

Gisele Fernanda Assine Picchi

# Síndromes relacionadas a microdeleções: revisão da literatura

Monografia apresentada  
ao Curso de Ciências  
Biológicas da UFPR para  
obtenção do grau de  
Bacharel em Biologia.

Curitiba  
1997

**ORIENTADORA: PROF.A DR.A NINA AMÁLIA BRANCIA PAGNAN**

## ÍNDICE

I. INTRODUÇÃO.....	1
II. SÍNDROME DE DIGEORGE.....	11
III. SÍNDROME VELO-CARDIO-FACIAL.....	21
IV. SÍNDROME DE LANGER-GIEDION.....	24
V. SÍNDROME DE MILLER-DIEKER.....	27
VI. SÍNDROME WAGR.....	29
VII. SÍNDROME DE WILLIAMS.....	31
VIII. SÍNDROME DE SMITH-MAGENIS.....	32
IX. SÍNDROME DE PRADER-WILLI.....	33
X. SÍNDROME DE ANGELMAN.....	40
XI. SÍNDROME DE RUBINSTEIN-TAYBI.....	41
XII. ACONSELHAMENTO GENÉTICO.....	45
XIII. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	49

## I. INTRODUÇÃO

A interpretação genética da variabilidade humana baseia-se fundamentalmente no princípio de que todas as informações genéticas necessárias ao desenvolvimento, desde a formação do zigoto até a morte, estão basicamente contidas nos seus cromossomos. Durante muito tempo o reconhecimento dessa variabilidade só podia ser feito a partir do estudo de famílias e por inferência estatística. Atualmente, porém, os geneticistas podem valer-se também da metodologia bioquímica, imunológica e citológica. O estudo da citogenética a partir de 1959, após a publicação do trabalho de **Lejeune e cols.** sobre a primeira trissomia autossômica relacionada à síndrome de Down, permitiu relacionar uma parcela significativa da variabilidade patológica humana a alterações na organização da informação contida nos cromossomos. Entretanto, as aberrações cromossômicas, visíveis ao microscópio óptico comum representam apenas uma pequena parte dessa grande variabilidade (**Beiguelman, 1995**).

As deleções ou monossomias parciais são aberrações relacionadas à perda de material genético e afetam a dosagem gênica. Originam-se por quebras cromossômicas com perda subsequente do fragmento acêntrico, ou por “crossing-over” desigual entre cromossomos homólogos desalinhados ou entre cromátides-irmãs. Podem ser originadas também por segregação anormal na meiose de portadores de translocação ou inversão balanceada, levando ao surgimento de uma prole não balanceada (**Thompson e cols., 1993**).

Os estudos envolvendo análise citogenética realizados de 1956 até o final dos anos 60 detectavam muitas anomalias numéricas e poucas aberrações estruturais. O desenvolvimento das técnicas de bandeamento representou o passo decisivo para o estudo das aberrações estruturais. O bandeamento de cromossomos metafásicos humanos com quinacrina (bandas Q), descrito pioneiramente por **Caspersson e cols. (1971)**, foi o primeiro método de coloração usado para produzir padrões específicos de bandeamento. Como o tratamento fundamental é feito por coloração com fluorocromos derivados da quinacrina, este método requer um microscópio de fluorescência e após o desenvolvimento de técnicas usando o corante de Giemsa, pouco tempo depois, passou a ser bem menos utilizado. Embora os padrões de bandas G não sejam qualitativamente superiores ao padrão de bandas Q, são até hoje universalmente mais utilizados tanto para trabalhos de rotina como para estudos específicos. A sua aceitação é maior, provavelmente, pela facilidade com que se manuseia o microscópio óptico comum em

relação ao microscópio de fluorescência. Outro fator que poderia influenciar na preferência pelo bandeamento G é o tempo de sobrevivência do material preparado por bandas Q ser inferior devido à perda da propriedade fluorescente. Todo o desenvolvimento da técnica de bandeamento G, primeiramente descrita por **Sumner e cols. (1971)**, está baseado no processo de desnaturação e reassociação do DNA. Envolve coloração com Giemsa após a digestão parcial das proteínas cromossômicas pela tripsina.

Outras técnicas de coloração incluem o bandeamento R, C e NOR (região organizadora de nucléolos). As bandas R, resultantes da metodologia de bandeamento reverso, foram descritas por **Dutrillaux e Lejeune (1971)**. O bandeamento R requer um tratamento com calor e reverte o padrão usual claro e escuro que é visto nas bandas G e Q. O bandeamento C cora a heterocromatina constitutiva que fica nos centrômeros ou próximo a eles, e a coloração NOR destaca os satélites e constrições dos cromossomos acrocêntricos (**Beiguelman, 1982; Jorde e cols., 1996**).

As primeiras deleções descritas foram observadas em cromossomos metafásicos e sua observação foi possível porque envolviam segmentos relativamente grandes do cromossomo e conseqüentemente, muitos genes. Constituem exemplos clássicos a síndrome do *cri-du-chat* (deleção parcial do braço curto do cromossomo 5) e a síndrome de Wolf-Hirschhorn (deleção no braço curto do cromossomo 4) (**Cohen, 1989; Thompson e cols., 1993; Jorde e cols., 1996**). A perda de cromossomos inteiros (monossomia) ou de grandes segmentos cromossômicos geralmente não é tolerada, com exceção da síndrome de Turner (45, X) (**Yunis, 1965; Korf, 1996**).

Apesar de deleções grandes serem facilmente identificadas pela análise citogenética convencional, deleções de menos que quatro milhões de pares de base não podiam ser vistas ao microscópio óptico. Suspeitava-se que essas deleções submicroscópicas poderiam dar origem a síndromes de anomalias congênitas (**Korf, 1996**). O primeiro passo para a descoberta dessas pequenas deleções cromossômicas (microdeleções) se deu a partir dos anos 70 e foi possível graças ao desenvolvimento da técnica de bandeamento de alta resolução. Essa técnica permite a análise de cromossomos durante a prófase ou início da metáfase (prometáfase), antes que eles atinjam a máxima condensação (**Schinzel, 1996; Jorde e cols., 1996**).

Utilizando a técnica de bandeamento de alta resolução, um dos progressos mais importantes nas técnicas citogenéticas (**Therman e cols., 1996**), é possível obter um número maior de bandas, que pode chegar a até 1256 bandas em cromossomos na prófase tardia, o que significa um número quatro vezes maior do que o obtido em

metáfases, aumentando a possibilidade de se detectar uma anomalia não observada com o bandeamento convencional (*Yunis, 1976; Jorde e cols., 1996*). Para ser detectada citogeneticamente pelo bandeamento de alta resolução uma deleção deve abranger no mínimo 2.000 a 3.000 Kb (*Thompson e cols., 1993*). O bandeamento de alta resolução é mais demorado que o bandeamento convencional e, por isso é geralmente usado quando se está a procura de uma anomalia específica e pequena (*Jorde e cols., 1996*). Os portadores de microdeleções dessa natureza apresentam fenótipos variados associados sempre a deficiência mental de grau moderado a profundo. Constituem exemplos as síndromes WAGR (aniridia, tumor de Wilms, anomalias genito-urinárias e gonadoblastoma) e de Langer-Giedion, ambas associadas a autossomos. No caso do cromossomo X, há o relato de um paciente com microdeleção que manifestava fenotipicamente sinais de seis condições distintas ligadas ao X (*Schinzel, 1996*).

Algumas microdeleções são pequenas demais e sua detecção não é possível nem mesmo com a utilização de bandeamento de alta resolução (*Cohen e cols., 1993*). Esses casos incluem pacientes portadores de quadros clínicos variados associados a deficiência mental leve ou inteligência normal. A suspeita de que tais síndromes pudessem estar associadas a microdeleções veio da observação de pacientes com diferentes translocações, balanceadas ou não, sempre envolvendo uma determinada região cromossômica. Enquadram-se nessa situação as síndromes de Prader-Willi, Angelman e DiGeorge (*Schinzel, 1996*). Nesses casos, o segmento deletado também envolve vários genes adjacentes, e por isso as síndromes associadas a microdeleções são referidas como síndromes de genes contíguos (*Tommerup, 1993; Jorde e cols., 1996*).

O estudo de microdeleções não detectáveis por análise citogenética convencional ou de alta resolução, só é possível utilizando-se técnicas de genética molecular. A variabilidade fenotípica observada nas síndromes associadas a microdeleções está relacionada ao tamanho da deleção, incluindo o número e funções dos genes deletados (*Cohen e cols., 1993*).

Em certos casos alguns genes podem se expressar diferentemente quando herdados de um sexo ou do outro, sugerindo que o "imprinting" genômico, um processo que marca cromossomos maternos e paternos de modo diferente, pode acarretar diferença na expressão fenotípica dos pacientes com deleções idênticas na localização e extensão mas que diferem quanto à origem parental (*Thompson e cols., 1993*). Deleções envolvendo a mesma região de 15q11-13 são freqüentemente observadas tanto na síndrome de Prader-Willi como na síndrome de Angelman. Entretanto, a deleção é sempre

de origem paterna na síndrome de Prader-Willi e sempre de origem materna na síndrome de Angelman (**Tommerup, 1993**).

A tabela I.1 enumera síndromes associadas a microdeleções, suas principais características e os sítios cromossômicos envolvidos.

**TABELA I.1 - Síndromes associadas a microdeleções**

Síndromes	Características clínicas	Sítios cromossômicos
Angelman	Deficiência mental, microcefalia, convulsões, andar característico	15q11q13 (mat.)
Aniridia/tumor de Willms	Deficiência mental, aniridia, predisposição a tumor de Willms, defeitos genitais	11p13
Baraitser-Winter	Deficiência mental, hipertelorismo, coloboma de íris	2q1?
Beckwith-Wiedman	Face característica, gigantismo, nefroblastoma, hepatoblastoma, cardiomiopatia	11p15.5
DiGeorge/síndrome velo-cárdio-facial	Anomalia de DiGeorge/face característica, palato fendido, defeito cardíaco	22q11
Kallman	Hipogonadismo, sinquenesia bimanual, criptorquidismo, deficiência de GnRH	Xp22.3
Langer-Giedion	Face característica, cabelo esparsa, exostose, deficiência mental variável	8q24.1
Miller-Dieker	Lisencefalia, face característica	17p13.3
Prader-Willi	Deficiência mental, baixa estatura, obesidade, hipotonia, face característica, pés pequenos	15q11q13 (pat.)
Retinoblastoma	Tumor ocular se apresentando na lactância	13q14.1
Rubinstein-Taybi	Distúrbio do desenvolvimento, face característica, polegares largos	16p13.3
Smith-Magenis	Defeitos cardíacos, braquicefalia, retardo psicomotor, problemas de comportamento, palato fendido, retardo de crescimento	17p11.2
Williams	Distúrbio do desenvolvimento, face característica, estenose aórtica supra-avalvular	7q1?

Até o início dos anos 70, o DNA era a molécula celular mais difícil de se analisar do ponto de vista bioquímico. Muito grande e quimicamente monótona, a sua seqüência de nucleotídeos somente podia ser "acessada" por métodos indiretos, como por exemplo o estudo dos produtos protéicos, do RNA ou por análise genética. Hoje, o DNA é a molécula de onde se obtém informações com maior facilidade. Agora é possível cortar uma região específica do DNA, produzir um número ilimitado de cópias e determinar a seqüência de seus nucleotídeos, numa taxa de centenas por dia. Por variações da mesma técnica, um gene isolado pode ser alterado e transferido para células em cultura. Com o uso de técnicas mais sofisticadas, um gene redesenhado pode ser inserido em células de linhagem germinativa de um animal ou planta, funcionando como uma parte herdada do genoma do organismo (**Alberts e cols., 1994**).

Essas novas técnicas têm tido um impacto dramático em todos aspectos da biologia celular por permitir o estudo das células e suas macromoléculas de modo nunca imaginados. Tem levado à descoberta de novos genes e tem revelado que muitas proteínas tem sido muito mais conservadas do que se suspeitava durante o processo de evolução. Tem também providenciado novos meios de determinar as funções das proteínas e seus domínios, revelando relações inesperadas entre elas. Finalmente, por permitir que a região reguladora dos genes seja analisada, tem dado aos cientistas uma importante ferramenta para elucidar o complexo mecanismo de regulação gênica.

Esses avanços foram auxiliados consideravelmente pelo desenvolvimento de abordagens metodológicas e tecnológicas fundamentais que dificilmente seriam imaginadas até meados da década de 70. Os métodos e os conceitos da genética molecular são, de fato, revolucionários. A tecnologia do DNA recombinante compreende uma mistura de técnicas, algumas novas e algumas emprestadas de outros campos, como da genética de microorganismos. Essas inovações levaram a uma aumentada sensibilidade na identificação cromossômica e contribuiu significativamente para a localização dos genes e para o mapeamento físico (**Cohen, 1989; Cohen e cols., 1993; Thompson e cols., 1993; Alberts e cols., 1994; Jorde e cols., 1996**). A aplicação destas técnicas aumentou a compreensão dos processos moleculares em todos os níveis, desde o gene ao organismo como um todo, e forneceu os alicerces do crescente arsenal de procedimentos laboratoriais para a detecção e diagnóstico de muitas microdeleções (**Alberts e cols., 1994**).

Uma das descobertas fundamentais para o desenvolvimento da biologia molecular foi a descoberta, no início da década de 70, da existência de enzimas bacterianas conhecidas como endonucleases de restrição. Essas enzimas purificadas de diferentes bactérias, cortam o DNA de dupla hélice em sítios específicos definidos pela seqüência de nucleotídeos local (geralmente palindrômicas), produzindo fragmentos de DNA de tamanhos definidos. Como diferentes bactérias produzem diversas enzimas com diferentes especificidades, torna-se relativamente simples encontrar uma nuclease de restrição que criará um fragmento de DNA que inclua um determinado gene em particular (**Alberts e cols., 1994**).

Foi descoberto, ainda nos anos 70, um método para análise dos fragmentos de DNA obtidos pela digestão com enzimas de restrição: o Southern blotting. Essa técnica envolve a hibridização do DNA, onde ácidos nucléicos de filamento único são isolados e



misturados com sondas marcadas de modo a permitir sua subsequente detecção (**Jorde e cols., 1996**). Os fragmentos de DNA são separados por eletroforese em gel de agarose.

As bandas de DNA no gel de agarose podem ser evidenciadas porque a sonda utilizada apresenta um radioisótopo ( $^{32}\text{P}$  é geralmente usado) emitindo partículas  $\beta$  energéticas que são facilmente detectadas por autoradiografia. As sondas podem ter de 15 a milhares de nucleotídeos de comprimento. Reações de hibridização usando sondas de DNA são muito sensíveis e seletivas, sendo capaz de detectar seqüências complementares presentes em quaisquer concentrações.

Com essa técnica de Southern blotting poderíamos, por exemplo, determinar se um determinado gene sofreu um rearranjo por uma deleção ou por inserção de uma seqüência curta de DNA. A diferença em um único par de base em uma determinada posição cromossômica, por exemplo, poderia eliminar um sítio de clivagem da enzima, trazendo grandes diferenças no comprimento de certos fragmentos de restrição. Similarmente, pequenas deleções ou inserções poderiam mudar o tamanho do fragmento de restrição em que se encontram (**Alberts e cols., 1994**).

Quando o DNA de indivíduos normais da população é digerido por enzimas de restrição, nota-se variabilidade no que diz respeito aos fragmentos gerados. Em outras palavras, pode-se dizer que existe na população um polimorfismo de comprimento de fragmento de restrição (RFLP). Os RFLPs podem ser usados para o mapeamento genético porque a diferença entre o tamanho dos fragmentos que um indivíduo herda são rapidamente detectados por Southern Blotting com uma sonda complementar a uma seqüência específica de DNA na região.

A existência de microdeleções também pode ser evidenciada pela análise de polimorfismos de comprimento de fragmentos de restrição. Assim, por exemplo, se suspeitamos de microdeleção em uma determinada região cromossômica, e existem RFLPs conhecidos nessa região, pode-se utilizar esse tipo de análise para detecção da deleção. O DNA do paciente é digerido com uma enzima de restrição particular e os segmentos resultantes são separados por eletroforese em gel de agarose. Os fragmentos são desnaturados por exposição a NaOH e posteriormente transferidos para uma membrana. Essa membrana é utilizada para hibridização com sonda radioativa, que permitirá a identificação de segmentos complementares (técnica de Southern Blotting). Desse modo, pode-se saber se existe uma seqüência de interesse no DNA testado.

De todas as técnicas moleculares, somente a hibridização *in situ* com fluorescência (FISH) tem o poder de combinar a citogenética com a análise molecular. É

uma técnica relativamente nova que combina as vantagens da especificidade do DNA com a visualização microscópica direta em um procedimento aplicável à cromossomos metafásicos ou à células em intérfase.

Segundo **Engelen e cols. (1996)**, a técnica de FISH representa o avanço mais significativo da citogenética desde a descoberta das técnicas de bandeamento. Através dessa técnica pode-se identificar segmentos cromossômicos, correlacionar estruturas cromossômicas com a localização de genes, revelar anomalias crípticas não detectáveis pelas técnicas de bandeamento e, analisar e descobrir rearranjos complexos.

A hibridização *in situ* com fluorescência utiliza sondas cromossomo-específicas que em contato com o DNA em estudo, hibridizam-se. Essas sondas são marcadas com vários fluorocromos que produzem sinais fluorescentes fortes que ajudam a determinar o número de cópias de um cromossomo ou segmento cromossômico específico (**Cohen e cols., 1993**).

O desenvolvimento de sondas moleculares usando seqüências de DNA de diferentes tamanhos, complexidade e especificidade acoplados aos avanços tecnológicos (sondas multicores, identificação direta, sinal de amplificação computadorizado e análise de imagens) fizeram da técnica de FISH uma poderosa ferramenta de investigação, tendo grande importância na descoberta e confirmação de microdeleções (**Klinger e cols., 1992; Cohen e cols., 1993; American College of Medical Genetics, 1993**). A técnica de FISH tem a habilidade de detectar deleções ou alterações menores que 1 milhão de pares de bases, sendo a escolha ideal até então para a análise de microdeleções (**Rao e cols., 1995**).

Em muitas síndromes tidas como de ocorrência esporádica e de etiologia desconhecida, como as síndromes de Rubinstein-Taybi, de DiGeorge e de Miller-Dieker, pesquisou-se a existência de aberrações cromossômicas. Na maioria dos casos, nenhuma anormalidade era visível à microscopia óptica convencional. No caso da síndrome de Rubinstein-Taybi foram descritos pacientes com translocações recíprocas envolvendo a região 16p13.3. O ponto de quebra das translocações no cromossomo 16 foi clonado e as sondas para a análise da região deletada foram preparadas. Utilizando a técnica de FISH outros pacientes com a mesma síndrome mas sem anormalidades cromossômicas visíveis à microscopia óptica foram analisados, e foi provado que havia microdeleção na região 16p13.3 (**Donnai, 1994**).

A técnica de hibridização *in situ* com fluorescência ainda não é um procedimento padrão nos laboratórios de citogenética, sendo usada como um teste adjunto, com a

análise convencional servindo como diagnóstico primário (**American College of Medical Genetics, 1993**). **Rao e cols. (1995)** fizeram uma comparação entre a análise cromossômica de alta resolução e a técnica de FISH, estudando os resultados de análises de microdeleções. Foram estudados 31 casos, incluindo 16 de síndrome de Prader-Willi, 3 de síndrome de Angelman, 7 de síndrome de Miller-Dieker e 5 de síndrome de DiGeorge. Todos os pacientes foram analisados por bandeamento de alta resolução e por hibridização *in situ* com fluorescência. Na maioria dos casos houve 100% de concordância entre as duas técnicas, entretanto, em um paciente suspeito de ter a síndrome de DiGeorge com um cariótipo normal a nível de 750 bandas, a técnica de FISH identificou deleção na região crítica.

Baseado neste e em outros estudos recomenda-se que todos os casos suspeitos de síndromes associadas a microdeleções devem ser estudados usando FISH, entretanto, devido às dificuldades associadas ao diagnóstico clínico dessas síndromes, a técnica de FISH não deve substituir a análise cromossômica convencional (**Rao e cols., 1995**).

A disponibilidade de DNA polimerase e de oligonucleotídeos quimicamente sintetizados tornou possível amplificar seqüências específicas de DNA rapidamente sem necessidade de uma célula viva. De todas as técnicas disponíveis para análise do material genético, a PCR (Reação em Cadeia pela Polimerase) teve um impacto que nenhuma outra teve, por ser um procedimento conceitualmente simples. Foi desenvolvida a partir de 1985, entretanto, o princípio foi descrito em detalhes por **Panet e Khorana (1974)** alguns anos antes.

Esta técnica pode ampliar *in vitro* seletivamente uma única molécula de DNA ou RNA vários milhões de vezes em algumas horas (**McPherson e cols., 1991**). Isso revolucionou o diagnóstico e a análise molecular de muitas doenças genéticas, entre elas, as síndromes associadas a microdeleções. Essencialmente, a PCR é um meio artificial de replicar uma seqüência curta de DNA rapidamente, de modo que possam ser feitas milhões de cópias, desde que pelo menos parte da seqüência de seus nucleotídeos já seja conhecida.

A parte conhecida desta seqüência é usada para designar dois oligonucleotídeos sintéticos, cada um complementar a uma cadeia da dupla hélice. Esses oligonucleotídeos funcionam como “primers” para a síntese de DNA *in vitro*, determinando o final do fragmento que será obtido.

