rearrangements involving band 7q31. **Am. J. Medical Genetics**, v.96, p. 228-234, 2000.
- WASSINK, T.H.; PIVEN, J. The molecular genetics of autism. **Curr. Psychiatry Rep.**, v2(2), p. 170-175, 2000.

WASSINK, T.H.; *et al.* Evidence supporting WNT2 as an autism susceptibility gene, **J. Autism Dev.Disorders**, v.105, p. 406-413, 2001.

WEBER, A.M., *et al.* Autism and the cerebellum: evidence from tuberous sclerosis. **J. Autism Dev.Disorders**, v. 30(6), p. 511-517, 2000.

WEIDMER-MIKHAIL, E.; SHELDON, S.; GHAZIUDDIN,M. Chromosomes in autism and related pervasive developmental disorders: a cytogenetic study. **J. Intellect. Disabil. Res.**, v.42, p. 8-12, 1998.

WOLPERT, C. M.; *et al.* Three probands with autistic disorder and isodicentric chromosome 15. **Am. J. Medical Genetics**, v. 96, p. 365-372, 2000.

WOODWARD,G. Autism and Parkinson's disease. **Med. Hypotheses**, v.56(2), 2001.

YAZBAK, F.E. Measles, mumps, and rubella (MMR) vaccine and autism. MMR cannot be exonerated without explaining increased incidence of autism. **BMJ**, v.21, p.163-164, 2001.

ZWAIGENBAUM, L. , *et al.*, High functioning autism and childhood disintegrative disorder in half brotheres. **J. Autism Dev. Disorders**, v. 30 ,p. 121-126, 2000.

VII. RESUMO

Os Transtornos Invasivos do Desenvolvimento (PDDs) são doenças graves que interferem no desenvolvimento emocional e cognitivo do indivíduo, se destacando o autismo, pela sua precocidade e maior frequência na população. São frequentes na população geral, de etiologia complexa e heterogênea com fatores genéticos e ambientais.

Portanto, o objetivo deste trabalho foi: (1) realizar a avaliação cariotípica de portadores de PDDs, por bandamento GTG e analisar as regiões cromossômicas 7q31-q33 e 15q11-q13, com a utilização da técnica de FISH; (2) estudar as características físicas, antecedentes pessoais e familiares destes indivíduos; e (3) relacionar os resultados com possíveis fatores etiológicos envolvidos na etiologia dos PDDs.

A avaliação dos antecedentes familiares demonstrou uma frequência maior de distúrbios psiquiátricos na família de indivíduos com PDDs em comparação com os controles, sendo mais frequentemente observada a depressão. Quanto aos antecedentes pessoais constatou-se uma frequência maior de complicações pós-natais, assim como baixo peso e estatura ao nascimento. Ao exame físico, pode-se observar malformações menores principalmente de crânio e face no grupo de PDDs.

O estudo citogenético não detectou alterações

cromossômicas constitucionais, com exceção de uma paciente que apresentou monossomia do X em 10% das células analisadas. Da mesma forma, não observou-se alterações nas regiões 7q31-q33 e 15q11-q13, avaliadas pela técnica de FISH, entretanto, foi encontrada comorbidade com algumas síndromes gênicas em 35% dos casos, sendo a síndrome do cromossomo X frágil a mais freqüente, e, ainda, duas associações não descritas, com as síndromes de Cohen e de MOMO.

Diante destes fatos, pode-se concluir que os indivíduos portadores de PDDs devem ser submetidos à exames citogenética e físico detalhados, e que sejam investigados os antecedentes pessoais e familiares. Estas informações podem ajudar no esclarecimento da etiologia e do espectro fenotípico dos afetados, com implicações diretas no aconselhamento genético para as famílias.

Palavras Chaves: Transtornos Invasivos do Desenvolvimento; Autismo;

FISH; Antecedentes familiares; Malformações físicas.

VIII. ABSTRACT

Pervasive Developmental Disorders (PDDs) are serious disorders that interfere with the individual's emotional and cognitive development, prominently autism for its precocity and higher frequency in the population. They are frequent in the general population have a complex etiology and are heterogeneous with genetic and environmental factors.

Therefore, the purpose of this work was: (1) to carry out the karyotypic evaluation of PDDs carriers by GTG banding and analysis of the 7q31-q33 and 15q11-113 chromosomal regions using the FISH technique; (2) to study the physical, personal and family antecedents characteristics of these individuals; and (3) to link the results to possible etiological factors involved in the etiology of PDDs.

The evaluation of family antecedents has shown a higher frequency in psychiatric disorders in the families of individuals with PDDs compared to the controls, with depression being the most frequently observed disorder. As for personal antecedents, a higher frequency in postnatal complications, as well as low weight and height at birth, were the most frequently observed disorders. With the physical examination, minor malformations have been observed particularly in the cranium and face of the PDDs group.

The cytogenetic study did not detect any constitutional chromosomal alterations, except for a patient who presented

monosomy of X in 10% of the analyzed cells. Similarly, no alterations in the 7q31-q33 and 15q11-q13 regions, analyzed by the FISH technique, have been observed. However, a comorbidity was found with some genetic syndromes in 35% of the cases, with the fragile X syndrome as the most frequent, and, in addition, two non-described associations with the Cohen and MOMO syndromes.

These facts led to the conclusion that PDDs individuals must be submitted to detailed cytogenetic and physical examinations, as well as have their personal and family antecedents investigated. This information may help elucidate the etiology and the phenotypic spectrum of the affected individual, with direct implications in genetic counseling for families.

Key Words: Pervasive Developmental Disorders; Autism; FISH; Family Antecedents; Physical Malformations

Authorizes a reproduction of this abstract

For use only for this Project

Carina Tatiana Gomes

BOA Q A O
Data de Voto
Procedência do Voto
Nº de Voto

Autorizo a reprodução deste trabalho.

São José do Rio Preto, ____ / ____ / ____.

Carina Tatiana Giunco