No processo de PCR, o DNA genômico é isolado geralmente do sangue periférico do paciente e depois usado como molde para a amplificação. Cada ciclo da reação requer um rápido tratamento com calor para separar as cadeias da dupla hélice do DNA. O sucesso da técnica depende, basicamente, do uso de uma DNA polimerase especial, a Taq polimerase, isolada de uma bactéria termofílica (*Thermus aquaticus*). Essa enzima é utilizada porque suporta altas temperaturas, não sendo desnaturada por repetidos tratamentos com calor. Um subsequente resfriamento do DNA na presença de grandes quantidades dos dois “primers” permite que esses oligonucleotídeos se hibridizem com a seqüência complementar.

A mistura é, então, aquecida para que a molécula de DNA se desnature. O resfriamento subsequente permite a hibridização dos “primers” com o DNA molde e a ação da polimerase, que copia as duas cadeias do DNA em sentidos inversos. Quando o procedimento é repetido, os fragmentos recém-sintetizados servem como molde para o próximo ciclo de aquecimento e resfriamento. Em pouco tempo, o produto predominante na mistura é o fragmento desejado, cujo comprimento corresponde à distância entre os dois “primers” originais.

Cada ciclo dobra a quantidade de DNA sintetizada no anterior e ciclos repetidos produzem uma acumulação exponencial do segmento específico, aproximadamente  $2^n$ , onde  $n$  é o número de ciclos (**Saiki e cols., 1988**). Poderíamos estimar, por exemplo 32.768 fragmentos após 15 ciclos de amplificação.

Para pesquisa de uma microdeleção em um paciente com síndrome de Prader-Willi, por exemplo, o produto da amplificação pela PCR é aplicado em gel de poliacrilamida e em seguida é submetido à eletroforese, onde uma corrente elétrica é usada para separar os fragmentos de DNA de acordo com os diferentes tamanhos. Para análise dos resultados, a visualização é feita sob luz ultravioleta após coloração com brometo de etídio. Se o paciente tiver a microdeleção, o fragmento especificado pelos “primers” não vai amplificar já que ele está deletado, e nenhuma banda será visualizada. No caso do paciente normal, como ele tem a região especificada pelos “primers” poderemos ver uma ou duas bandas se ele for, respectivamente, homozigoto ou heterozigoto para a mesma.

A PCR tem muitas vantagens em relação às técnicas anteriores. Primeiro, ela pode ser usada com quantidades extremamente pequenas de DNA (nanogramas ou mesmo picogramas, em oposição aos microgramas necessários para clonagem) o que leva à necessidade de uma pequena quantidade de sangue. O procedimento automatizado “livre de células” permite a clonagem molecular de um fragmento de DNA em pouco tempo.

O processo é muito mais rápido do que as técnicas anteriores sendo necessário cerca de 5 minutos para cada ciclo.

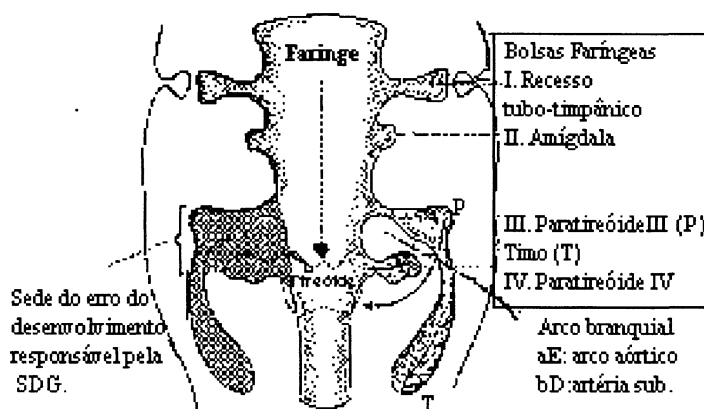
O diagnóstico genético da anemia falciforme, que necessitava de uma semana ou mais, por exemplo, pode ser feito em um único dia com PCR. Finalmente, em vista de poder produzir grandes quantidades de DNA muito puro, em geral não é necessário usar sondas radioativas para detectar seqüências específicas de DNA ou mutações e por isso podem ser usadas substâncias mais seguras e não radioativas para a marcação, como a biotina. Mas a PCR também tem desvantagens. A primeira é a necessidade de se conhecer a seqüência de DNA que flanqueia a região de interesse para que se possa sintetizar os "primers". A outra desvantagem é a extrema sensibilidade da PCR que torna-a suscetível à contaminação no laboratório, obrigando a tomada de diversas medidas de precaução (**McPherson e cols., 1991**).

Apesar de numerosas deleções terem sido identificadas e associadas a síndromes dismórficas, o conhecimento dos genes funcionais perdidos nos segmentos deletados e sua relação com conseqüências fenotípicas é extremamente limitado ao presente (**Thompson e cols., 1993**). O bandeamento de alta resolução e as técnicas de genética molecular, em geral, tentam levar a uma especificação mais precisa da região cromossômica crítica que deve ser deletada para levar à manifestação de determinado fenótipo (**Jorde e cols., 1996**).

A presente monografia pretende realizar uma revisão sobre diversas síndromes associadas a microdeleções, enfatizando o conhecimento sobre as relações genótipo-fenótipo à luz das informações recentes obtidas através de pesquisas usando ferramentas moleculares.

## II. SÍNDROME DE DIGEORGE

A descrição original da síndrome de DiGeorge derivou de uma discussão publicada em um encontro de imunologia (**Cooper e cols., 1965**) e apenas três anos mais tarde **DiGeorge (1968)** publicou uma descrição formal. Vários outros autores como **Strong (1968)**, **Kinouchi e cols. (1976)**, **Kimura (1977)**, **Takao e cols. (1980)** e **Shimizu e cols. (1984)** também descreveram afetados pela mesma síndrome que às vezes pode estar referida na literatura médica como seqüência de DiGeorge. A síndrome de DiGeorge (SDG) é caracterizada por hipocalcemia neonatal decorrente de hipoplasia das glândulas paratiróides, alta suscetibilidade a infecções relacionada a hipoplasia do timo e defeitos cardíacos congênitos. As características faciais incluem pavilhões auriculares de conformação anormal e implantação baixa, micrognatia, telecanto com fendas palpebrais curtas e boca relativamente pequena (**Smith, 1989**). A figura II.1 indica a sede do erro do desenvolvimento responsável pela SDG.



**Figura II.1:** Desenho esquemático da porção anterior do intestino primitivo e dos órgãos que dele derivam, em torno da quinta semana de vida embrionária, assinalando a provável localização do defeito responsável pela síndrome de DiGeorge (**Smith, 1989**).

Hoje sabe-se que os sinais que constituem a seqüência de DiGeorge podem estar associadas a outras síndromes como Zellweger, exposição à teratógenos (álcool e ácido retinóico) e anomalias cromossômicas como uma deleção de 22q11.2. Sabe-se também que essa deleção cromossômica pode estar relacionada a uma grande variedade de fenótipos como síndrome de Sprintzen, defeitos cardíacos como a tetralogia de Fallot, *truncus arteriosus*, e arco aórtico ininterrupto.

Há algum tempo não se sabia a etiologia da SDG, mas presumia-se que fosse heterogênea. Foram descritos casos de herança autossômica dominante, autossômica recessiva e ligada ao X (**Steele e cols., 1972; Rohn e cols., 1984; Stevens e cols., 1990;**

**Driscoll e cols., 1993). Rohn e cols. (1984)** descreveram uma família onde os dois irmãos e o pai apresentavam características da SDG. Após estudos de bandeamento cromossômico convencional que indicaram cariótipos normais, os autores sugeriram que o padrão de herança poderia ser autossômico dominante.

Nessa mesma época, alguns autores começaram a perceber a existência de aberrações cromossômicas. Em 1981, **De la Chapelle e cols.** observaram SDG em 4 membros de uma família com translocações entre o cromossomo 20 e o 22 e demonstraram que havia monossomia de 22pter-q11 e duplicação de 20p. A partir dessas observações sugeriram que a síndrome de DiGeorge poderia ser causada por uma deleção no cromossomo 22 ou por uma duplicação parcial do braço curto do cromossomo 20.

No ano seguinte, a hipótese de que a SDG poderia resultar de uma monossomia de 22q11 foi confirmada por **Kelley e cols. (1982)** em 3 pacientes com translocações envolvendo 22q11-qter e outros cromossomos. **Greenberg e cols. (1984)** usando bandeamento G observaram a existência de monossomia parcial causada por uma translocação não equilibrada entre o cromossomo 4 e o cromossomo 22 em uma criança de 2 meses de idade com características de SDG. A mãe, assintomática, mostrava uma deficiência parcial de células T e a mesma translocação com deleção de 22q11.

**Greenberg e cols. (1988)** fizeram análise de alta resolução em 27 de 28 pacientes com características de SDG e verificaram que em 18% (5 pacientes) existiam anomalias cromossômicas e em 81% (22 pacientes) o cariótipo era normal. A anomalia cromossômica encontrada nos 5 pacientes foi uma monossomia, em 3 pacientes era em 22q11, em outro era em 10p13 e no último em 18q21.33. A monossomia de 22q11 nos três pacientes foi causada por diferentes fatores. Em um, havia uma deleção intersticial em 22q11, em outro, encontraram uma translocação entre 4q e 22q e no último, a monossomia era decorrente de uma translocação entre 20q e 22q. **Wilson e cols. (1992)** realizaram bandeamento de alta resolução em 30 casos de SDG e observaram 9 casos de deleção intersticial em 22q11. Todos os outros casos eram aparentemente normais.

Utilizando análise citogenética por bandeamento G, **Monaco e cols. (1991)** encontraram deleção de 10p e trissomia da região terminal do braço longo do cromossomo 5 resultante de uma translocação materna balanceada  $t(5;10)(q35.2;p13)$ . Não foi encontrada nenhuma alteração no cromossomo 22. Outros autores como **Lai e cols. (1992)** também descreveram características da SDG em casos de deleção 10p sem nenhuma associação com alterações na região 22q11.

O uso de análises moleculares e FISH com sondas específicas revelaram deleções de 22q11 em 21 de 22 casos com cariótipos normais, em contraste com estudo realizado usando análise citogenética convencional em 16 pacientes que revelou apenas 6 casos de deleção em 22q11 (**Carey e cols., 1992**). Ainda em 1992, **Driscoll e cols. (1992a)** fizeram análises clínica, citogenética e molecular em 14 pacientes com SDG. O bandeamento de alta resolução foi capaz de detectar deleção intersticial em 22q11 em 5 indivíduos, dando um resultado inconclusivo para 3 e negativo, ou seja, cariótipo normal para os seis restantes. Em contraste ao bandeamento de alta resolução, a análise molecular da mesma região detectou deleções em todos os 14 pacientes estudados.

Estes resultados sugeriam que os resultados encontrados por **Greenberg e cols. (1988)**, **Monaco e cols. (1991)** e **Lai e cols. (1992)** não poderiam ser considerados conclusivos, já que somente foram utilizadas técnicas de bandeamento G e de alta resolução. A conclusão foi que a microdeleção existia nos pacientes por eles estudados, mas não pôde ser detectada pelas técnicas utilizadas por ser muito pequena. E acreditou-se que a SDG só poderia ser causada por uma deleção no cromossomo 22 até outros autores como **Schuffenhauer e cols. (1995)**, **Lipson e cols. (1996)**, **Kato e cols. (1996)** e **Daw e cols. (1996)** provarem a ausência de microdeleções em 22q11 por técnicas moleculares em pacientes com quadro clínico de SDG.

**Schuffenhauer e cols. (1995)** descreveram uma menina de 1 ano e 8 meses de idade com SDG apresentando monossomia de 10p. A criança apresentava uma monossomia de 10p13-pter e trissomia de 10q26-qter devido à recombinação meiótica de uma inversão (10)(p13q26) materna. O diagnóstico de SDG foi feito inequivocamente na primeira semana de vida devido aos defeitos cardíacos típicos, timo hipoplástico, deficiência de células T, hipocalcemia e hipoparatiroidismo. A mutação-microdeleção em 22q11, que é a mais comum, foi excluída por análise de FISH e o ponto de quebra no cromossomo 10 foi mapeado entre os locos D10S189 e D10S191 no braço curto e próximo ao loco D10S25 no braço longo.

**Lipson e cols. (1996)** descreveram uma criança, primeiro filho de pais não consanguíneos, sem história familiar de defeitos congênitos ou problemas do desenvolvimento, com características da SDG. A investigação citogenética por bandeamento G indicou deleção no cromossomo 10, 46,XX, del (10) (pter→p13; p12.2→qter). A análise de FISH foi realizada com a sonda N25 e os sinais de hibridização foram encontrados em ambos cromossomos 22 em 15 metáfases analisadas. Esse resultado indica que neste paciente não há deleção no loco D22S75 do cromossomo 22.



Os autores sugeriram que poderia haver homologia entre alguns genes do desenvolvimento de 22q e 10p, e que os pacientes com fenótipo de SDG ou síndrome velo-cardio-facial (também associada a deleção da mesma região do cromossomo 22), nos quais não são encontradas deleções em 22q, são fortes candidatos para deleção em 10p.

Estudos citogenéticos usando técnicas de bandeamento de alta resolução detectaram deleção intersticial de 22q11.2 em 20% dos pacientes. Entretanto, estudos moleculares usando RFLPs detectaram microdeleções em quase todos os pacientes (**Driscoll e cols., 1993**). **Larson e Butler (1995)** utilizaram a técnica de FISH em pacientes suspeitos de apresentarem a SDG e que não apresentavam deleções visíveis por bandeamento de alta resolução. Em 3 casos foram detectadas microdeleções, e em 2 casos com quadro clínico da SDG não existia a perda da região 22q11.2. Os autores comentam que os pacientes com microdeleção tinham, aparentemente, quadro clínico mais característico que os pacientes sem microdeleção. Os autores concluíram que a técnica de FISH é útil e facilmente aplicável para o diagnóstico molecular de síndromes associadas a microdeleções, particularmente da síndrome de DiGeorge.

Em 1986, **Lammer e Opitz** sugeriram que a SDG deveria ser heterogênea do ponto de vista etiológico. Essa heterogeneidade é discutida pelos autores à luz de achados que indicam uma população de células da crista neural cefálica como a unidade dismorfogeneticamente responsável pelo fenótipo na SDG. Entretanto, para entender a base genética da SDG seria necessário caracterizar os genes envolvidos no desenvolvimento e diferenciação de estruturas derivadas dessas células.

Baseados em pesquisas citogenéticas, **Driscoll e cols. (1992a)** lançaram a hipótese de que a região crítica da SDG (RCDG) está em 22q11, e a partir daí diversas seqüências têm sido identificadas. **Aubry e cols. (1993)** estudaram quatro genes para proteínas “dedo de zinco” (“zinc finger DNA binding motifs”) mapeados em 22q11.2, região crítica para SDG. Um desses genes, o *ZNF74*, estava deletado em 23 de 24 pacientes com SDG testados. RNAs transcritos desse gene foram detectados em embriões humanos e de camundongos, mas não foram encontrados em tecidos adultos, sugerindo que alterações na dosagem desse fator de transcrição, em virtude da deleção do gene *ZNF74*, devem ser críticas para o desenvolvimento embrionário, explicando os sinais da SDG. **Halford e cols. (1993b)** estudaram o gene *T10* situado também em 22q11. Esse gene codifica uma proteína rica em serina/treonina de função ainda indeterminada. Estudos em camundongos indicam que tal proteína se expressa durante a embriogênese precoce.

Esse achado sugere que essa é mais uma proteína que pode ser importante na determinação do fenótipo da SDG.

Em um outro trabalho **Halford e cols. (1993a)** estudaram outro gene, o *TUPLE1*, que está na RCDG e que se expressa durante a embriogênese do homem e do camundongo. O produto do gene *TUPLE1* tem diversas características típicas de proteína de controle transcricional e particularmente apresenta homologia com o regulador transcricional *Tup1* de leveduras. Baseados nestas características, os autores propuseram que a haplo-insuficiência para *TUPLE1* é, ao menos, parcialmente responsável pela SDG e anomalias correlatas.

**Augusseau e cols. (1986)** descreveram um paciente com alguns sinais de SDG que apresentava uma translocação aparentemente balanceada envolvendo os cromossomos 2 e 22: t(2;22)(q14;q11). O artigo original refere que a mãe do paciente também tinha a mesma translocação mas não apresentava características da síndrome. Entretanto, **Budarf e cols. (1995)** observaram que publicações subsequentes citavam a mãe como levemente afetada apresentando fala hipernasal, micrognatia e taxas T4/T8 invertidas, características vistas nas síndromes de DiGeorge e Velo-cardio-facial (SVCF). O fenótipo de SDG no paciente, o fenótipo da mãe e a translocação balanceada do cromossomo 22 em ambos, levaram os autores a seqüenciarem a região contendo o ponto de quebra e analisarem a seqüência de DNA para a identificação do transcrito. Verificou-se que o ponto de quebra rompeu uma seqüência ORF ("open reading frame") de um suposto gene importante na determinação da síndrome, deletando 11 nucleotídeos na junção da translocação. Os autores comentam que seria importante realizar estudos moleculares em pacientes sem microdeleção na tentativa de identificar mutações de genes na região envolvida.

**Demczuck e cols. (1995a)** apontaram para a existência de uma forte tendência de que as deleções de 22q11.2 na SDG fossem de origem materna. Com a experiência de 22 casos examinados diretamente e mais 7 casos analisados da literatura, os autores determinaram a origem parental do cromossomo deletado. Em 24 casos a origem era materna, o que corresponde a 82,7%. Os autores também analisaram alguns casos de SVCF (ou síndrome de Shprintzen) e de defeito cardíaco conotruncal isolado, todos portadores de deleção em 22q11.2, e observaram que na maioria dos casos, a origem do cromossomo deletado era materna.

**Demczuck e cols. (1995b)** descreveram clonagem de um gene da região crítica que codifica uma proteína receptora de adesão, suspeita de ser muito importante

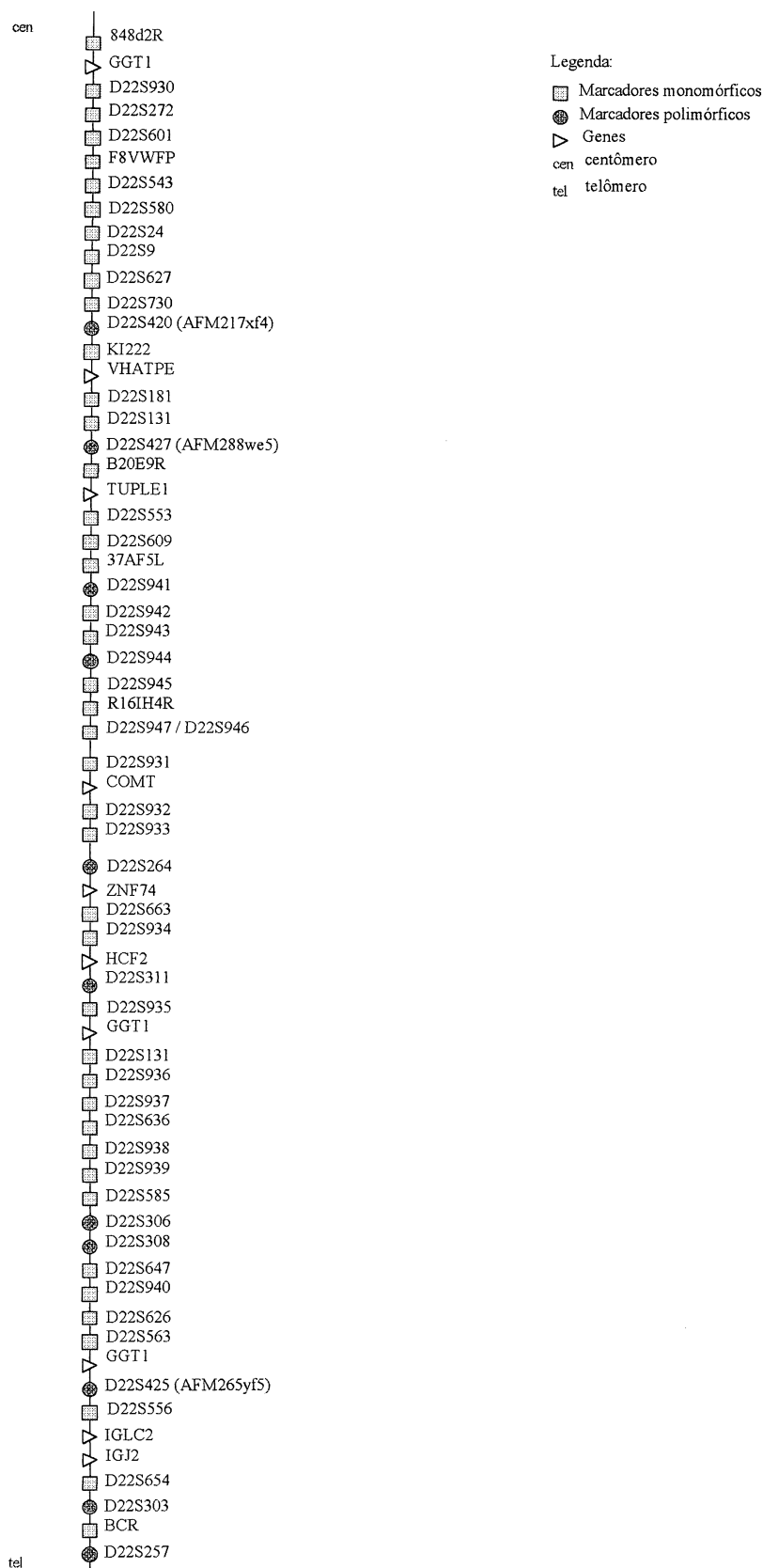
para a migração das células da crista neural. Os autores chamaram esse gene de *DGCR2* e sugeriram *DGCR1* como símbolo para o gene *TUPLE1*, anteriormente descrito por **Halford e cols. (1993b)**.

**Morrow e cols. (1995)** construíram um mapa físico de 22q11 que cobre uma distância genética de aproximadamente 9 cM, estimada em 5 Mb de DNA e contendo um total de 64 marcadores, como ilustra a figura II.2. Os autores concluíram que provavelmente o locus D22S75, identificado pela sonda N25, está localizado em um intervalo comum a todos os pacientes de SVCF e SDG com deleção no cromossomo 22.

**Pizzuti e cols. (1996)** sugeriram que o amplo espectro fenotípico associado a monossomia de 22q11 é uma consequência da deleção de genes contíguos e descreveram a clonagem de um gene humano homólogo ao gene *dsh* ("dishevelled") de *Drosophila*. O gene *dsh* codifica uma fosfoproteína que está envolvida na determinação dos segmentos no embrião do inseto. Seqüências homólogas ao gene *dsh* estão posicionadas na região crítica da SDG e se encontram ausentes nos pacientes. No homem, os produtos gênicos desta região são expressos em diferentes tecidos fetais e adultos, incluindo o timo e, em altos níveis, o coração. A análise do DNAC correspondente revelou homologia com o gene *Dvl-1* de *Xenopus* e de camundongo, que são os únicos genes homólogos ao *dsh* de *Drosophila* conhecidos até o momento em vertebrados e que parecem ser fundamentais para a morfogênese normal. Trata-se de mais um exemplo de alteração em genes conservados relacionada à síndromes na espécie humana.

**Roberts e cols. (1997)** clonaram um gene de galinha (*CHIRA*) que se expressa durante o desenvolvimento embrionário na placa, no tubo e na crista neural, no mesênquima da cabeça e em estruturas dos arcos branquiais. Em estudos embriológicos, foram produzidas fenocópias da SDG pela disrupção no desenvolvimento da crista neural. Desse modo, genes que, como o *CHIRA*, se expressam na crista neural e parecem estar relacionados ao desenvolvimento de estruturas derivadas, podem ser considerados genes candidatos para a etiologia da SDG e de outros quadros relacionados a deleções da região 22q11.

Muitos pacientes com SDG e SVCF apresentam uma grande deleção em 22q11.21-q11.23, medindo cerca de 1,5 Mb de comprimento. A menor região deletada tem sido limitada a uma área de 250 Kb, denominada região crítica mínima (RCM), que inclui o loco D22S75 identificado pela sonda N25 (**Gong e cols., 1997**). Pesquisas mais recentes têm se concentrado na identificação de genes desta região mínima (**Gottlieb e cols., 1997**).

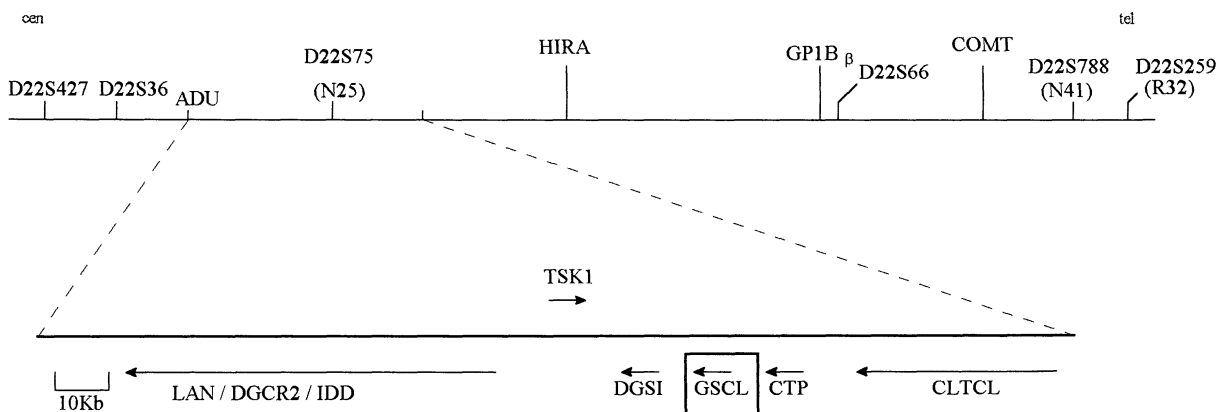


**Figura II.2:** Mapa físico de 22q11. Os marcadores usados para construir o mapa estão indicados ao lado da linha.

Modificada de **Morrow e cols., 1995.**

**Gong e cols. (1997)** isolaram e caracterizaram um gene, o *DGSI*, altamente conservado na RCM. Esse gene tem 10 exons e 9 introns, incluindo 1702 pares de bases (pb) de seqüências de DNAc e 11 Kb de DNA genômico. A proteína produzida tem 476 aminoácidos com um peso molecular de 52,6 Kd. O gene *dgsi* murino, correspondente ao humano localizado no cromossomo 16 do camundongo, contém o mesmo número de exons e introns, e a proteína traduzida tem 479 aminoácidos com 93,2% de identidade com a produzida pelo homem. Os autores também realizaram análise de mutações desse gene em 16 pacientes que não apresentavam deleções em 22q11.2 e que possuíam características clínicas de SDG e SVCF. A pesquisa revelou oito seqüências variantes que incluíam a região 5' não transcrita, a região codificadora e regiões de introns próximas às fronteiras com exons. Sete dessas oito variantes foram observadas em controles normais, sugerindo que há ausência de importância etiológica.

**Gottlieb e cols. (1997)** identificaram um gene chamado *GSCL* ("gooseoid-like") na região crítica mínima em 22q11.2. Esse gene se expressa em tecidos derivados da crista neural, e em camundongos é essencial para o desenvolvimento crânio-facial normal. Supõe-se que codifique uma proteína reguladora. Os genes identificados na RCM e a direção dos seus transcritos estão ilustrados na figura II.3.



**Figura II.3:** Região cromossômica da síndrome de DiGeorge. A parte de cima da figura corresponde a região do cromossomo 22 que está comumente deletada nos pacientes de SDG e SVCF. A região expandida corresponde à RCM. As posições e as direções dos transcritos estão indicados por setas.

Modificada de **Gottlieb e cols., 1997**.

**Holmes e cols. (1997)** estudaram um paciente com características clínicas da SDG e da SVCF (sinais dismórficos faciais, deficiência mental, aracnodactilia e anomalias genitais). Esse indivíduo apresentava uma translocação balanceada envolvendo os cromossomos 21 e 22 (21;22) (p12;q11). O ponto de quebra no cromossomo 21 estava

localizado em uma região telomérica associada a DNA repetitivo relacionado a RNAr, tornando improvável que o fenótipo esteja associado com uma interrupção nessa região. Por outro lado, o ponto de quebra no cromossomo 22 pode interromper uma seqüência na região 3' codificadora do gene *CLTCL* (gene semelhante à cadeia pesada da clatrina) que leva à produção de um transcrito truncado. Esse achado é bastante sugestivo de um papel importante desse gene no fenótipo da SDG e SVCF. O paciente estudado pelos autores apresentava apenas algumas das características comumente observadas em afetados pelas SDG e SVCF, sugerindo que alterações em outros genes seriam importantes para o aparecimento de características fenotípicas adicionais.

A associação da SDG com outras localizações cromossômicas além de 22q11.2, sugere que diversos genes estão envolvidos no controle da migração das células da crista neural e sua subsequente fixação e diferenciação em diferentes lugares durante a embriogênese. Uma explicação para a ampla variação no fenótipo pode ser a necessidade de vários genes defeituosos para produzir a versão grave da síndrome. Fatores ambientais poderiam também ser relevantes na manifestação do fenótipo.

Características de SDG tem sido descritas em crianças com evidência clínica de Síndrome do Efeito do Álcool sobre o Feto. **Amman e cols. (1982)** estudaram quatro crianças, filhas de mães alcoólatras, que apresentavam imunodeficiência e hipocalcemia com níveis baixos de paratormônio. Além disso, todas apresentavam lesões cardiovasculares idênticas às que ocorrem na SDG, e duas delas tinham ausência de timo. Os autores sugerem que o álcool pode ter interrompido a migração de células da crista neural.

**Lammer e cols. (1985)** investigaram 21 crianças malformadas cujas mães estiveram expostas ao teratogênio isotretinoína (vitamina A). Oito dessas crianças tinham defeitos conotrunciais ou anomalias aórticas, 6 tinham micrognatia, 3 tinham palato fendido e 7 tinham defeitos do timo. Diversas dessas crianças satisfaziam o critério diagnóstico de SDG. Os autores chegaram à conclusão de que fatores ambientais podem levar a um desenvolvimento anômalo semelhante ao decorrente de uma deleção de 22q11. As características principais da SDG associadas ao uso da isotretinoína, são explicadas pelo efeito da substância nas células da crista neural e tem sido postulado que poderia afetar também outras células do sistema nervoso central (**Coberly e cols., 1996**).

**Wilson e cols. (1993)** descreveram duas crianças com características de SDG nascidas de mães diabéticas tratadas com insulina. As crianças tinham agenesia renal unilateral. Estudos citogenéticos nas mães e nas crianças apresentaram resultados

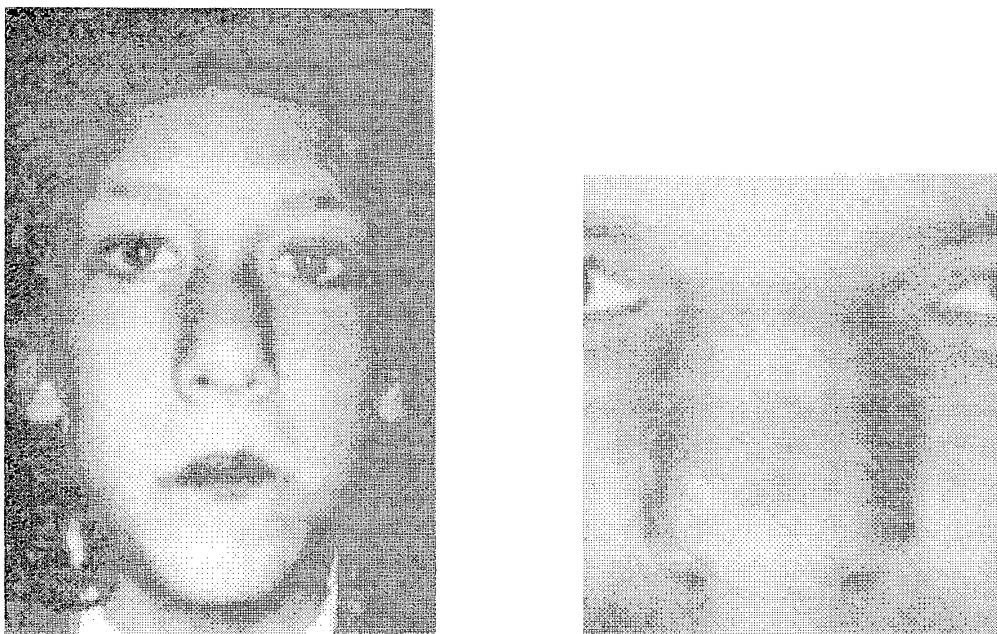
aparentemente normais. Estudos moleculares utilizando sondas para a região crítica de DiGeorge não demonstraram microdeleções de 22q11 nem nas mães nem nas crianças. Baseados nestes dados, os autores concluíram que a diabetes materna é um fator patogênico na SDG. **Driscoll e cols. (1993)** também fizeram análise molecular e não encontraram microdeleções em 22q11 em duas crianças, que também apresentavam sinais da SDG, filhas de mães insulino-dependentes.

Os trabalhos de **Lammer e cols. (1985)**, **Wilson e cols.(1993)** e **Driscoll e cols. (1993)** apóiam a hipótese de que fatores não genéticos podem levar ao aparecimento da SDG (fenocópias).

Pode-se afirmar portanto, que a deleção de genes na região 22q11.2 tem papel inquestionável na etiologia da SDG. Pesquisas recentes também indicam que outros genes em outras regiões cromossômicas podem igualmente ter papel etiológico.

### III. SÍNDROME VELO-CARDIO-FACIAL

**Shprintzen e cols. (1981)** descreveram 39 pacientes com uma síndrome caracterizada por palato fendido (ou fenda sub-mucosa), anomalias cardíacas, face típica (ponte nasal alta, micrognatia e anomalias oculares), microcefalia, deficiência mental, baixa estatura, dedos longos e hiperextensíveis e dificuldades na aprendizagem. Esse quadro clínico ficou conhecido como síndrome de Shprintzen ou síndrome velo-cardio-facial (SVCF). A figura III.1 ilustra as características fenotípicas faciais na síndrome Velo-cardio-facial.



**Figura III.1:** Características fenotípicas faciais em paciente com SVCF (**Smith, 1989**).

Em outro trabalho, **Shprintzen e cols. (1985)** alegaram que SVCF é a mais comum entre as síndromes associadas a fissura palatal, estimando que 8,1% das crianças com palato fendido que por eles foram atendidos apresentavam a SVCF.

As dificuldades na aprendizagem, caracterizam-se por problemas com abstrações, compreensão de leituras e com matemática, e são encontradas em todos os casos de SVCF como os sinais faciais. Anomalias cardíacas foram encontradas em 82%. Hipocalcemia neonatal ocorre em aproximadamente 13%. A observação de recorrência familiar com transmissão vertical levou à hipótese de herança autossômica dominante ou dominante ligada ao X (**Smith, 1989**). O relato de um caso de transmissão de pai para filho fez com que se descartasse a hipótese de herança ligada ao X e que se admitisse a autossômica dominante (**Meinecke e cols., 1986**).



**Dunham e cols. (1992)** mostraram que a seqüência HP500 geralmente deletada na SVCF está localizada no mesmo YAC de 450Kb que o gene COMT, que poderia também estar deletado.

Existe grande semelhança clínica entre a SDG e SVCF o que foi interpretado como uma conexão etiológica. A SDG, como se sabe, está associada a deleções em 22q11, detectada na maioria dos casos por análise molecular.

**Scambler e cols. (1992)** e **Driscoll e cols. (1992)** apresentaram as primeiras evidências de microdeleções em 22q11 nos pacientes com SVCF. Por técnicas de bandeamento de alta resolução, **Driscoll e cols. (1992)** detectaram deleção intersticial de 22q11.21-q11.23 em 3 dos 15 pacientes que analisaram. Os doze pacientes restantes apresentavam cromossomos aparentemente normais. Análise molecular com sondas da região crítica de DiGeorge em 22q11, detectaram deleções em 14 dos 15 pacientes. Em duas famílias, as deleções foram detectadas tanto no pai afetado como no probando, sugerindo uma transmissão autossômica dominante da SVCF devido a segregação da deleção. **Kelly e cols. (1993)** encontraram monossomia com o uso de FISH para uma região de 22q11 em 12 pacientes com SVCF que foram examinados por sondas de DNA.

Uma alta taxa de psicóticos foi encontrada entre os pacientes e seus parentes afetados, sugerindo que poderia existir um gene associado à esquizofrenia no cromossomo 22 ou que rearranjos do DNA desta região poderiam ser importantes para a etiologia de algumas formas dessa doença. **Karayorgou e cols. (1995)** descreveram os resultados de dois estudos que examinaram a coincidência genética entre a esquizofrenia e a SVCF. No primeiro estudo, os autores caracterizaram duas deleções intersticiais identificadas em 22q11 em uma amostra de pacientes esquizofrênicos. O tamanho das deleções foi estimado estar entre 1,5 e 2 Mb. No segundo estudo, os autores investigaram se as variações no tamanho das deleções estão associadas com o fenótipo esquizofrênico nos pacientes de SVCF. Os resultados sugeriram que uma região do genoma, previamente implicada por análise de ligação gênica, poderia ter lesões genéticas que aumentam a susceptibilidade à esquizofrenia.

Para determinar a relação entre doenças psiquiátricas, SVCF e deleções do cromossomo 22, **Carlson e cols. (1997)** examinaram 26 pacientes com SVCF por métodos clínicos e moleculares. Esses pacientes eram crianças e adolescentes que apresentavam doenças psiquiátricas como doença afetiva bipolar, dificuldade de atenção e hiperatividade. Os pacientes adultos (mais de 18 anos de idade) eram todos afetados por doença afetiva bipolar. A análise da perda da heterozigosidade de todos os 26 pacientes

revelou que tinham um grande deleção (comum) de 3Mb. Os autores concluíram que não há correlação entre o fenótipo da esquizofrenia e a presença de deleções em 22q11, sugerindo que o que existe é somente uma etiologia genética comum.

**Lynch e cols. (1995)** descreveram o caso de um homem de 34 anos de idade com atrofia cerebelar de etiologia desconhecida. Esse homem havia sofrido cirurgia para correção de fissura palatal e durante o período neonatal apresentou hipocalcemia. Além disso, o mesmo indivíduo era portador de defeito cardíaco congênito (comunicação interatrial) e possuía características faciais típicas da SVCF. Estudos de citogenética molecular mostraram uma deleção de 22q11.2 (del(22)(q11.21-q11.23)). Essa descrição representa o primeiro caso de uma doença neurodegenerativa com SVCF ou SDG.

**Morrow e cols. (1995)** usaram 11 marcadores polimórficos com repetições em *tandem* (STRPs) para estudar 15 indivíduos com SVCF e seus pais não afetados. O estudo revelou que 82% dos pacientes apresentavam microdeleção e que a origem parental do cromossomo deletado não era relevante para as manifestações fenotípicas. Os pacientes estudados eram suspeitos hemizigotos para os marcadores D22S941 e D22S944.

As pesquisas realizadas até o momento em pacientes portadores de SDG e SVCF indicam que uma proporção considerável apresenta deleção na mesma região cromossômica (22q11.2) e que os afetados por SDG apresentam deleções maiores, envolvendo mais genes que os afetados por SVCF (**Korf, 1996**).

#### IV. SÍNDROME DE LANGER-GIEDION

A síndrome de Langer-Giedion (SLG) caracteriza-se por deficiência mental, anomalias faciais (nariz bulboso e septo nasal largo), micrognatia, pavilhões auriculares grandes e proeminentes, anomalias epifisárias e cabelos escassos. A síndrome de Langer-Giedion tem similaridade com a doença tricorrinofalangeal tipo I (STRF-I), particularmente no que se refere às características faciais, cabelos escassos e anomalias das epífises. As características distintivas incluem deficiência mental, microcefalia e exostose múltipla que ocorrem na SLG. A síndrome é também referida na literatura como STRF tipo II. A maioria dos casos de síndrome de Langer-Giedion encontrados são esporádicos e mais freqüente no sexo masculino. A figura IV.1 ilustra características da síndrome de Langer-Giedion.

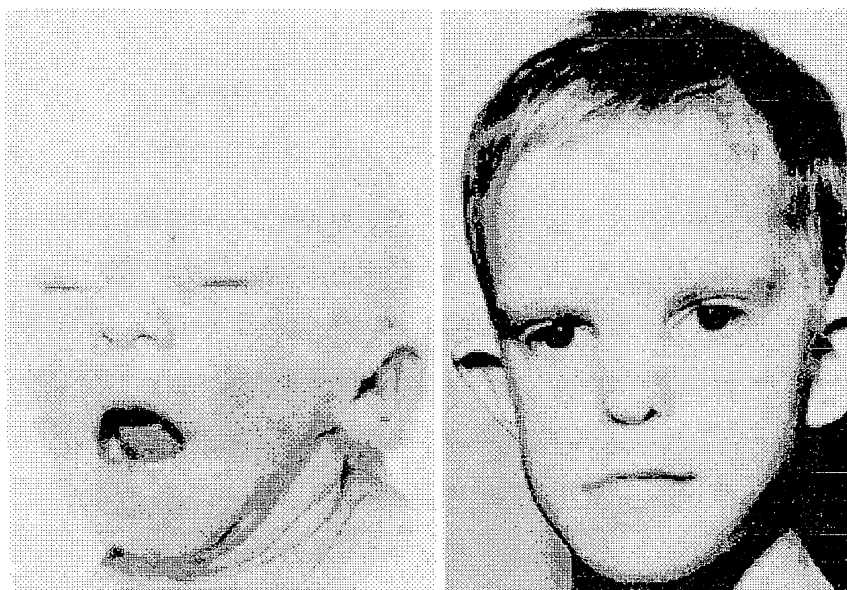


Figura IV.1 : Caso de SLG no período neo-natal e aos sete anos de idade (**Smith, 1989**).

**Buhler e cols. (1980)** descreveram o caso de uma garota com características sugestivas da SLG associada com uma deleção terminal de 8q. A análise citogenética demonstrou ausência da banda q24 em um dos cromossomos 8. No mesmo ano, **Pfeiffer (1980)** descreveu um garoto com SLG que apresentava deficiência mental e outras características como coloboma de íris e defeitos de 4° e 5° dedos. O autor observou a deleção do segmento q13-22 do braço longo do cromossomo 8.

**Wilson e cols. (1981)** encontraram deleção intersticial de 8q22.8-q24.1 em um garoto de 17 anos que apresentava exostose múltipla e atraso no desenvolvimento. O paciente não tinha o nariz típico bulboso e nem apresentava epífises cônicas características da SLG. **Gorlin e cols. (1982)** analisaram dois pacientes com SLG e encontraram cromossomos normais ao bandeamento profásico. **Turleau e cols. (1982)**

propuseram que o segmento crítico da SLG era o 8q23, e não o 8q22. **Zaletajev e Marincheva (1983)** estudaram um paciente com características típicas da SLG e deleção intersticial do braço longo do cromossomo 8 (banda 8q22) resultante de um rearranjo complexo entre os cromossomos 1 e 8: 46, XY, inv(8)(q23-q24.2), del(8)(q22.1-q22.3), ins(8;1)(q22.1;p32.1 p34.1;q24.2).

**Buhler e Malik (1984)** sugeriram que a menor região de deleção em 8q envolvia a banda q24.1. **Langer e cols. (1984)** descreveram 4 casos sem deficiência mental e revisaram 32 casos previamente descritos, onde características como desenvolvimento atrasado da fala e perda de audição também foram notadas. Os autores comentaram que não havia preferência em casamentos consanguíneos e grupos étnicos e que também não havia recorrência familiar com exceção de gêmeos concordantes monozigóticos. Entretanto, **Brenholz e cols. (1989)** descreveram SLG em dois irmãos cuja mãe aparentava também ser afetada.

**Bowen e cols. (1985)** descreveram um menino intelectualmente normal de 18 anos de idade com SLG e uma pequena deleção das bandas 8q24.11-8q24.12 e uma translocação aparentemente balanceada envolvendo os cromossomos 2 e 9 (2;9)(q21;q13). Os autores não encontraram nenhuma anormalidade cromossômica nos pais, e estimaram que o risco de recorrência da SLG para filhos do probando provavelmente seria 50%.

**Brocas e cols. (1986)** mostraram que o loco da tireoglobulina, localizado em 8q24, estava intacto em pacientes portadores da síndrome, confirmando a localização distal previamente definida para a SLG. Os autores atribuíram a região crítica da SLG à parte proximal da banda 8q24 (8q24.11-q24.13). **Buhler e cols. (1987)** concluíram que a SLG é causada por uma deleção que se estende de 8q24.11 a 8q24.13, enquanto que a STRF-I é causada pela deleção do segmento 8q24.12. **Okuno e cols. (1987)** descreveram um caso típico da SLG com deleção intersticial de 8q24.13-q24.22, concluindo que uma parte da banda 8q24.1 é responsável pela síndrome. **Zaletajev e cols. (1987)** estudaram 3 pacientes de SLG não aparentados e também encontraram deleções em 8q, identificando a região crítica em 8q24.13-q24.13. Outros trabalhos como o de **Fennell e cols. (1989)** confirmam que o segmento crítico para a SLG envolve a parte proximal de 8q24.1.

**Ludecke e cols. (1989)** descreveram a microdissecção da região da SLG no cromossomo 8 metafásico e com bandeamento G, e realizaram amplificação enzimática do DNA. Segmentos dessa região foram clonados e utilizados como sondas em portadores de SLG. Dois pacientes foram estudados e verificou-se que 50% das sondas permitiam

identificação da deleção. Os resultados demonstram que milhares de sondas região-específicas podem ser isoladas em um curto período de tempo. **Ludecke e cols. (1991)** em um outro trabalho, usaram 13 marcadores de DNA provenientes de uma biblioteca de microdissecção 8q24.1-específica e sondas para os genes *MYC* e *TG* com a finalidade de mapear os pontos de quebra em 16 pacientes com SLG. Doze pacientes tinham uma deleção visível citogeneticamente, dois tinham uma translocação aparentemente balanceada e os dois restantes apresentavam cariótipos normais. O clone L48 (D8S51) definiu a menor região de deleção, estimada em menos de 2 Mb. Os clones que flanqueavam esta menor região de deleção reconheceram seqüências altamente conservadas durante o processo evolucionário.

**Hou e cols. (1995)** construíram um mapa físico cobrindo 4 Mb de 8q24.1 e usaram esse mapa para refinar a localização dos genes responsáveis pela SLG. O mapa foi feito utilizando clones que se sobrepunham ("overlapping DNA clones"). O ponto de quebra de uma translocação balanceada  $t(8;9)(q24.1;q33.3)$  proveniente de um paciente com STRF-I foi encontrado localizado exatamente no fim da região mínima de deleção. Uma deleção em 8q24.11-q24.3 em um paciente com exostose múltipla também foi encontrada no final da região mínima deletada na SLG, indicando que o gene *EXT1* está distal do gene *RTPS1* e dando suporte para a hipótese que a SLG é decorrente da perda de cópias funcionais dos genes *RTPS1* e *EXT1*.

Usando clonagem em cromossomos artificiais de leveduras, Southern blotting, análise de PCR e FISH no estudo de deleções, inversões, inserções e translocações do cromossomo 8 em pacientes com SLG, STRF-I ou exostose múltipla, **Ludecke e cols. (1995)** obtiveram informações indicando que o gene *TRPS1* mapeia a cerca de 1000 Kb do gene *EXT1* e que ambos os genes estão afetados na SLG. Os autores concluíram que a SLG não é decorrente do efeito pleiotrópico de mutação em um único gene, mas que é uma síndrome de genes contíguos.

## V. SÍNDROME DE MILLER-DIEKER

A síndrome de Miller-Dieker (SMD) é uma doença caracterizada por microcefalia, micrognatia, lisencefalia, córtex espesso com 4 ao invés de 6 camadas e agenesia de corpo caloso. Estão associadas outras características como deficiência no crescimento pós-natal e aspecto facial característico que incluem frontal amplo e proeminente, ponte nasal baixa e lábio superior proeminente com uma borda vermelha fina. Frequentemente, há um período prolongado de icterícia neonatal. Outras malformações associadas incluem defeitos cardíacos e gastro-intestinais congênitos. A figura V.1 mostra algumas características associadas a síndrome de Miller-Dieker.

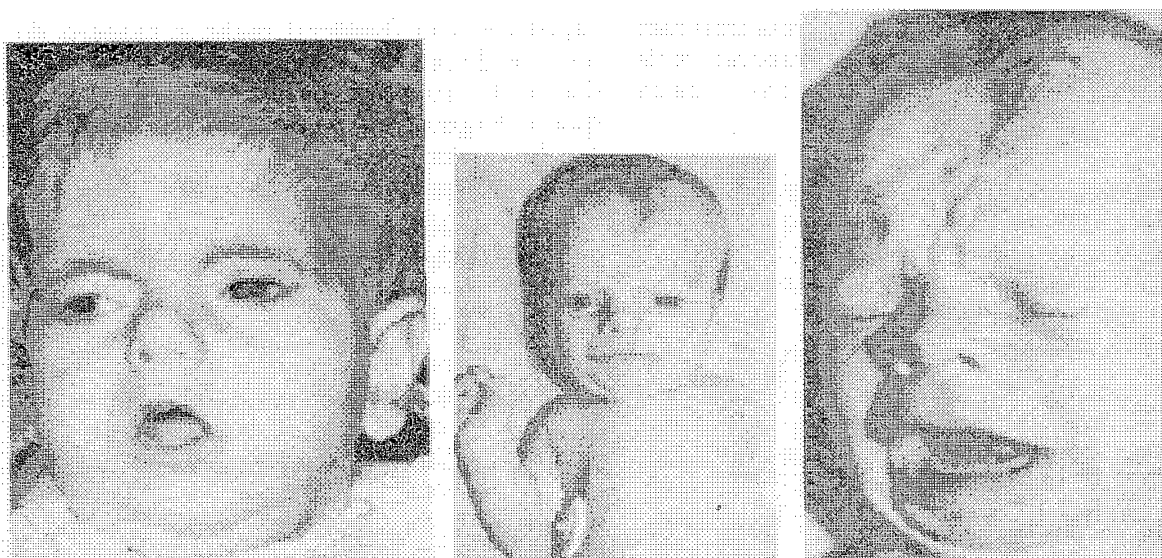


Figura V.1: Fácies de um paciente com SMD (Smith, 1989).

Casos de recorrência na mesma irmandade levaram à hipótese de herança autossômica recessiva (McKusick, 1997). Em 1983 foi publicado o primeiro caso da síndrome associada a aberração do cromossomo 17 (cromossomo 17 em anel) por Dobyns e cols.. Outros casos de cromossomo em anel e monossomia parcial da região 17p13 foram publicados posteriormente (Ledbetter, 1983; Stratton e cols., 1984; Selypes e Lazlo, 1988; Sharief e cols., 1991). Todos esses casos foram estudados por técnicas de citogenética convencional.

Em 1988, Dhellemmes e cols. observaram microdeleção de 17p em um paciente. Dobyns e cols. (1991) estudaram 25 pacientes utilizando técnicas citogenéticas e moleculares. Os autores observaram deleção de 17p13 em 14 casos através de análise citogenética e, quando métodos moleculares foram aplicados, verificou-se que 21 pacientes apresentavam deleção. Kuwano e cols. (1991) e Masuno e cols. (1995)

usando FISH, observaram translocações crípticas envolvendo o cromossomo 17 em 2 pacientes.

Atualmente, estima-se que 90% dos pacientes têm deleção visível ou submicroscópica em 17p13.3. Cerca de 50-70% dos casos de SMD mostram deleções em 17p13.3 visíveis à microscopia óptica enquanto quase todo o restante tem deleções submicroscópicas mais facilmente demonstradas por FISH (**Kuwano e cols., 1991; Dobyns e cols., 1993**).

**Reiner e cols. (1993)** clonaram um gene chamado *LIS-1* que está deletado nos pacientes com SMD. A seqüência de aminoácidos deduzida da proteína codificada por esse gene mostrou homologia com as subunidades  $\beta$  das proteínas G, importantes para o desenvolvimento cerebral. A haplo-insuficiência com relação a esse gene parece levar à síndrome, o que significa que 50% da dosagem do produto gênico é incompatível com o desenvolvimento embrionário normal.

**Hattori e cols. (1994)** mostraram que o gene *LIS-1* é, de fato uma subunidade do fator de ativação de plaquetas (FAP) no cérebro, que está envolvido em uma grande variedade de processos biológicos normais e patológicos (**Hanahan, 1986**).

**Chong e cols. (1996)** caracterizaram o gene *LIS-1* demonstrando a presença de 11 exons. Os autores estudaram 3 casos de SMD que não tinham deleções detectadas por FISH e observaram a existência de mutações de ponto (mutações missense e nonsense) e uma deleção de 22 pb na junção do 9º intron/exon, provavelmente levando a "splicing" anormal. Esses achados confirmam a hipótese de que mutações no gene *LIS-1* são a causa do fenótipo na seqüência de lisencefalia isolada e na síndrome Miller-Dieker. Junto com os resultados da análise de deleção para outros pacientes de SLI e SMD, esses dados são também consistentes com outras sugestões de que genes distais à *LIS-1* são responsáveis pelo dismorfismo facial e outras anomalias nos pacientes com SMD.

A lisencefalia isolada, isto é, não associada a outras características fenotípicas, tem causa heterogênea. Cerca de 20-30% dos casos tem deleção submicroscópicas em 17p que podem ser detectadas pela sonda L132 e cerca de 40% apresentam deleção no gene *LIS-1* (**Dobyns e cols., 1993**). Infecção intra-uterina por Citomegalovírus (CMV) e insuficiência placentária precoce podem também ser outras causas da doença.

Recomenda-se o uso de FISH para o diagnóstico da síndrome e investigação dos pais, que podem ter rearranjos crípticos. O diagnóstico rápido também pode ser conseguido utilizando-se PCR e marcadores VNTR que se sabe estarem deletados nos pacientes com SMD (apenas nesses casos e não nos casos de lisencefalia isolada).

## VI. SÍNDROME WAGR - ANIRIDIA E TUMOR DE WILMS

A síndrome WAGR inclui genitália ambígua e deficiência mental em adição a aniridia e ao tumor de Wilms. Tem sido sugerido que em cerca de uma em 70 a 90 crianças com tumor de Wilms é encontrado aniridia, e 20% das crianças com aniridia desenvolvem tumor de Wilms (**Friedman, 1986**).

Em muitos casos a associação é decorrente de uma deleção cromossômica intersticial envolvendo a banda 11p13. Essa deleção não é sempre evidente por análise cromossômica convencional e a técnica de FISH pode ser necessária para demonstrá-la (**Fantes e cols., 1992**).

**Drechsler e cols. (1994)** encontraram deleções citogenéticas em três de onze casos esporádicos com aniridia e um em nove casos familiares. A chamada síndrome WAGR é como as demais mencionadas nessa revisão, uma síndrome de genes contíguos, sendo as diversas características fenotípicas atribuíveis à perda de genes adjacentes. Os genes que são responsáveis pela aniridia e pelo tumor de Wilms já foram identificados e clonados (**Jorde e cols., 1996**).

Estudos moleculares mais detalhados mostraram que as deleções envolvendo o loco *WT1* levam ao desenvolvimento do tumor de Wilms. Esse gene situa-se em 11p13 e codifica uma proteína reguladora dedo de zinco ("zinc finger"). Sabe-se que a inativação das duas cópias desse gene dispara a carcinogênese no rim, caracterizando o loco *WT* como um gene de supressão tumoral.

**Pritchard-Jones e cols. (1994)** descreveram um caso com síndrome WAGR e leucemia mielóide aguda e demonstraram que havia uma mutação de ponto no loco *WT1*. **Pelletier e cols. (1991)** demonstraram mutações no gene *WT1* em dois casos de tumor de Wilms e anomalias genitais.

Acredita-se que o gene *WT1* não seja o único responsável pelo desenvolvimento do tumor de Wilms. Na mesma região cromossômica em que está localizado esse loco, foram identificados outros genes que se expressam no rim. Em algumas famílias, por exemplo, o gene relacionado ao tumor está em 11p15 e não em 11p13. Em outros casos, a localização do loco envolvido não é conhecida (**Thompson e cols., 1993**).

**Ton e cols. (1991)** isolaram o gene *Pax* ("paired-box like gene") da região 11p13 e mostraram que ele estava deletado em dois pacientes com aniridia. Esses genes *Pax* ou "paired box" foram descobertos em *Drosophila*, e estão envolvidos com a regulação



do desenvolvimento. As proteínas codificadas por esses genes têm um módulo que permite ligação ao DNA, e esse módulo é o chamado "paired box" que em *Drosophila* consiste de 128 aminoácidos. A ligação dessas proteínas ao DNA ativa a transcrição de outros genes. Na mosca já foram identificados 5 genes desse tipo e todos parecem estar envolvidos com a segmentação do corpo. A pesquisa de genes homólogos em eucariotos superiores, inclusive o homem, usando sondas obtidas desses genes, revelou até o momento, a existência de 9 genes *Pax* no genoma humano. Um desses genes (*Pax-6*) está deletado nos pacientes com aniridia e esse loco é homólogo ao loco *sey* ("small eye") do camundongo. Mutações desse gene estão associadas aos casos de aniridia isolada e sindrômica (***Jordan e cols., 1992; Davis e Corvell, 1993; Martha e cols., 1994; Korf, 1996***).

## VII. SÍNDROME DE WILLIAMS

**Williams e cols. (1961)** foram os primeiros a descrever a síndrome de Williams (SW) e em 1962, **Beuren e cols.** expandiram a relação das características fenotípicas que incluem face típica, defeitos cardíacos, deficiência mental com personalidade amigável e hipercalcemia durante a infância. As características faciais podem ficar mais grosseiras com o passar da idade (**Lopez-Rangel e cols., 1992**). Hipoplasia de esmalte, estrabismo e hérnias inguinais também são comuns na SW. Essa síndrome, de ocorrência esporádica, foi considerada como condicionada por gene autossômico dominante ou de etiologia desconhecida.

**Colley e cols. (1992)** descreveram uma garota com dois anos e meio de idade com uma translocação não balanceada “de novo” entre os cromossomos 13 e 18 (cariótipo 45, XX,-13,-18,+der(18), t(13;18)(q13;q23)) que apresentava diversas características da síndrome de Williams. Essa foi a primeira descrição de um caso da síndrome associado a aberração cromossômica.

**Curran e cols. (1993)** observaram a ruptura do gene da elastina, situado em 7q11 em uma família com segregação para estenose aórtica supravalvular e uma translocação balanceada. **Morris e cols. (1993)** sugeriram que o gene da elastina poderia estar envolvido na SW. **Ewart e cols. (1993)** identificaram hemizigidade no gene da elastina em 4 casos familiares e em 5 casos esporádicos da SW, confirmando os achados anteriores.

Outro gene envolvido na patogênese da síndrome é o gene da LIM-quinase-1 (**Monaco, 1996**). Haplo-insuficiência para o gene *RFC2* tem sido postulado como um fator etiológico importante. Além do mais, a hemizigidade para o gene *LIMK1* tem sido proposto como a base para distúrbios cognitivos observados nos afetados.

## VIII. SÍNDROME DE SMITH-MAGENIS

A síndrome de Smith-Magenis (SSM) é uma síndrome de microdeleção que envolve o segmento p11.2 do cromossomo 17. As características são variáveis, mas é provável que o padrão de comportamento seja o mais sugestivo para o diagnóstico.

Conduta auto-destrutiva como arrancar as próprias unhas e introduzir objetos estranhos nos próprios orifícios corporais são alguns dos exemplos do comportamento. Algumas crianças batem suas cabeças e mordem seus pulsos com ferocidade. Muitos pacientes tem um padrão de sono perturbado, com dificuldades para adormecer e para continuar dormindo, causando problemas para os pais. As características dismórficas dos pacientes com SSM às vezes se assemelham ao fenótipo associado à SPW, pequenos e obesos.

A região cromossômica envolvida que está duplicada na doença de Charcot-Marie-Tooth Tipo IA e a ausência de reflexos do tendão têm sugerido que uma neuropatia está envolvida na SSM.

Já em 1986, quando **Smith e cols.** descreveram a síndrome, associou-se o quadro clínico à deleção intersticial do cromossomo 17. Muitos casos foram descritos posteriormente, sempre associados a mesma deleção (**Stratton e col., 1996**).

**Tandan e cols. (1990)** estudaram a origem do cromossomo deletado em 15 pacientes e os resultados não foram sugestivos de que o “imprinting” genômico pudesse desempenhar papel relevante na etiologia do quadro.

Usando sondas para o braço curto do cromossomo 17, **Moncla e cols. (1993)** identificaram três microdeleções diferentes em pacientes com SSM. Através da técnica de Southern blotting, os pesquisadores verificaram que em todos os pacientes analisados havia deleção de dois marcadores de 17p11.2: D17S29 e D17S71.

## IX. SÍNDROME DE PRADER-WILLI

A síndrome de Prader-Willi (SPW) foi descrita pela primeira vez por **Prader e cols. (1956)** e, posteriormente, melhor definida por **Laurance (1961)** e **Prader e Willi (1963)**. Hipotonia e hipogenitalismo no sexo masculino são sinais clínicos presentes ao nascimento; após um período de desenvolvimento ponderal deficiente, relacionado a dificuldades de sucção e deglutição, sobrevem a hiperfagia e os afetados começam a ganhar peso rapidamente, atingindo a obesidade com distribuição de gordura do tipo centrípeta. O retardo de desenvolvimento neuropsicomotor é evidente e o comportamento mental pode ir desde a deficiência moderada até a profunda (**Batista, 1983**). A longevidade não é conhecida, mais parece estar encurtada devido a problemas ligados a obesidade. O paciente mais velho, com 43 anos, foi descrito por **Juul e Dupont (1967)**. A figura IX.1 indica características da síndrome de Prader-Willi.

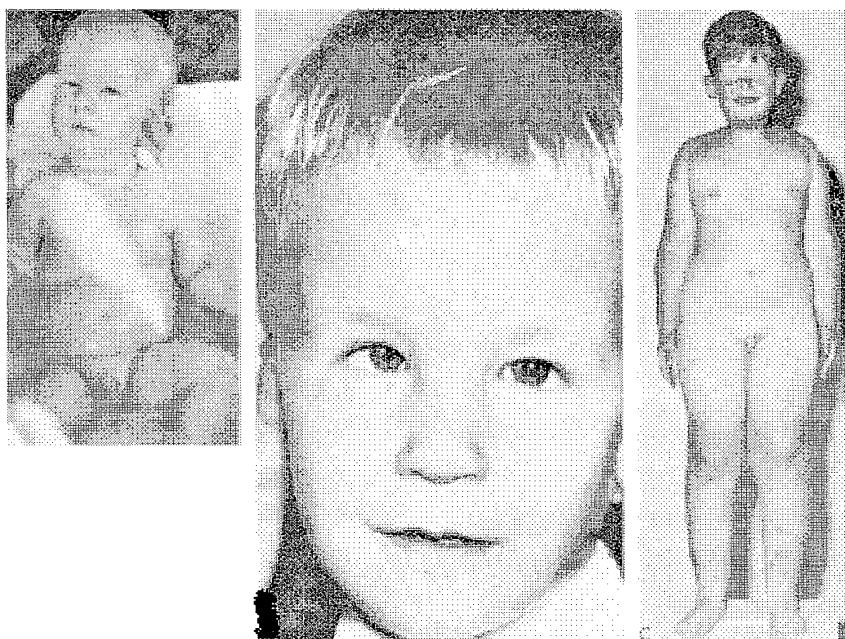


Figura IX.1: Características fenotípicas associadas à SPW (**Smith, 1989**).

A SPW pode ser considerada uma doença neuroendócrina (**Ishikawa e cols., 1996**) caracterizada principalmente por uma redução na atividade fetal, hipotonia muscular, deficiência mental, baixa estatura, hipogonadismo hipogonadotrófico, mãos e pés pequenos, hiperfagia e obesidade (**Toth-Fejel e cols., 1996**). A etiologia da síndrome foi questionada por muito tempo, mas sabe-se hoje que está associada à perda da contribuição paterna da região 15q11-q13, resultado ou de uma deleção do cromossomo 15 paterno (60-70%) (**Butler e Palmer, 1983**), ou de dissomia uniparental (DUP) materna (33%) (**Mascari e cols., 1992**). Entretanto, uma pequena porcentagem dos casos (menos

de 2%) apresentam uma anormalidade no processo de “imprinting” genômico que causa a não expressão de genes paternos na região crítica da SPW (**American Society of Human Genetics/American College of Medical Genetics Tests and Technology Transfer Committee, 1996**).

Existem poucos relatos de ocorrência da síndrome em gêmeos, mas nos três pares de monozigóticos descritos, os dois membros do par eram afetados (**Brissenden e Levy, 1973; Naselli, 1981**). Já **Royer (1963)**, **Evans (1964)** e **Jancar (1971)** descreveram três pares de gêmeos dizigóticos, em que apenas um membro do par era afetado. Desde a descrição original da síndrome, a maioria dos pacientes relatados era casos isolado, entretanto, diversos autores referiram casos de recorrência familiar.

**Gabilan (1962)** descreveu duas famílias onde havia recorrência na mesma irmandade, e em um dos casos havia consangüinidade entre os pais (primos em 1º grau). **Jancar (1971)** também descreveu incidência familiar. **Hall e Smith (1972)** descreveram dois homens afetados que eram primos em primeiro grau. Um deles tinha estatura e inteligência normais. **Clarren e Smith (1977)** também descreveram irmãos e primos em 1º grau afetados e calcularam um risco empírico de recorrência de 1,6% para irmãos de afetados. Esses relatos levaram autores como **Gabilan e Royer (1968)** e **Emberger e cols. (1977)** a sugerirem padrão de herança autossômico recessivo ou ocorrência de mutação dominante para os casos de SPW.

Estudos citogenéticos nos casos esporádicos foram realizados por inúmeros autores. Os primeiros achados, obtidos por análise citogenética convencional em cromossomos metafásicos revelaram deleções e translocações envolvendo o braço longo do cromossomo 15 (15q11). A análise de cromossomos prometafásicos revelou aberrações envolvendo a mesma região em pacientes com cariótipo aparentemente normal em análise convencional.

Estima-se que as deleções da região 15q11.2-q12 são responsáveis por 70-80% dos casos de SPW. A maioria são deleções intersticiais, muitas das quais podem ser visualizadas por bandeamento de alta resolução. Uma parcela menor de casos consiste de translocações não balanceadas, freqüentemente “de novo”, facilmente detectadas por métodos convencionais de análise cromossômica. Em todos os casos, o cromossomo deletado é o de origem paterna. No restante dos pacientes, a SPW relaciona-se a dissomia uniparental (DUP) materna onde, geralmente, a análise citogenética mostra resultados normais. Entretanto, em poucos casos, tanto translocações balanceadas,

familiais ou “de novo”, como pequenos cromossomos supranumerários são observados (*OMIM*).

**Butler e cols. (1986)** encontraram deleção intersticial no cromossomo 15 (ponto de quebra q11 e q13) em 21 de 39 casos e um cariótipo aparentemente normal nos restantes. Por estudos de heteromorfismos do cromossomo 15, demonstrou-se que a deleção de 15q era de origem paterna em todos os casos. Os genitores eram sempre normais e todas as deleções foram eventos “de novo”.

Em 1989, **Kennerknecht** comentou que o conhecimento mais profundo sobre os mecanismos etiológicos responsáveis pela SPW só seria conseguido através de pesquisas a nível molecular. Muitos outros casos de SPW associados a aberrações cromossômicas foram relatados na literatura, sendo que a imensa maioria dos casos com translocações (balanceadas ou não) tinha o braço longo do cromossomo 15 translocado para a região telomérica de outro cromossomo (**Cuouco e cols., 1990**).

**Cuoco e cols.** comentaram em 1990 que a etiologia da SPW ainda não havia sido esclarecida e referem um caso de recorrência em irmãos publicado por **Lubinsky e cols. (1987)** como favorável à hipótese autossômica recessiva (os pacientes eram citogeneticamente normais). O primeiro artigo que relata o envolvimento de uma translocação entre cromossomos do grupo D na SPW (mais tarde identificada como uma translocação 15-15) data da década de 60 (**Buehler e cols., 1963**). Translocações adicionais foram encontradas subseqüentemente, e depois da introdução do bandeamento cromossômico ficou óbvio que pelo menos um cromossomo 15 estava envolvido em todos os casos (**Zuffardi e cols., 1978; Kucerova e cols., 1979; Guanti, 1980**).

**Smith e Noel (1980)** descreveram uma garota afetada pela SPW que apresentava a mesma translocação balanceada 4;15 que sua mãe e outros membros normais da família. **Nicholls e cols. (1989)** descreveram uma família similar e demonstraram que o probando tinha herdado o cromossomo materno com a translocação mais o homólogo materno normal, mas nenhum cromossomo 15 paterno. **Fernandez e cols. (1987)** descreveram uma família onde o pai, que carregava uma translocação balanceada entre o 15 e o 22, teve dois filhos afetados pela SPW devido a uma segregação não balanceada.

**Hulten e cols. (1991)** descreveram uma família na qual uma translocação balanceada envolvendo a região 15q13 foi segregada. As mulheres com a translocação apresentavam um risco aumentado de terem filhos com SA, enquanto que, os homens com a translocação apresentavam um risco aumentado de terem filhos com SPW. A origem

exclusivamente paterna das deleções foi confirmada por análises citogenética e molecular realizadas por **Magenis e cols. (1990)**, **Zori e cols. (1990)** e **Robinson e cols. (1991)**.

Diversos mecanismos têm sido propostos para a origem da DUP no homem (**Mutirangura e cols., 1993**), entre eles:

1. Complementação gamética, na qual um gameta nulossômico e um gameta normal se fundem;
2. Trissomia para dissomia, onde um evento de não-disjunção meiotica em um dos pais contibui com dois cromossomos para uma zigoto triplóide, seguido de uma perda pós-zigótica do homólogo do outro pai;
3. Monossomia para dissomia, onde um gameta nulissômico se funde com outro normal, seguido de um evento de não-disjunção pós-zigótico que duplica os cromossomos de um dos pais.

**Nicholls e cols. (1989)** estudando casos de SPW onde nenhuma deleção era citogeneticamente evidente, foram os primeiros a demonstrar dissomia uniparental materna usando análise de RFLPs em duas famílias. Dois cromossomos 15 maternos diferentes (heterodissomia), aparentemente intactos, estavam presentes. **Robinson e cols. (1991)** usaram técnicas citogenéticas e moleculares para examinar 37 pacientes com características de SPW. Características clínicas em somente 28 pacientes preenchem os critérios diagnósticos para SPW. Em 21 desses pacientes, uma deleção da região 15q11.2-q12 pode ser identificada molecularmente, incluindo diversos casos onde resultados citogenéticos foram inconclusivos. Entre 7 casos foi constatada DUP materna para a região 15q11-q13, 5 eram de heterodissomia (cromossomos diferentes de mesma origem) e 2 de isodissomia (cromossomo idênticos de mesma origem). Nove pacientes que não preenchem o critério clínico para SPW mostraram herança normal de marcadores materno e paterno do cromossomo 15, entretanto um deles carregava um cromossomo 15 em anel. Deste modo, todos os casos típicos de SPW mostraram ou uma deleção ou uma DUP materna de 15q11.2-q12. Os pacientes com dissomia uniparental não mostravam características adicionais ou mais graves que os pacientes com deleção. Nos casos de dissomia, entretanto, encontrou-se um aumento significativo na idade materna, sugerindo uma associação entre a idade materna avançada com a não-disjunção cromossômica.

**Mascari e cols. (1992)** demonstraram DUP materna para o cromossomo 15 em 18 de 30 pacientes sem a deleção citogenética (60%). Mais tarde, eles confirmaram a observação de **Robinson e cols. (1991)** que o fenômeno estava associado com a idade materna avançada. Em 8 desses pacientes (27%) os autores identificaram grandes

deleções moleculares. Os 4 pacientes restantes (13%) tinham evidência de herança biparental normal para o cromossomo 15; 3 desses pacientes eram os únicos no estudo que apresentavam algumas características atípicas. Eles estimaram que cerca de 20% dos casos de SPW resultam de DUP materna, e que pelo uso combinado de técnicas citogenéticas e moleculares, a base genética da SPW pode ser identificada em ao menos 95% dos pacientes.

**Mitchell e cols. (1996)** compararam 79 casos de SPW com DUP e 43 casos com deleções. Apesar de não haver grandes diferenças clínicas entre as duas classes de pacientes, a idade materna e paterna estava significativamente aumentada nos pacientes com DUP. Hipopigmentação foi encontrada em 77% no grupo com deleção comparada com somente 39% das crianças com DUP.

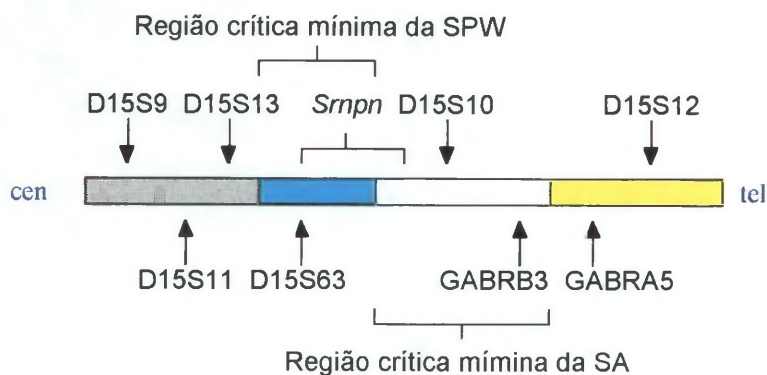
**Mutirangura e cols. (1993)** realizaram estudos moleculares com as sondas IR4-3R (D15S11), LS6-1 (D15S113) e GABA receptor B3 (GABRB3) em 20 pacientes de síndrome de Prader-Willi e em 9 pacientes de síndrome de Angelman. Os autores demonstraram heterodissomia materna em 8 pacientes com SPW. Em contraste, 2 casos de SA mostraram isodissomia paterna para todos os marcadores testados ao longo do cromossomo 15. **Robinson e cols. (1993)** mostraram dados indicando que a maioria (82%) das não-disjunções maternas que levam à DUP e causam a SPW, envolvem um erro na meiose-I, enquanto muitos casos de DUP paterna levando à SA são causados por erros na meiose-II ou, mais freqüentemente, na mitose.

**Ledbetter e cols. (1980)** estudaram pacientes com translocações aparentemente balanceadas envolvendo o cromossomo 15. Os autores sugeriram que a síndrome, nesses casos, poderia ser devida a uma alteração na expressão gênica. No ano seguinte, em outro trabalho, **Ledbetter e cols. (1981)** estudando 45 casos com diagnóstico clínico de SPW, concluíram que uma pequena deleção no braço longo do cromossomo 15 seria a causa das características clínicas encontradas nos casos de SPW com translocações. Dos casos estudados, 25 pacientes mostravam anormalidades do cromossomo 15, onde em 23 era uma deleção intersticial envolvendo a região q11-q13. Muitos artigos publicados posteriormente, por exemplo os de **Orstavik e cols. (1992)** e **Tommerup (1993)**, confirmam os achados citogenéticos ou deleção molecular.

**Kirkilionis e cols. (1991)** construíram um longo mapa de restrição da região 15q11.1-q12 usando eletroforese em campo pulsado e enzimas de restrição raras. Um mapa "contig" de YACs preliminar foi descrito por **Kuwano e cols. (1992)**. **Ozcelik e cols. (1992)** refinaram a localização do gene *SNRPN* ("small nuclear ribonucleoprotein N") na



região mínima de deleção. **Mutirangura e cols. (1993)** publicaram um mapa “contig” completo da região crítica da SPW e SA e discutiram o papel potencial da DUP nas duas síndromes. **Buiting e cols. (1993)** construíram um mapa “contig” de restrição da região crítica mínima (RCM) da SPW definida pela menor região de deleção coincidente entre pacientes com SPW. A figura IX. 2 ilustra a região crítica mínima para a SPW e SA.



**Figura IX.2:** Diagrama indicando a RCM deletada nos pacientes de síndrome de Prader-Willi e de Angelman. Modificada de **Donaldson e cols., 1994**.

**Driscoll e cols. (1992)** estudaram o segmento de 15q11-q13 com relação às diferenças na metilação do DNA em pacientes com SPW (20 casos de deleção e 20 de DUP) e pacientes com SA (26 casos de deleção e 1 de DUP). Eles encontraram que as seqüências identificadas pelo DNAC DN34, que foi altamente conservado durante o processo de evolução, demonstram grandes diferenças na metilação do DNA dos alelos parentais no locus D15S63. **Clayton-Smith e cols. (1993)** investigaram a metilação em dois primos em primeiro grau, um com SA e o outro com SPW. O padrão de metilação variou de acordo com a origem parental, dando evidências da associação com o “imprinting” genômico. Por isso, a metilação do DNA pode ser usada como uma ferramenta segura de diagnóstico pós-natal. **Dittrich e cols. (1992)** encontraram que um determinado sítio de restrição no locus D15S63 em 15q11-q13 está metilado somente no cromossomo de origem materna. Baseados nesta diferença encontrada, os autores projetaram um teste diagnóstico rápido para pacientes suspeitos de terem SPW ou SA.

O homólogo humano para o locus *p* de camundongos foi encontrado ser equivalente ao locus D15S12 que mapeia na região de deleção (**Rinchik e cols., 1993**). Mutações em ambas cópias do gene *P* foram encontradas em pacientes com albinismo oculocutâneo tipo II, sugerindo que a deleção de 1 cópia desse gene é a causa da hipopigmentação observada nas SPW e SA.

Técnicas moleculares, como a PCR, mostraram que o gene *SNRPN* se expressa em indivíduos normais e nos portadores da SA, não se expressando em fibroblastos oriundos de pacientes com SPW (tanto com deleção como com DUP materna) (**Glenn e cols., 1993**). **Reed e Leff (1994)** mostraram que no homem, como no camundongo, há “imprinting” materno do gene *SNRNP*, suportando a hipótese de que a ausência paterna do gene é responsável pelo fenótipo na SPW. Em dois irmãos com fenótipo típico de SPW mas sem uma deleção detectável citogeneticamente em 15q, **Ishikawa e cols. (1996)** demonstraram deleção de *SNRPN* por FISH.

Múltiplos genes situados na região localizada entre o gene *SNRPN* e o locus D15S10 foram identificados por **Sutcliffe (1994)**. O autor mostrou que ao menos 4 genes, *SNRPN*, *PAR1*, *PAR5* e *PAR7*, são expressos somente no cromossomo de origem paterna. **Wevrick e cols. (1994)** identificaram outro gene nesta região e designaram *IPW* para “imprinted gene” na região da SPW, que somente se expressa no cromossomo 15 de origem paterna.

**Teshima e cols. (1996)** realizaram análise de FISH para detecção laboratorial de deleções em 15q11-q13 vistas na SPW e SA usando sondas para os locos D15S11, *SNRPN*, D15S10 e *GABRB3*. Em uma amostra de 118 pacientes com SPW e SA, 29 apresentaram deleções. Os autores concluíram que a análise de FISH é uma ferramenta muito útil e rápida para detecção de microdeleções em 15q11q13.

## X. SÍNDROME DE ANGELMAN

As características principais da síndrome de Angelman (SA) são microcefalia, deficiência mental com ênfase em uma profunda imperfeição na fala e movimentos convulsivos afetando especialmente o tronco e também os membros superiores. Ataques de risos, geralmente acompanhados por palmas, são freqüentes e as crianças, em geral, são bem humoradas.

Deleções ou rearranjos do braço longo do cromossomo 15 (15q11-q13) são vistos em 60-75 % dos casos de SA, sendo que a deleção é sempre no cromossomo 15 de origem materna. A detecção das deleções nem sempre é possível na análise citogenética convencional, sendo evidentes apenas por alta resolução ou FISH. Uma pequena proporção dos casos apresentam dissomia uniparental (DUP) paterna para o cromossomo 15 (**Malcom e cols., 1991**). Existem hipóteses de que os casos resultantes de DUP apresentam um fenótipo mais brando (**Bottani e cols., 1994**). Entretanto, ao menos 20 % dos indivíduos afetados têm cromossomos normais e não apresentam nenhuma evidência de dissomia (**Chan e cols., 1993**).

Na grande maioria dos casos, a síndrome é de ocorrência esporádica havendo, entretanto, relatos de recorrência familiar (**Kuroki e cols., 1980; Pashayan e cols., 1982**) e de concordância em gêmeos monozigóticos (**Hersh e cols., 1981**). Com base em resultados obtidos em pesquisas citogenéticas e moleculares, **Saitoh e cols. (1994)** classificaram 61 casos de SA em quatro categorias: a) Familiais sem deleção; b) Familiais com deleção submicroscópica; c) Esporádicos com deleção e d) Esporádicos sem deleção. Dentre os casos esporádicos e familiares sem deleção não foi constatada DUP.

**Kishino e cols. (1997)** e **Matsuura e cols. (1997)** demonstraram que o gene para a proteína E6-AP ubiquitina ligase (**UBE3A**) é uma das causas da SA. **Matsuura e cols. (1997)** identificaram mutações truncadas “de novo” em pacientes com a SA, indicando que **UBE3A** é o gene da síndrome. **Kishino e cols. (1997)** encontraram novas mutações no gene **UBE3A** em pacientes com SA que não apresentavam deleções, DUP ou “imprinting”.

## XI. Síndrome de Rubinstein-Taybi

Deficiência mental, baixa estatura, nariz em bico, estenose pulmonar, anomalias vertebrais e esternais, alargamento dos polegares e háluces (com forma espatulada), estrabismo, hirsutismo e epicanto são sinais característicos da síndrome de Rubinstein-Taybi (SRT), ocorrendo freqüentemente nos portadores (**Giroux e Miller, 1967; Padfield e cols., 1968; Pagnan, 1988**). A figura mostra um paciente com características de síndrome de Rubinstein-Taybi.



Figura XI.1: Lactente de poucos meses apresentando a SRT (**Smith, 1989**)

Há muito se discute a etiologia da síndrome de Rubinstein-Taybi. A grande maioria dos afetados é caso isolado na família, mas a observação de casos de recorrência familiar levou à hipótese de herança monogênica. **Padfield e cols. (1968)** e **Der Kaloustian e cols. (1972)** descreveram afetados, na prole de pais consangüíneos, o que pode ser considerado como sugestivo de herança autossômica recessiva. **Simpson e Brissenden (1973)** averiguaram 112 famílias e, num total de 243 irmãos, encontraram somente uma irmandade com 2 afetados. Essa freqüência é maior que a esperada por acaso, de acordo com a freqüência populacional, mas está abaixo do esperado no caso de fenótipo autossômico recessivo.

Outros autores como **Gillies e Roussounis (1985)** também relataram a ocorrência de síndrome de Rubinstein-Taybi em irmãos filhos de pais normais. No mesmo artigo, os autores descrevem uma família na qual um afetado tinha um irmão e uma irmã normais que tiveram filhos afetados. Essa observação levou à hipótese de herança

autossômica dominante com penetrância incompleta e expressividade variável. Entretanto, o fenótipo do probando e dos outros afetados não foi considerado característico da síndrome por outros autores, o que tornou essa hipótese questionável.

Estudos em gêmeos monozigóticos encontraram 6 pares concordantes e 4 pares discordantes para a síndrome (**Kajii e cols., 1981; Schinzel e cols., 1979; Baraitser e Preece, 1983**). Essa taxa de concordância levou vários autores a afirmar que fatores genéticos seriam importantes para o aparecimento da síndrome, e um mecanismo multifatorial foi sugerido (**Pagnan, 1988**).

Na pesquisa do fator etiológico responsável pela SRT, muitos autores realizaram estudo citogenético de afetados. **Kajii e cols.(1981)** e **Baraitser e Preece (1983)** referem a ocorrência de aberrações cromossômicas estruturais em 3% dos pacientes.

**Wulfsberg e cols. (1983)** estudaram 8 pacientes com SRT mas não detectaram nenhuma anormalidade visível no bandeamento de alta resolução. Em 1987, **Berry** em artigo de revisão sugeriu que a SRT estaria associada a uma microdeleção, e comenta que os dados familiares, os estudos em gêmeos e a variabilidade fenotípica, são inteiramente compatíveis com esse mecanismo etiológico.

Como já foi mencionado anteriormente, existiam muitos relatos de pacientes com quadro clínico de SRT e aberrações cromossômicas estruturais. Verificou-se que, apesar das aberrações serem diferentes, em todas havia o envolvimento da região p13.3 do cromossomo 16. **Bazacliu e cols. (1973)** reportaram uma paciente com uma translocação t (2;16) (p13.3;p13.3) e um mosaico incluindo uma deleção do braço curto do cromossomo 2. A partir das observações que já haviam sido feitas, sugeriram que o gene da SRT poderia estar em 2p13.3, já que havia uma deleção no cromossomo 2 em uma das linhagens celulares presentes na paciente. **Imaizumi e Kuroki (1991)** observaram um caso esporádico de síndrome de Rubinstein-Taybi com a mesma translocação recíproca “de novo” t (2;16) (p13.3;p13.3). **Tommerup e cols. (1991,1992)** encontraram uma translocação recíproca aparentemente balanceada “de novo” t (7;16) (q34;p13.3) em um garoto afetado. O ponto de quebra no cromossomo 16 envolvia a mesma sub-banda p13.3 como foi observado anteriormente por **Bazacliu e cols. (1973)** e por **Imaizumi e Kuroki (1991)**. **Lacombe e cols. (1992)** observaram uma garota com características típicas da SRT e que apresentava uma inversão pericêntrica “de novo” no cromossomo 16 (46 XX, inv (16)(p13.3;q13), confirmando a localização do gene em 16p13.3.

Em um grande estudo colaborativo, **Breuning e cols. (1993)** observaram dois pacientes com quadro clínico de SRT que eram portadores de translocações recíprocas diferentes, mas que envolviam a região 16p13.3. O ponto de quebra das duas translocações estava entre as regiões identificadas pelas sondas N2 e RT1, situadas em 16p13.3. Usando a técnica de FISH com 2 cores, esses autores demonstraram que o sinal de RT1 estava ausente em um cromossomo 16 em 6 de 24 pacientes com SRT. Os pais de alguns pacientes não mostraram a deleção de RT1, indicando um rearranjo cromossômico “de novo”. **Mc Gaughran e cols. (1996)** descreveram dois pacientes com SRT que apresentavam uma deleção na região visualizada pela sonda RT1, confirmando esta região como o locus da síndrome de Rubinstein-Taybi. Aproximadamente 25% dos pacientes com SRT apresentam deleção intersticial submicroscópica em 16p13.3 (**Breuning e cols. ,1993; Lacombe, 1994**).

**Hennekam e cols. (1993)** investigaram a presença de dissomia uniparental (DUP) na síndrome de Rubinstein-Taybi em 19 pacientes e em seus pais. Estudos moleculares mostraram uma cópia do cromossomo 16 de cada pai em todos os pacientes, excluindo a hipótese de DUP.

Usando a técnica de FISH em pacientes com SRT que possuíam translocações envolvendo o cromossomo 16, **Petrij e cols. (1995)** foram capazes de situar todos os pontos de quebra em uma região de 150 kilobases (Kb) que contém o gene para a proteína CREB. Em algumas células animais um aumento no AMP cíclico (AMP<sub>c</sub>) ativa a transcrição de genes específicos. A região reguladora de um gene que é ativado por AMP<sub>c</sub> contém uma seqüência curta de DNA, chamada de elemento de resposta ao AMP<sub>c</sub> (CRE - cyclic response element). Essa seqüência CRE é reconhecida por uma proteína reguladora gene-específica chamada proteína CRE de ligação (CREB). Quando a proteína CREB é fosforilada por uma quinase em um resíduo único de serina, é ativada a transcrição do gene; a fosforilação estimula a atividade transcricional da proteína CREB sem afetar suas propriedades de ligação com o DNA. Se esse resíduo de serina é mutado, a proteína CREB é inativada e não há estimulação do gene na resposta ao aumento dos níveis de AMP<sub>c</sub>. (**Alberts e cols., 1994** ). As microdeleções, as translocações e as mutações de ponto, na região 16p13.3, implicam em alterações da proteína CREB causando a SRT. As microdeleções podem remover ou o sítio de ligação da proteína CREB ou a molécula da proteína inteira.

Em pacientes portadores de SRT nos quais não foram detectadas microdeleções, verificou-se a ocorrência de mutações de ponto e de alterações no gene da

proteína CREB (**Petrij e cols., 1995**), sugerindo que a síndrome de Rubinstein-Taybi não seja uma síndrome de genes contíguos, como são muitos dos quadros associados a microdeleções.

BIBLIOTECA DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS / UFPA

Mutações que afetam predominantemente a regulação transcricional tecido-específica tem sido recentemente associadas a fenótipos de doenças. Apesar dos mecanismos mutacionais variarem, muitos casos envolvem claramente a perda da função do gene, sugerindo que o mecanismo genético envolvido é a haplo-insuficiência, onde 2 cópias funcionais do gene são necessárias para gerar suficiente produto gênico para um desenvolvimento normal (**Dallapiccola e cols., 1995; Petrij e cols., 1995; Engelkamp e van Heyningen, 1996**). Os pacientes são prováveis heterozigotos para a mutação, portanto, a perda de uma cópia funcional do gene leva à síndrome e possivelmente a uma aumentada propensão ao desenvolvimento de câncer. De fato, em casos de leucemia não linfocítica há translocações entre os cromossomos 8 e 16, e o ponto de quebra do cromossomo 16 está localizado na região correspondente ao gene da proteína CREB. Nesse caso, portanto a leucemia estaria relacionada à união do gene da proteína CREB com um gene ainda não conhecido, localizado no cromossomo 8 (**Petrij e cols., 1995**).

A síndrome de Rubinstein-Taybi pode ser um dos primeiros exemplos de síndromes de malformações congênitas múltiplas e deficiência mental causada por um distúrbio da regulação gênica.

## XII. ACONSELHAMENTO GENÉTICO

As ações de saúde em matéria de genética, não diferem conceitualmente do resto das ações de saúde e compreendem os diversos aspectos de diagnóstico, prevenção e tratamento das enfermidades de origem genética e dos defeitos congênitos.

**Moron (1996)** afirmou que as malformações congênitas constituem uma das dez primeiras causas de mortalidade infantil. Estudos de morbidade em crianças indicam que as enfermidades genéticas e os defeitos congênitos representam 10 a 25% das internações em estabelecimentos de assistência terciária de certos centros urbanos da América Latina (**Barreiro e cols., 1976; Penschaszadeh, 1979**). Acrescente-se que uma grande proporção de impedimentos físicos e mentais, tais como deficiência mental, surdez, cegueira e problemas locomotores, é de origem genética ou congênita e afeta nada menos que 11% da população (**Organização Mundial da Saúde, 1984**).

A genética médica distingui-se das outras especialidades clínicas por sua extensão, além do paciente imediato, para a família. Quando um distúrbio clínico é diagnosticado, a pessoa afetada e os familiares precisam de ajuda para entender e se ajustar à natureza e às conseqüências do distúrbio, bem como aos meios disponíveis para alterar essas conseqüências. Se o problema for hereditário, há uma dimensão adicional: a necessidade de conhecer o risco genético e os meios disponíveis para evitar sua transmissão. A consulta genética, uma atividade fundamental na genética médica, é o processo de fornecimento destas informações (**Thompson e cols., 1993**).

O aconselhamento genético envolve a transmissão da informação sobre distúrbios hereditários de um profissional da saúde para um paciente. Pode ser definido como um processo de comunicação que lida com os problemas humanos associados aos riscos de ocorrência ou recorrência familiar de anomalias genéticas, com a finalidade de ajudar o indivíduo ou as famílias a:

1. compreender os fatos médicos incluindo o diagnóstico, provável curso do distúrbio, e conduta disponível;
2. apreciar o modo pelo qual a hereditariedade contribui para o distúrbio e o risco de recorrência em parentes especificados;
3. compreender as alternativas para lidar com o risco de recorrência;
4. escolher um curso de ação que pareça apropriado quanto à compreensão sobre o risco, suas metas familiares, e seus padrões éticos e religiosos, agindo em concordância com esta decisão;



5. fazer as melhores adaptações possíveis ao distúrbio em um membro afetado da família e/ou ao risco de recorrência desta anomalia (**Beiguelman, 1979; Abuelo, 1986; Jorde e cols., 1996**).

A primeira tarefa envolve o estabelecimento do diagnóstico e a discussão da história natural e conduta da condição. Quanto a isto, o tratamento de uma doença genética não difere de qualquer outro tipo de doença.

A segunda tarefa requer uma compreensão dos aspectos básicos da genética médica, especialmente a determinação do risco. Para distúrbios cromossômicos e multifatoriais, os riscos empíricos são usados para estimar a recorrência. Os padrões de segregação são usados para prever o risco de recorrência de distúrbios mendelianos.

O terceiro e o quarto objetivos do processo de informação genética destacam as diferenças primárias entre o modelo genético e o enfoque biomédico tradicional. Essas tarefas envolvem a discussão de opções reprodutivas e a facilitação da tomada de decisões. Implícita na quarta parte da definição é a noção de respeito à autonomia da família e sua percepção do risco do próprio distúrbio. Este enfoque foi chamado de não-direcionador: o consultor deixa todas as decisões sobre a futura reprodução para a família. Isto difere um pouco do enfoque médico mais tradicional, no qual são feitas "recomendações" quanto ao tratamento ou intervenção.

Desse modo fica fácil entender que uma das metas prioritárias do aconselhamento é ajudar as famílias a compreender e conviver com uma doença genética. Apesar de, em consequência disso, o objetivo de evitar o nascimento de pessoas com doenças genéticas ser freqüentemente atingido, é preciso deixar claro não tem finalidade eugênica. O aconselhamento tem a finalidade de defender o bem-estar de indivíduos ou de famílias, ajudando-os a resolver problemas de natureza genética, tentando esclarecer-lhes as dúvidas e diminuindo ou evitando sofrimento e preocupações. Ao contrário dos princípios eugênicos, os do aconselhamento genético visam a defesa dos interesses de indivíduos, e não os da sociedade, já que todas as decisões são tomadas exclusivamente pela família (**Beiguelman, 1979**). O geneticista deve somente orientar e nunca decidir pelo paciente ou pela família.

A facilitação da discussão quanto à tomada da decisão reprodutiva é central na tarefa da informação genética. Vários fatores estão envolvidos na decisão de uma família quanto a futuras gestações quando há um aumento de risco. Os óbvios são a magnitude do risco e o prejuízo ou impacto da doença. Entretanto, estes não são os únicos aspectos significativos. A percepção que a família tem do distúrbio é provavelmente mais importante

na tomada da decisão do que a percepção que o profissional tem do prejuízo. O significado da criança para a família, de acordo com suas preferências religiosas ou pessoais, é bem avaliado no processo de tomada de decisão reprodutiva. Além disso, as famílias freqüentemente não pensam em conviver com a recorrência da condição em outro filho. A identificação destes aspectos para uma família geralmente ajuda a estimular suas próprias discussões. O fato de que existe variação na importância que as pessoas dão ao risco, ao significado da criança e à possibilidade de recorrência, destaca o ponto de que o profissional deve ser um “facilitador” e não um “tomador de decisões”.

A tarefa final da informação genética é ajudar a família a conviver com a presença de um distúrbio ou o risco de recorrência. Esta tarefa é similar ao apoio do médico de uma família que lida com qualquer doença crônica ou incapacidade. O profissional desempenha um papel vital no apoio às famílias nas quais um membro tem uma doença genética. As estratégias adicionais de apoio incluem a indicação da família a um grupo de apoio para doenças genéticas, distribuição de informações escritas sobre o distúrbio e freqüentes visitas de acompanhamento que incluem tempo para discussão dos sentimentos e conceitos. Resumindo, a informação genética abrange cinco temas: conduta médica, determinação de risco, opções de risco, tomada de decisões reprodutivas e serviços de apoio.

No caso específico das síndromes associadas a microdeleção, a conduta inicial segue aproximadamente o mesmo padrão indicado para as aberrações cromossômicas. É indicado estudo citogenético do probando, se possível, diretamente por análise de alta resolução em cromossomos prometafásicos. É conveniente também que os genitores do afetado sejam analisados para que se exclua uma aberração herdada.

Sabe-se que nem sempre o estudo citogenético convencional de alta resolução revela a presença de perda de material cromossômico. Portanto, nesses casos, a confirmação da deleção depende de abordagem molecular, que também pode ser estendida aos pais.

A técnica de FISH, quando disponível é excelente para a detecção de deleções pequenas. Essa técnica, entretanto, não está à disposição na imensa maioria dos laboratórios de Genética Clínica do Brasil.

Convém salientar que tanto as técnicas citogenéticas mais usuais como o FISH podem ser realizadas em células fetais, possibilitando o diagnóstico pré-natal. A confirmação do diagnóstico em afetados pode ser feita também através de PCR ou

análises de RFLPs. Esses métodos são aplicáveis tanto no diagnóstico pós como pré-natal.

Na imensa maioria dos casos os riscos de recorrência são baixos, uma vez que as deleções são eventos "de novo". Constituem exceções os casos de segregação de translocação balanceada presente em um dos genitores, o que implicaria em um risco mais alto de recorrência.

### XIII. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Abuelo, D. N. : Genetic counseling. *J. Med. Tech.* 3: 482-485, 1986.
- Alberts, B.; Bray, D.; Lewis, J.; Raff, M.; Roberts, K.; Watson, J. D. : *Molecular Biology of The Cell*. 3<sup>rd</sup> edition. Garland Publishing, Inc. New York, 1994.
- American College of Medical Genetics : Prenatal Interphase Fluorescence in Situ (FISH) Policy Statement. *Am. J. Hum. Genet.* 53: 526-527, 1993.
- American Society of Human Genetics/American College of Medical Genetics Test and Technology Transfer Committee : Diagnostic testing for Prader-Willi and Angelman syndromes. *Am. J. Hum. Genet.* 58: 1085-1088, 1996.
- Ammann, A. J.; Wara, D. W.; Cowan, M. J.; Barrett, D. J.; Stiehm, E. R. : The DiGeorge syndrome and the fetal alcohol syndrome. *Am. J. Dis. Child.* 136: 906-908, 1982.
- Aubry, M.; Demczuk, S.; Desmaze, C.; Aikem, M.; Aurias, A.; Julien, J.; Rouleau, G. A. : Isolation of a zinc finger gene consistently deleted in DiGeorge syndrome. *Hum. Molec. Genet.* 2: 1583-1587, 1993.
- Augousseau, S.; Jouk, S.; Jalbert, P.; Prieur, M. : DiGeorge syndrome and 22q11 rearrangements. (Letter) *Hum. Genet.* 74: 206, 1986.
- Baraitser, M.; Preece, M. A. : The Rubinstein-Taybi syndrome: occurrence in two sets of identical twins. *Clin. Genet.* 23: 318-320, 1983.
- Barreiro, C. Z.; Negrotti, T.; Penchaszadeh, V. B. : Prevalence of genetic disease in a reference pediatric hospital. *Excerpta Med. Intl. Cong. Series* 397: 60, 1976.
- Batista, D. A. S. : *Estudo citogenético em pacientes com síndrome de Prader-willi*. Tese de Mestrado, Instituto de Biociências, USP, São Paulo, 1983.
- Bazacliu, E.; Tonceanu, S.; Carp, G.; Ghisoiu, V.; Rosca, G. H.; Rosca, S. : Rubinstein-Taybi syndrome with karyotype changes and recurring pneumopathy (original in Hungarian). *Ftziologia* 22: 645-650, 1973.
- Beiguelman, B. : *Citogenética Humana*. Guanabara Koogan, Rio de Janeiro, 1982.
- Beiguelman, B. : *Dinâmica dos genes nas famílias e nas populações*. 2<sup>a</sup> edição revisada. Sociedade Brasileira de Genética, Ribeirão Preto, 1995.
- Beiguelman, B. : O aconselhamento genético. *Ciência e Cultura* 31: 136-146, 1979.
- Berry, A. C. : Rubinstein-Taybi syndrome. *J. Med. Genet.* 24: 562-566, 1987.
- Beuren, A. J.; Apitz, J.; Harmjanz, D. : Supravalvular aortic stenosis in association with mental retardation and certain facial appearance. *Circulat.* 26: 1235-1240, 1962.
- Bottani, A.; Robinson, W. P.; Delozier-Blanchet, C. D.; et al. : Angelman syndrome due to paternal uniparental disomy of chromosome 15: a milder phenotype? *Am. J. Med. Genet.* 51: 35-40, 1994.
- Bowen, P.; Biederman, B.; Hoo, J. J. : The critical segment for the Langer-Giedion syndrome: 8q24.11-q24.12. *Ann. Genet.* 28: 224-227, 1985.
- Brenholz, P.; Swayne, L.; Twersky, S.; Arbeitel, B.; Singer, N. : Dominant inheritance of the Langer-Giedion syndrome. (Abstract) *Am. J. Hum. Genet.* 45 (suppl.): A41 only, 1989.
- Breuning, M. H.; Dauwese, H. G.; Fugazza, G.; Saris, J. J.; Spruit, L.; Wijnen, H.; Tommerup, N.; van der Hagen, C. B.; Imaizumi, K.; Kuroki, Y.; van den Boogaard, M.-J.; de Pater, J. M.; Mariman, E. C. M.; Hamel, B. C. J.; Himmelbauer, H.; Frischauf, A.-M.; Stallings, R. L.; Beverstock, G. C.; van Ommen, G.-J. B.; Hennekam, R. C. M. : Rubinstein-Taybi syndrome caused by submicroscopic deletions within 16p13.3. *Am. J. Hum. Genet.* 52: 249-254, 1993.
- Brissenden, J. E.; Levy, E. P. : Prader-Willi syndrome in infant monozygotic twins. *Am. J. Dis. Child.* 126: 110-112, 1973.
- Brocas, H.; Buhler, E. M.; Simon, P.; Malik, N. J.; Vassart, G. : Integrity of the thyroglobulin locus in tricho-rhino-phalangeal syndrome II. *Hum. Genet.* 74: 178-180, 1986.
- Budarf, M. L.; Collins, J.; Gong, W.; Roe, B.; Wang, Z.; Bailey, L. C.; Sellinger, B.; Michaud, D.; Driscoll, D. A.; Emanuel, B. S. : Cloning a balanced translocation associated with DiGeorge syndrome and identification of a disrupted candidate gene. *Nature Genet.* 10: 269-278, 1995.
- Buehler, E. M.; Rossier, R.; Bodis, I.; Vulliet, V.; Buehler, U. K.; Stalder, G. : Chromosomal translocation in a mentally deficient child with cryptorchidism. *Acta Paediat. Scand.* 52: 177-182, 1963.
- Buhler, E. M.; Buhler, U. K.; Stalder, G. R.; Jani, L.; Jurik, L. P. : Chromosome deletion and multiple cartilaginous exostoses. *Europ. J. Pediat.* 133: 163-166, 1980.
- Buhler, E. M.; Malik, N. J. : The tricho-rhino-phalangeal syndrome(s): chromosome 8 long arm deletion: is there a shortest region of overlap between reported cases? TRP I and TRP II syndromes: are they separate entities?. (Editorial) *Am. J. Med. Genet.* 19: 113-119, 1984.
- Buhler, E. M.; Buhler, U. K.; Beutler, C.; Fessler, R. : A final word on the tricho-rhino-phalangeal syndromes. *Clin. Genet.* 31: 273-275, 1987.
- Buiting, K.; Dittrich, B.; Gross, S.; Greger, V.; Lalande, M.; Robinson, W.; Mutirangura, A.; Ledbetter, D.; Horsthemke, B. : Molecular definition of the Prader-Willi syndrome chromosome region and orientation of the SNRPN gene. *Hum. Molec. Genet.* 2: 1991-1994, 1993.

- Butler, M. G.; Palmer, C. G. : Parental origin of chromosome 15 deletion in Prader-Willi syndrome. (Letter) *Lancet* I: 1285-1286, 1983.
- Butler, M. G.; Meaney, F. J.; Palmer, C. G. : Clinical and cytogenetic survey of 39 individuals with Prader-Labhart-Willi syndrome. *Am. J. Med. Genet.* 23: 793-809, 1986.
- Carey, A. H.; Kelly, D.; Halford, S.; Wadey, R.; Wilson, D.; Goodship, J.; Burn, J.; Paul, T.; Sharkey, A.; Dumanski, J.; Nordenskjold, M.; Williamson, R.; Scambler, P. J. : Molecular genetic study of the frequency of monosomy 22q11 in DiGeorge syndrome. *Am. J. Hum. Genet.* 51: 964-970, 1992.
- Carlson, C.; Papolos, D.; Pandita, R. K.; Faedda, G. L.; Veit, S.; Goldberg, R.; Shprintzen, R.; Kucherlapati, R.; Morrow, B. : Molecular analysis of velo-cardio-facial syndrome patients with psychiatric disorders. *Am. J. Hum. Genet.* 60: 851-859, 1997.
- Caspersson T.; Castleman, K. R.; Lomakka, G.; Modest, E. J.; Moller, A.; Nathan, R.; Wall, R. J.; Zech, L. : Automatic karyotyping of quinacrine mustard stained human chromosomes. *Exp Cell Res.* 67: 233-235, 1971.
- Chan, C.-T. J.; Clayton-Smith, J.; Cheng, X.-J.; Buxton, J.; Webb, T.; Pembrey, M. E.; Malcolm, S. : Molecular mechanisms in Angelman syndrome: a survey of 93 patients. *J. Med. Genet.* 30: 895-902, 1993.
- Chong, S. S.; Lo Nigro, C.; Roschke, A. V.; Tanigami, A.; Pack, S. D.; Smith, A. C. M.; Carozzo, R.; Dobyns, W. B.; Ledbetter, D. H. : Point mutations and an intragenic deletion in three ILS patients confirm LIS1 as the lissencephaly causative gene in isolated lissencephaly sequence and Miller-Dieker syndrome. (Abstract) *Am. J. Hum. Genet.* 59 (suppl.): A23 only, 1996.
- Clarren, S. K.; Smith, D. W. : Prader-Willi syndrome: variable severity and recurrence risk. *Am. J. Dis. Child.* 131: 798-800, 1977.
- Clayton-Smith, J.; Driscoll, D. J.; Waters, M. F.; Webb, T.; Andrews, T.; Malcolm, S.; Pembrey, M. E.; Nicholls, R. D. : Difference in methylation patterns within the D15S9 region of chromosome 15q11-13 in first cousins with Angelman syndrome and Prader-Willi syndrome. *Am. J. Med. Genet.* 47: 683-686, 1993.
- Coberly, S.; Lammer, E.; Alashari, M. : Retinoic Acid Embryopathy: case report and review of literature. *Pediatr. Pathol. Lab. Med.* 16: 823-836, 1996.
- Cohen, M. M.; Rosenblum-Vos, L. S.; Prabhakar, G. : Human cytogenetics - A current overview. *Am. J. Dis. Child.* 147: 1159-1166, 1993.
- Cohen, M. M. : Syndromology: an updated conceptual overview. V. Aspects of aneuploidy. *Int. J. Oral. Maxillofac. Surg.* 18: 333-338, 1989.
- Colley, A.; Thakker, Y.; Ward, H.; Donnai, D. : Unbalanced 13;18 translocation and Williams syndrome. *J. Med. Genet.* 29: 63-65, 1992.
- Cooper, M. D.; Peterson, R. D. A.; Good, R. A. : A new concept of the cellular basis of immunology. *J. Pediatr.* 67: 907-908, 1965.
- Cuoco, C.; Bicocchi, D.; Granata, D.; Mezzano, P.; Serra, G. : De novo (15;21) unbalanced translocation of paternal origin in a girl with Prader-Willi Syndrome. *Am. J. med. Genet.* 37: 62-64, 1990.
- Curran, M. E.; Atkinson, D. L.; Ewart, A. K.; Morris, C. A.; Leppert, M. F.; Keating, M. T. : The elastin gene is disrupted by a translocation associated with supravalvular aortic stenosis. *Cell* 73: 159-168, 1993.
- Dallapiccola, B.; Mingarelli, R.; Novelli, G. : The link between cytogenetics and mendelism. *Biomed. Pharmacother.* 49: 83-93, 1995.
- Davis, A.; Cowell, J. K. : Mutations in the PAX6 gene in patients with hereditary aniridia. *Hum. Mol. Genet.* 2: 2093-2098, 1993.
- Daw, S. C.; Taylor, C.; Kraman, M.; Call, K.; Mao, J.; Schuffenhauer, S.; Meitinger, T.; Lipson, T.; Goodship, J.; Scambler, P. : A common region of 10p deleted in DiGeorge and velocardiofacial syndromes. *Nat. Genet.* 13: 458-460, 1996.
- de la Chapelle, A.; Herva, R.; Koivisto, M.; Aula, P. : A deletion in chromosome 22 can cause DiGeorge syndrome. *Hum. Genet.* 57: 253-256, 1981.
- Demczuk, S.; Levy, A.; Aubry, M.; Croquette, M.-F.; Philip, N.; Prieur, M.; Sauer, U.; Bouvagnet, P.; Rouleau, G. A.; Thomas, G.; Aurias, A. : Excess of deletions of maternal origin in the DiGeorge/velo-cardio-facial syndromes: a study of 22 new patients and review of the literature. *Hum. Genet.* 96: 9-13, 1995a.
- Demczuk, S.; Aledo, R.; Zucman, J.; Delattre, O.; Desmaze, C.; Dauphinot, L.; Jalbert, P.; Rouleau, G. A.; Thomas, G.; Aurias, A. : Cloning of a balanced translocation breakpoint in the DiGeorge syndrome critical region and isolation of a novel potential adhesion receptor gene in its vicinity. *Hum. Molec. Genet.* 4: 551-558, 1995b.
- Der Kaloustian, V. M.; Afifi, A. K.; Sinno, A. A.; Mire, J. : The Rubinstein-Taybi syndrome: clinical and muscle electron microscopic study. *Am. J. Dis. Child.* 124: 897-902, 1972.
- Dhellemmes, C.; Girard, S.; Dulac, O.; Robain, O.; Choiset, A.; Tapia, S. : Agyria--pachygyria and Miller-Dieker syndrome: clinical, genetic and chromosome studies. *Hum. Genet.* 79: 163-167, 1988.
- DiGeorge, A. M. : Congenital absence of the thymus and its immunologic consequences: concurrence with congenital hypothyroidism. In: Good, R. A.; Bergsma, D. : *Birth Defects Orig. Art Ser.* New York: National Foundation-March of Dimes (pub.) 4 1968. Pp. 116-121.

- Dittrich, B.; Robinson, W. P.; Knoblauch, H.; Buiting, K.; Schmidt, K.; Gillessen-Kaesbach, G.; Horsthemke, B. : Molecular diagnosis of the Prader-Willi and Angelman syndromes by detection of parent-of-origin specific DNA methylation in 15q11-13. *Hum. Genet.* 90: 313-315, 1992.
- Dobyns, W. B.; Stratton, R. F.; Parke, J. T.; Greenberg, F.; Nussbaum, R. L.; Ledbetter, D. H. : The Miller-Dieker syndrome: lissencephaly and monosomy 17p. *J. Pediat.* 102: 552-558, 1983.
- Dobyns, W. B.; Curry, C. J. R.; Hoyme, H. E.; Turlington, L.; Ledbetter, D. H. : Clinical and molecular diagnosis of Miller-Dieker syndrome. *Am. J. Hum. Genet.* 48: 584-594, 1991.
- Dobyns, W. B.; Reiner, O.; Carrozzo, R.; Ledbetter, D. H. : Lissencephaly: a human brain malformation associated with deletion of the LIS1 gene located at chromosome 17p13. *J.A.M.A.* 270: 2838-2842, 1993.
- Donnai, D. : Dysmorphic disorders - An overview. *J. Inher. Metab. Dis.* 17: 442-447, 1994.
- Drechsler, M.; Meijers-Heijboer, E. J.; Schneider, S.; et al. : Molecular analysis of aniridia patients for deletions involving the Wilm's tumor gene. *Hum. Genet.* 94: 331-338, 1994.
- Driscoll, D. A.; Budarf, M. L.; Emanuel, B. S. : A genetic etiology for DiGeorge syndrome: consistent deletions and microdeletions of 22q11. *Am. J. Hum. Genet.* 50: 924-933, 1992a.
- Driscoll, D. A.; Salvin, J.; Sellinger, B.; Budarf, M. L.; McDonald-McGinn, D. M.; Zackai, E. H.; Emanuel, B. S. : Prevalence of 22q11 microdeletions in DiGeorge and velocardiofacial syndromes: implications for genetic counselling and prenatal diagnosis. *J. Med. Genet.* 30: 813-817, 1993.
- Driscoll, D. J.; Waters, M. F.; Williams, C. A.; Zori, R. T.; Glenn, C. C.; Avidano, K. M.; Nicholls, R. D. : A DNA methylation imprint, determined by the sex of the parent, distinguishes the Angelman and Prader-Willi syndromes. *Genomics* 13: 917-924, 1992b.
- Dunham, I.; Collins, J.; Wadey, R.; Scambler, P. : Possible role for COMT in psychosis associated with velocardio-facial syndrome. (Letter) *Lancet* 340: 1361-1362, 1992.
- Dutrillaux B.; Lejeune, J. : A new technic of analysis of the human karyotype. *C R Acad Sci Hebd Seances Acad Sci D.* 272: 2638-2640, 1971.
- Emberger, J. M.; Rodiere, M.; Astruc, J.; Brunel, D. : Syndrome de Prader-Willi et translocation 15-15. *Ann. Génét.* 20: 297-300, 1977.
- Engelen, J. J.; Albrechts, J. C.; Loots, W. J.; Hollanders-Crombach, B. H.; Hamers, A. J.; Geraedts, J. P. : Application of micro-FISH to delineate deletions. *Cytogenet. Cell. Genet.* 75: 167-171, 1996.
- Engelkamp, D.; van Heyningen, V. : Transcription factors in disease. *Curr. Opin. Genet. Dev.* 6: 334-342, 1996.
- Evans, P. R. : Hypogenital dystrophy with diabetic tendency. *Guy's Hosp. Rep.* 113: 207-222, 1964.
- Ewart, A. K.; Morris, C. A.; Atkinson, D.; Jin, W.; Sternes, K.; Spallone, P.; Stock, A. D.; Leppert, M.; Keating, M. T. : Hemizyosity at the elastin locus in a developmental disorder, Williams syndrome. *Nature Genet.* 5: 11-16, 1993.
- Fantes, J. A.; Bickmore, W. A.; Fletcher, J. M.; et al. : Submicroscopic deletions at the WAGR locus, revealed by nonradioactive in situ hybridization. *Am. J. Hum. Genet.* 51: 1286-1294, 1992.
- Fennell, S. J.; Benson, J. W. T.; Kindley, A. D.; Schwarz, M. J.; Czepulkowski, B. : Partial deletion 8q without Langer-Giedion syndrome: a recognisable syndrome. *J. Med. Genet.* 26: 167-171, 1989.
- Fernandez, F.; Berry, C.; Mutton, D. : Prader-Willi syndrome in siblings, due to unbalanced translocation between chromosomes 15 and 22. *Arch. Dis. Child.* 62: 841-843, 1987.
- Friedman, A. L. : Wilms' tumor detection in patients with sporadic aniridia. *Am. J. Dis. Child.* 140: 173-174, 1986.
- Fukushima, Y.; Ohashi, H.; Wakui, K.; Nishida, T.; Nakamura, Y.; Hoshino, K.; Ogawa, K.; Oh-ishi, T. : DiGeorge syndrome with del(4)(q21.3q25): possibility of the fourth chromosome region responsible for DiGeorge syndrome. (Abstract) *Am. J. Hum. Genet.* 51 (suppl.): A80, 1992.
- Gabilan, J. C. : Syndrome de Prader, Labhardt et Willi. *J. Pediat. (Paris)* 1: 179, 1962.
- Gabilan, J. C.; Royer, P. : Le syndrome de Prader, Labhardt et Willi (étude de onze observations). *Arch. Franc. Pediat.* 25: 121-149, 1968.
- Gardner, E. J.; Snustad, D. P. : *Genética*. 7ª edição. Guanabara Koogan, Rio de Janeiro, 1986.
- Gillies, D. R. N.; Roussounis, S. H. : Rubinstein-Taybi syndrome: further evidence of a genetic aetiology. *Dev. Med. Child Neurol.* 27: 751-755, 1985.
- Giroux, J.; Miller, J. R. : Dermatoglyphics of the broad thumb and great toe syndrome. *Am. J. Dis. Child.* 113: 207-209, 1967.
- Glenn, C. C.; Nicholls, R. D.; Robinson, W. P.; Saitoh, S.; Niikawa, N.; Schinzel, A.; Horsthemke, B.; Driscoll, D. J. : Modification of the DNA methylation imprint in unique Angelman and Prader-Willi patients. *Hum. Molec. Genet.* 2: 1377-1382, 1993.
- Gong, W.; Emanuel, B. S.; Galili, N.; Kim, D. H.; Roe, B.; Driscoll, D. A.; Budarf, M. L. : Structural and mutational analysis of a conserved gene (DGSI) from the minimal DiGeorge syndrome critical region. *Hum. Mol. Genet.* 6: 267-276, 1997.
- Gorlin, R. J.; Cervenka, J.; Bloom, B. A.; Langer, L. O., Jr. : No chromosome deletion found on prometaphase banding in two cases of Langer-Giedion syndrome. (Letter) *Am. J. Med. Genet.* 13: 345-347, 1982.

- Gottlieb, S.; Emanuel, B. S.; Driscoll, D. A.; Sellinger, B.; Wang, Z.; Roe, B.; Budarf, M. L.: The DiGeorge Syndrome minimal critical region contains a goosecoid-like (GSCL) homeobox gene that is expressed early in human development. *Am. J. Hum. Genet.* 60: 1194-1201, 1997.
- Greenberg, F.; Crowder, W. E.; Paschall, V.; Colon-Linares, J.; Lubianski, B.; Ledbetter, D. H.: Familial DiGeorge syndrome and associated partial monosomy of chromosome 22. *Hum. Genet.* 65: 317-319, 1984.
- Greenberg, F.; Elder, F. F. B.; Haffner, P.; Northrup, H.; Ledbetter, D. H.: Cytogenetic findings in a prospective series of patients with DiGeorge anomaly. *Am. J. Hum. Genet.* 43: 605-611, 1988.
- Guanti, G.: A new case of rearrangement of chromosome 15 associated with Prader-Willi syndrome. *Clin. Genet.* 17: 423-427, 1980.
- Halford, S.; Wadey, R.; Roberts, C.; Daw, S. C. M.; Whiting, J. A.; O'Donnell, H.; Dunham, I.; Bentley, D.; Lindsay, E.; Baldini, A.; Francis, F.; Lehrach, H.; Williamson, R.; Wilson, D. I.; Goodship, J. A.; Cross, I.; Burn, J.; Scambler, P. J.: Isolation of a putative transcriptional regulator from the region of 22q11 deleted in DiGeorge syndrome, Shprintzen syndrome and familial congenital heart disease. *Hum. Molec. Genet.* 12: 2099-2107, 1993a.
- Halford, S.; Wilson, D. I.; Daw, S. C. M.; Roberts, C.; Wadey, R.; Kamath, S.; Wickremasinghe, A.; Burn, J.; Goodship, J.; Mattei, M.-G.; Moorman, A. F. M.; Scambler, P. J.: Isolation of a gene expressed during early embryogenesis from the region of 22q11 commonly deleted in DiGeorge syndrome.. *Hum. Molec. Genet.* 2: 1577-1582, 1993b.
- Hall, B. D.; Smith, D. W.: Prader-Willi syndrome: a resume of 32 cases including an instance of affected first cousins, one of whom is of normal stature and intelligence. *J. Pediat.* 81: 286-293, 1972.
- Hanahan, D. J. A.: Platelet activating factor: a biologically active phosphoglyceride. *Annu. Rev. Biochem.* 55: 483-509, 1986.
- Hattori, M.; Adachi, H.; Tsujimoto, M.; Arai, H.; Inoue, K.: Miller-Dieker lissencephaly gene encodes a subunit of brain platelet-activating factor. *Nature* 370: 216-218, 1994.
- Hennekam, R. C. M.; Tilanus, M.; Hamel, B. C. J.; Voshart-van Heeren, H.; Mariman, E. C. M.; van Beersum, S. E. C.; van den Boogaard, M.-J. H.; Breuning, M. H.: Deletion at chromosome 16p13.3 as a cause of Rubinstein-Taybi syndrome: clinical aspects. *Am. J. Hum. Genet.* 52: 255-262, 1993.
- Hersh, J. H.; Bloom, A. S.; Zimmerman, A. W.; Dinno, N. D.; Greenstein, R. M.; Weisskopf, B.; Reese, A. H.: Behavioral correlates in the happy puppet syndrome: a characteristic profile?. *Dev. Med. Child Neurol.* 23: 792-800, 1981.
- Holmes, S. E.; Riaz, M. A.; Gong, W.; McDermid, H. E.; Sellinger, B. T.; Hua, A.; Chen, F.; Wang, Z.; Zhang, G.; Roe, B.; Gonzalez, I.; McDonald-McGinn, D. M.; Zackai, E.; Emanuel, B. S.; Budarf, M. L.: Disruption of the clathrin heavy chain-like gene (CLTCL) associated with features of DGS/VCFS: a balanced (21;22)(p12;q11) translocation. *Hum. Mol. Genet.* 6: 357-367, 1997.
- Hou, J.; Parrish, J.; Ludecke, H.-J.; Sapru, M.; Wang, Y.; Chen, W.; Hill, A.; Siegel-Bartelt, J.; Northrup, H.; Elder, F. F. B.; Chinault, C.; Horsthemke, B.; Wagner, M. J.; Wells, D. E.: A 4-megabase YAC contig that spans the Langer-Giedion syndrome region on human chromosome 8q24.1: use in refining the location of the trichorhinophalangeal syndrome and multiple exostoses genes (TRPS1 and EXT1). *Genomics* 29: 87-97, 1995.
- Hulten, M.; Armstrong, S.; Challinor, P.; Gould, C.; Hardy, G.; Leedham, P.; Lee, T.; McKeown, C.: Genomic imprinting in an Angelman and Prader-Willi translocation family. (Letter) *Lancet* 338: 638-639, 1991.
- Imaizumi, K.; Kuroki, Y.: Rubinstein-Taybi syndrome with de novo reciprocal translocation t(2;16)(p13.3;p13.3). *Am. J. Med. Genet.* 38: 636-639, 1991.
- Ishikawa, T.; Kibe, T.; Wada, Y.: Deletion of small nuclear ribonucleoprotein polypeptide N (SNRPN) in Prader-Willi syndrome detected by fluorescence in situ hybridization: two sibs with the typical phenotype without a cytogenetic deletion in chromosome 15q. *Am. J. Med. Genet.* 62: 350-352, 1996.
- Ishikawa, T.; Kibe, T.; Wada, Y.: Deletion of small nuclear ribonucleoprotein polypeptide N (SNRPN) in Prader-Willi syndrome detected by fluorescence in situ hybridization: two sibs with the typical phenotype without a cytogenetic deletion in chromosome 15q. *Am. J. Med. Genet.* 62: 350-352, 1996.
- Jancar, J.: Prader-Willi syndrome (hypotonia, obesity, hypogonadism, growth and mental retardation). *J. Ment. Defic. Res.* 15: 20-29, 1971.
- Jordan, T.; Hanson, I.; Zaletayev, D.; et al.: The human PAX6 gene is mutated in two patients with aniridia. *Nat. Genet.* 1: 328-332, 1992.
- Jorde, L. B.; Carey, J. C.; White, R. L.: *Genética Médica*. Guanabara Koogan, Rio de Janeiro, 1995.
- Juul, J.; Dupont, A.: Prader-Willi syndrome. *J. Ment. Defic. Res.* 11: 12-22, 1967.
- Kajii, T.; Hagiwara, K.; Tsukahara, M.; Nakajima, H.; Fukuda, Y.: Monozygotic twins discordant for Rubinstein-Taybi syndrome. *J. Med. Genet.* 18: 312-314, 1981.
- Karayorgou, M.; Morris, M. A.; Morrow, B.; Shprintzen, R. J.; Goldberg, R.; Borrow, J.; Gos, A.; Nestadt, G.; Wolyniec, P. S.; Lasseter, V. K.; Eisen, H.; Childs, B.; Kazazian, H. H.; Kucherlapati, R.; Antonarakis, S. E.; Pulver, A. E.; Housman, D. E.: Schizophrenia susceptibility associated with interstitial deletions of chromosome 22q11. *Proc. Nat. Acad. Sci.* 92: 7612-7616, 1995.
- Kato, Z.; Kato, T.; Orii, T.: Interstitial deletion of the short arm of chromosome 10: report of a case and review of the literature. *Jpn. J. Hum. Genet.* 41: 333-338, 1996.

- Kelley, R. I.; Zackai, E. H.; Emanuel, B. S.; Kistenmacher, M.; Greenberg, F.; Punnett, H. H. : The association of the DiGeorge anomalad with partial monosomy of chromosome 22. *J. Pediat.* 101: 197-200, 1982.
- Kelly, D.; Goldberg, R.; Wilson, D.; Lindsay, E.; Carey, A.; Goodship, J.; Burn, J.; Cross, I.; Shprintzen, R. J.; Scambler, P. J. : Confirmation that the velo-cardio-facial syndrome is associated with haplo-insufficiency of genes at chromosome 22q11. *Am. J. Med. Genet.* 45: 308-312, 1993.
- Kennerknecht, I. : Differentiated recurrence risk estimations in the Prader-Willi syndrome. *Clin. Genet.* 41: 303-308, 1992.
- Kimura, A. : Surgical management of velopharyngeal insufficiency in 31 patients without cleft palate. *Practica Otologica* 70: 597, 1977.
- Kinouchi, A.; Mori, K.; Ando, M.; Takao, A. : Facial appearance of patients with conotruncal abnormalities.. *Pediat. Jpn.* 17: 84, 1976.
- Kirkilionis, A. J.; Gregory, C. A.; Hamerton, J. L. : Long-range restriction mapping and linkage analysis of the Prader-Willi chromosome region (PWCR). *Genomics* 9: 524-535, 1991.
- Kishino, T.; Lalande, M.; Wagstaff, J. : UBE3A/E6-AP mutations cause Angelman syndrome. *Nature Genet.* 15: 70-73, 1997.
- Klinger, K.; Landes, G.; Shook, D.; Harvey, R.; Lopez, L.; Locke, P.; Lerner, T.; Osathanondh, R.; Leverone, B.; Houseal, T.; Pavelka, K.; Dackowski, W. : Rapid detection of chromosome aneuploidies in uncultured amniocytes by using fluorescence in situ hybridization (FISH). *Am. J. Hum. Gen.* 51: 55-65, 1992.
- Korf, B. R. : *Human Genetics: A problem based approach.* Blackwell Science, 1996.
- Kucerova, M.; Strakova, M.; Polivkova, Z. : The Prader-Willi syndrome with a 15-3 translocation. *J. Med. Genet.* 16: 234-235, 1979.
- Kuroki, Y.; Matsui, I.; Yamamoto, Y.; Ieshima, A. : The 'happy puppet' syndrome in two siblings. *Hum. Genet.* 56: 227-229, 1980.
- Kuwano, A.; Ledbetter, S. A.; Dobyns, W. B.; Emanuel, B. S.; Ledbetter, D. H. : Detection of deletions and cryptic translocations in Miller-Dieker syndrome by in situ hybridization. *Am. J. Hum. Genet.* 49: 707-714, 1991.
- Kuwano, A.; Mutirangura, A.; Dittrich, B.; Buiting, K.; Horsthemke, B.; Saitoh, S.; Niikawa, N.; Ledbetter, S. A.; Greenberg, F.; Chinault, A. C.; Ledbetter, D. H. : Molecular dissection of the Prader-Willi/Angelman syndrome region (15q11-13) by YAC cloning and FISH analysis. *Hum. Molec. Genet.* 1: 417-425, 1992.
- Lacombe, D.; Saura, R.; Taine, L.; Battin, J. : Confirmation of assignment of a locus for Rubinstein-Taybi syndrome gene to 16p13.3. *Am. J. Med. Genet.* 44: 126-128, 1992.
- Lacombe, D. : Rubinstein-Taybi syndrome. *Arch. Pediatr.* 1: 681-683, 1994.
- Lai, M. M. R.; Scriven, P. N.; Ball, C.; Berry, A. C. : Simultaneous partial monosomy 10p and trisomy 5q in a case of hypoparathyroidism. *J. Med. Genet.* 29: 586-588, 1992.
- Lammer, E. J.; Chen, D. T.; Hoar, R. M.; Agnish, N. D.; Benke, P. J.; Braun, J. T.; Curry, C. J.; Fernhorff, P. M.; Grix, A. W. Jr.; Lott, I. T.; Richard, J. M.; Sun, S. C. : Retinoic acid embryopathy. *New Eng. J. Med.* 313: 837-841, 1985.
- Lammer, E. J.; Opitz, J. M. : The DiGeorge anomaly as a developmental field defect. *Am. J. Med. Genet. Suppl.* 2: 113-127, 1986.
- Langer, L. O., Jr.; Krassikoff, N.; Laxova, R.; Scheer-Williams, M.; Lutter, L. D.; Gorlin, R. J.; Jennings, C. G.; Day, D. W. : The tricho-rhino-phalangeal syndrome with exostoses (or Langer-Giedion syndrome): four additional patients without mental retardation and review of the literature. *Am. J. Med. Genet.* 19: 81-111, 1984.
- Larson, R. S.; Butler, M. G. : Use of Fluorescence in Situ Hybridization (FISH) in the diagnosis of Digeorge sequence and related diseases. *Diagn. Mol. Pathology* 4: 274-278, 1995.
- Laurance, B. M. : Hypotonia, obesity, hypogonadism and mental retardation in childhood. *Arch. Dis. Child.* 36: 690, 1961.
- Ledbetter, D. H. : Personal Communication. Houston, Texas, 5/27/1983.
- Ledbetter, D. H.; Riccardi, V. M.; Youngbloom, S. A.; Strobel, R. J.; Keenan, B. S.; Crawford, J. D.; Louro, J. M. : Deletion (15q) as a cause of the Prader-Willi syndrome (PWS). (Abstract) *Am. J. Hum. Genet.* 32: 77A only, 1980.
- Ledbetter, D. H.; Riccardi, V. M.; Airhart, S. D.; Strobel, R. J.; Keenan, B. S.; Crawford, J. D. : Deletions of chromosome 15 as a cause of the Prader-Willi syndrome. *New Eng. J. Med.* 304: 325-329, 1981.
- Lejeune, J.; Gautier, M.; Turpin, R. : Etude de chromosomes somatiques de neuf enfants mongoliens. *CR Acad. Sci. Paris* 248: 1721-1722, 1959.
- Lipson, A.; Fagan, K.; Colley, A.; Colley, P.; Sholler, G.; Issacs, D.; Oates, R. K. : Velo-Cardio-Facial and Partial DiGeorge Phenotype in a child With Interstitial Deletion at 10p13 - Implications for Cytogenetics and Molecular Biology. *Am. J. Med. Genet.* 65: 304-308, 1996.
- Lopez-Rangel, E.; Maurice, M.; McGillivray, B.; Friedman, J. M. : Williams syndrome in adults. *Am. J. Med. Genet.* 44: 720-729, 1992.
- Lubinsky, M.; Zellweger, H.; Greenswag, L.; Larson, G.; Hansmann, I.; Ledbetter, D. : Familial Prader-Willi syndrome with apparently normal chromosomes. *Am. J. Med. Genet.* 28: 37-43, 1987.



- Ludecke, H.-J.; Johnson, C.; Wagner, M. J.; Wells, D. E.; Turleau, C.; Tommerup, N.; Latos-Bielenska, A.; Sandig, K.-R.; Meinecke, P.; Zabel, B.; Horsthemke, B. : Molecular definition of the shortest region of deletion overlap in the Langer-Giedion syndrome. *Am. J. Hum. Genet.* 49: 1197-1206, 1991.
- Ludecke, H.-J.; Senger, G.; Claussen, U.; Horsthemke, B. : Cloning defined regions of the human genome by microdissection of banded chromosomes and enzymatic amplification. *Nature* 338: 348-350, 1989.
- Ludecke, H.-J.; Wagner, M. J.; Nardmann, J.; La Pillo, B.; Parrish, J. E.; Willems, P. J.; Haan, E. A.; Frydman, M.; Hamers, G. J. H.; Wells, D. E.; Horsthemke, B. : Molecular dissection of a contiguous gene syndrome: localization of the genes involved in the Langer-Giedion syndrome. *Hum. Molec. Genet.* 4: 31-36, 1995.
- Lynch, D. R.; McDonald-McGinn, D. M.; Zackai, E. H.; Emanuel, B. S.; Driscoll, D. A.; Whitaker, L. A.; Fischbeck, K. H. : Cerebellar atrophy in a patient with velocardiofacial syndrome. *J. Med. Genet.* 32: 561-563, 1995.
- Magenis, R. E.; Toth-Fejel, S.; Allen, L. J.; Black, M.; Brown, M. G.; Budden, S.; Cohen, R.; Friedman, J. M.; Kalousek, D.; Zonana, J.; Lacy, D.; LaFranchi, S.; Lahr, M.; Macfarlane, J.; Williams, C. P. S. : Comparison of the 15q deletions in Prader-Willi and Angelman syndromes: specific regions, extent of deletions, parental origin, and clinical consequences. *Am. J. Med. Genet.* 35: 333-349, 1990.
- Malcolm, S.; Clayton-Smith, J.; Nichols, M.; Robb, S.; Webb, T.; Armour, J. A. L.; Jeffreys, A. J.; Pembrey, M. E. : Uniparental paternal disomy in Angelman's syndrome. *Lancet* 337: 694-697, 1991.
- Martha, A.; Ferrell, R. E. ; Mintz-Hittner, H.; et. Al. : Paired box mutatiois in familial and sporadic aniridia predicts truncated aniridia proteins. *Am. J. Hum. Genet.* 54: 801-811, 1994.
- Mascari, M. J.; Gottlieb, W.; Rogan, P. K.; Butler, M. G.; Waller, D. A.; Armour, J. A. L.; Jeffreys, A. J.; Ladda, R. L.; Nicholls, R. D. : The frequency of uniparental disomy in Prader-Willi syndrome: implications for molecular diagnosis. *New Eng. J. Med.* 326: 1599-1607, 1992.
- Masuno, M.; Imaizumi, K.; Nakamura, M.; Matsui, K.; Goto, A.; Kuroki, Y. : Miller-Dieker syndrome due to maternal cryptic translocation t(10;17)(q26.3;p13.3). *Am. J. Med. Genet.* 59: 441-443, 1995.
- Matsuura, T.; Sutcliffe, J. S.; Fang, P.; Galjaard, R.-J.; Jiang, Y.; Benton, C. S.; Rommens, J. M.; Beaudet, A. L. : De novo truncating mutations in E6-AP ubiquitin-protein ligase gene (UBE3A) in Angelman syndrome. *Nature Genet.* 15: 74-77, 1997.
- Mc Pherson, M. J.; Querke, P.; Taylor, G. R. : PCR - A Practical Approach - vol 1. Oxford University Press, Oxford, 1991.
- McGaughran, J. M.; Gaunt, L.; Dore, J.; Petrij, F.; Dauwerse, H. G.; Donnai, D. : Rubinstein-Taybi syndrome with deletions of FISH probe RT1 at 16p13.3: two UK patients. *J. Med. Genet.* 33: 82-83, 1996.
- McKusick, V. : OMIM - On line mendelian inheritance in mam. <http://www3.ncbi.nlm.nih.gov/Omim/searchomim.html>. 1997.
- Meinecke, P.; Beemer, F. A.; Schinzel, A.; Kushnick, T. : The velo-cardio-facial (Shprintzen) syndrome: clinical variability in eight patients. *Europ. J. Pediat.* 145: 539-544, 1986.
- Mitchell, M.; Schinzel, A.; Langlois, S.; Gillissen-Kaesbach, G.; Schuffenhauer, S.; Michaelis, R.; Abeliovich, D.; Lerer, I.; Christian, S.; Guitart, M.; McFadden, D. E.; Robinson, W. P. : Comparison of phenotype in uniparental disomy and deletion Prader-Willi syndrome. *Am. J. Med. Genet* 65: 133-136, 1996.
- Monaco, A. P. : Human genetics: dissecting Williams syndrome. *Curr. Biol.* 6: 1396-1398, 1996.
- Monaco, G.; Pignata, C.; Rossi, E.; Mascellaro, O.; Cocozza, S.; Ciccimarra, F. : DiGeorge anomaly associated with 10p deletion. *Am. J. Med. Genet.* 39: 215-216, 1991.
- Moncla, A.; Piras, L.; Arbex, O. F.; Muscatelli, F.; Mattei, M.-G.; Mattei, J.-F.; Fontes, M. : Physical mapping of microdeletions of the chromosome 17 short arm associated with Smith-Magenis syndrome. *Hum. Genet.* 90: 657-660, 1993.
- Moron, A. F.; Cha, S. C.; Isfer, E. V. : Abordagem mutiprofissional em Medicina Fetal. Escritório Editorial, São Paulo, 1996.
- Morris, C. A.; Thomas, I. T.; Greenberg, F. : Williams syndrome: autosomal dominant inheritance. *Am. J. Med. Genet.* 47: 478-481, 1993.
- Morrow, B.; Goldberg, R.; Carlson, C.; Gupta, R. D.; Sirotkin, H.; Collins, J.; Dunham, I.; O'Donnell, H.; Scambler, P.; Shprintzen, R.; Kucherlapati, R. : Molecular definition of the 22q11 deletions in Velo-cardio-Facial Syndrome. *Am. J. Hum. Genet.* 56: 1391-1403, 1995.
- Mutirangura, A.; Greenberg, F.; Butler, M. G.; Malcolm, S.; Nicholls, R. D.; Chakravarti, A.; Ledbetter, D. H. : Multiplex PCR of three dinucleotide repeats in the Prader-Willi/Angelman critical region (15q11-q13): molecular diagnosis and mechanism of uniparental disomy. *Hum. Molec. Genet.* 2: 143-151, 1993.
- Naselli, A.; Vignolo, M.; Di Battista, E.; Aicardi, G. : The Prader-Labhart-Willi syndrome: third recorded case occurring in monozygotic twins. *Acta Med. Auxol.* 13: 5-24, 1981.
- Nicholls, R. D.; Knoll, J. H. M.; Butler, M. G.; Karam, S.; Lalande, M. : Genetic imprinting suggested by maternal heterodisomy in non-deletion Prader-Willi syndrome. *Nature* 342: 281-285, 1989.
- Okuno, T.; Inoue, A.; Asakura, T.; Nakao, S. : Langer-Giedion syndrome with del8(q24.13-q24.22). *Clin. Genet.* 32: 40-45, 1987.
- Organização Pan-Americana da Saúde. : Las condiciones de salud en las Américas, 1977-1980. Washington, D. C. Publicação Científica nº 427, 1982.

- Orstavik, K. H.; Tangsrud, S. E.; Kiil, R.; Hansteen, I.-L.; Steen-Johnsen, J.; Cassidy, S. B.; Martony, A.; Anvret, M.; Tommerup, N.; Brondum-Nielsen, K. : Prader-Willi syndrome in a brother and sister without cytogenetic or detectable molecular genetic abnormality at chromosome 15q11q13. *Am. J. Med. Genet.* 44: 534-538, 1992.
- Ozcelik, T.; Leff, S.; Robinson, W.; Donlon, T.; Lalande, M.; Sanjines, E.; Schinzel, A.; Francke, U. : Small nuclear ribonucleoprotein polypeptide N (SNRPN), an expressed gene in the Prader-Willi syndrome critical region. *Nature Genet.* 2: 265-269, 1992.
- Padfield, C. J.; Partington, M. W.; Simpson, N. E. : The Rubinstein-Taybi syndrome. *Arch. Dis. Child.* 43: 94-101, 1968.
- Pagnan, N. A. B. : Estudo genético-clínico de síndromes com campodactilia. Tese de Doutorado, Instituto de Biociências, USP, São Paulo, 1988.
- Panet, A.; Khorana, H. G. : Studies on polynucleotides. The linkage of deoxyribopolynucleotide templates to cellulose and its use in their replication. *J Biol Chem.* 249: 5213-5221, 1974.
- Pashayan, H. M.; Singer, W.; Bove, C.; Eisenberg, E.; Seto, B. : The Angelman syndrome in two brothers. *Am. J. Med. Genet.* 13: 295-298, 1982.
- Pelletier, J.; Bruening, W.; Li, F. P.; Haber, D. A.; Glaser, T.; Housman, D. E. : WT1 mutations contribute to abnormal genital system development and hereditary Wilms' tumour. *Nature* 353: 431-434, 1991.
- Penchaszadeh, V. B. : Establecimiento de servicios integrales de genética en los países en desarrollo: América Latina. *Bol. Of sanit. Panam.* 115: 38-40, 1993.
- Petrij, F.; Giles, R. H.; Dauwerse, H. G.; Saris, J. J.; Hennekam, R. C. M.; Masuno, M.; Tommerup, N.; van Ommen, G.-J. B.; Goodman, R. H.; Peters, D. J. M.; Breuning, M. H. : Rubinstein-Taybi syndrome caused by mutations in the transcriptional co-activator CBP. *Nature* 376: 348-351, 1995.
- Pfeiffer, R. A. : Langer-Giedion syndrome and additional congenital malformations with interstitial deletion of the long arm of chromosome 8: 46,XY,del8(q13-22). *Clin. Genet.* 18: 142-146, 1980.
- Pizzuti, A.; Novelli, G.; Mari, A.; Ratti, A.; Colosimo, A.; Amati, F.; Penso, D.; Sangiuolo, F.; Calabrese, G.; Palka, G.; Silani, V.; Gennarelli, M.; Mingarelli, R.; Scarlato, G.; Scambler, P.; Dallapiccola, B. : Human homologue sequences to the *Drosophila* dishevelled segment-polarity gene are deleted in the DiGeorge syndrome. *Am. J. Hum. Genet.* 58: 722-729, 1996.
- Prader, A.; Labhart, A.; Willi, H. : Ein Syndrom von Adipositas, Kleinwuchs, Kryptorchismus und Oligophrenie nach Myatonieartigem Zustand im Neugeborenenalter. *Schweiz. Med. Wschr.* 86: 1260-1261, 1956.
- Prader, A.; Willi, H. : Das syndrom von imbezillität, adipositas, muskelhypoyonie, hypogonitalismus, hypogonadismus und diabetes mellitus mit myatonie anamnese. *Second International Congress of mental Deficiency, Vienna. Part. I:* 353, 1963.
- Pritchard-Jones, K.; Renshaw, J. King-Underwood, L. : The Wilms tumor (WT1) gene is mutated in a secondary leukaemia in a WAGR patient. *Hum. Mol. Genet.* 3: 1633-1637, 1994.
- Rao, V. V. N.; Roop, H.; Carpenter, N. J. : Diagnosis of Microdeletion Syndromes: High-resolution chromosome analysis versus fluorescence in situ hybridization. *Am. J. Med Sci.* 309: 208-212, 1995.
- Reed, M. L.; Leff, S. E. : Maternal imprinting of human SNRPN, a gene deleted in Prader-Willi syndrome. *Nature Genet.* 6: 163-167, 1994.
- Reiner, O.; Carrozzo, R.; Shen, Y.; Wehnert, M.; Faustinella, F.; Dobyns, W. B.; Caskey, C. T.; Ledbetter, D. H. : Isolation of a Miller-Dieker lissencephaly gene containing G protein beta-subunit-like repeats. *Nature* 364: 717-721, 1993.
- Rinchik, E. M.; Bultman, S. J.; Horsthemke, B.; Lee, S. T.; Strunk, K. M.; Spritz, R. A.; Avidano, K. M.; Jong, M. T. C.; Nicholls, R. M. : A gene for the mouse pink-eyed dilution locus and for human type II oculocutaneous albinism. *Nature* 361: 72-76, 1993.
- Roberts, C.; Daw, S. C.; Halford, S.; Scambler, P. J. : Cloning and developmental expression analysis of chick Hira (Chira), a candidate gene for DiGeorge Syndrome. *Hum. Mol. Genet.* 6: 237-245, 1997.
- Robinson, W. P.; Bottani, A.; Yagang, X.; Balakrishnan, J.; Binkert, F.; Machler, M.; Prader, A.; Schinzel, A. : Molecular, cytogenetic, and clinical investigations of Prader-Willi syndrome patients. *Am. J. Hum. Genet.* 49: 1219-1234, 1991.
- Robinson, W. P.; Bernasconi, F.; Mutirangura, A.; Ledbetter, D. H.; Langlois, S.; Malcolm, S.; Morris, M. A.; Schinzel, A. A. : Nondisjunction of chromosome 15: origin and recombination. *Am. J. Hum. Genet.* 53: 740-751, 1993.
- Rohn, R. D.; Leffell, M. S.; Leadem, P.; Johnson, D.; Rubio, T.; Emanuel, B. S. : Familial third-fourth pharyngeal pouch syndrome with apparent autosomal dominant transmission. *J. Pediat.* 105: 47-51, 1984.
- Royer, P. : Le diabète sucré dans le syndrome de Willi-Prader. *J. Ann. Diabet. Hôtel-Dieu.* 4: 91-99, 1963.
- Saiki, R. K.; Gelfand, D. H.; Stoffel, S.; Scharf, S. J.; Higuchi, R.; Horn, G. T.; Mullis, K. B.; Erlich, H. A. : primer-Directed enzymatic amplification of DNA with a thermostable DNA Polymerase. *Science*, 239: 487-491, 1988.
- Saitoh, S.; Harada, N.; Jinno, Y.; Hashimoto, K.; Imaizumi, K.; Kuroki, Y.; Fukushima, Y.; Sugimoto, T.; Renedo, M.; Wagstaff, J.; Lalande, M.; Mutirangura, A.; Kuwano, A.; Ledbetter, D. H.; Niikawa, N. : Molecular and clinical study of 61 Angelman syndrome patients. *Am. J. Med. Genet.* 52: 158-163, 1994.

- Scambler, P. J.; Kelly, D.; Lindsay, E.; Williamson, R.; Goldberg, R.; Shprintzen, R.; Wilson, D. I.; Goodship, J. A.; Cross, I. E.; Burn, J. : Velo-cardio-facial syndrome associated with chromosome 22 deletions encompassing the DiGeorge locus. *Lancet* 339: 1138-1139, 1992.
- Schinzel, A. : Microdeletions. A clinical and cytogenetic approach. *Bras. J. Genet.* 19: 63, 1996.
- Schinzel, A. A. G. L.; Smith, D. W.; Miller, J. R. : Monozygotic twinning and structural defects. *J. Pediatr.* 95: 921-930, 1979.
- Schuffenhauer, S.; Seidel, H.; Oechsler, H.; Belohradsky, B.; Bernsau, U.; Murken, J.; Meitinger, T. : DiGeorge Syndrome and Partial Monosomy 10p: case report and review. *Ann. Genet.* 38: 162-167, 1995.
- Selyes, A.; Laszlo, A. : Miller-Dieker syndrome and monosomy 17p13: a new case. *Hum. Genet.* 80: 103-104, 1988.
- Sharief, N.; Craze, J.; Summers, D.; Butler, L.; Wood, C. B. S. : Miller-Dieker syndrome with ring chromosome 17. *Arch. Dis. Child.* 66: 710-712, 1991.
- Shimizu, T.; Takao, A.; Ando, M.; Hirayama, A. : Conotruncal face syndrome: its heterogeneity and association with thymus involution. In: Nora, J. J.; Takao, A. : *Congenital Heart Disease: Causes and Processes*. Mount Kisco, N. Y.: Futura Publishing (pub.) 1984. Pp. 29-41.
- Shprintzen, R. J.; Goldberg, R. B.; Young, D.; Wolford, L. : The velo-cardio-facial syndrome: a clinical and genetic analysis. *Pediatrics* 67: 167-172, 1981.
- Shprintzen, R. J.; Wang, F.; Goldberg, R.; Marion, R. : The expanded velo-cardio-facial syndrome (VCF): additional features of the most common clefting syndrome. (Abstract) *Am. J. Hum. Genet.* 37: A77, 1985.
- Simpson, N. E.; Brissenden, J. E. : The Rubinstein-taybi syndrome: familial and dermatoglyphic data. *Am. J. Hum. Genet.* 25: 225-229, 1973.
- Smith, A. C. M.; McGavran, L.; Robinson, J.; Waldstein, G.; Macfarlane, J.; Zonana, J.; Reiss, J.; Lahr, M.; Allen, L.; Magenis, E. : Interstitial deletion of (17)(p11.2p11.2) in nine patients. *Am. J. Med. Genet.* 24: 393-414, 1986.
- Smith, A.; Noel, M. : A girl with the Prader-Willi syndrome and Robertsonian translocation 45,XX,t(14;15)(p11;q11) which was present in three normal family members. *Hum. Genet.* 55: 271-273, 1980.
- Smith, D. W. : *Síndromes de Malformações Congênitas*. 3ª ed. Manole LTDA. 1989.
- Steele, R. W.; Limas, C.; Thurman, G. B.; Schuelein, M.; Bauer, H.; Bellanti, J. A. : Familial thymic aplasia: attempted reconstitution with fetal thymus in a millipore diffusion chamber. *New Eng. J. Med.* 287: 787-791, 1972.
- Stevens, C. A.; Carey, J. C.; Shigeoka, A. O. : DiGeorge anomaly and velocardiofacial syndrome. *Pediatrics* 85: 526-530, 1990.
- Stratton, R. F.; Dobyns, W. B.; Airhart, S. D.; Ledbetter, D. H. : New chromosomal syndrome: Miller-Dieker syndrome and monosomy 17p13. *Hum. Genet.* 67: 193-200, 1984.
- Stratton, R. F.; Dobyns, W. B.; Greenberg, F.; DeSana, J. B.; Moore, C.; Fidone, G.; Runge, G. H.; Feldman, P.; Sekhon, G. S.; Pauli, R. M.; Ledbetter, D. H. : Report of six additional patients with new chromosome deletion syndrome. *Am. J. Med. Genet.* 24: 421-432, 1986.
- Strong, W. B. : Familial syndrome of right-sided aortic arch, mental deficiency, and facial dysmorphism. *J. Pediatr.* 73: 882-888, 1968.
- Sumner, A. T.; Evans, H.J.; Buckland, R. A. : New technique for distinguishing between human chromosomes. *Nat New Biol.* 232: 31-32, 1971
- Sutcliffe, G. S. : *Personal Communication*. Oxford, England, 1994.
- Takao, A.; Ando, M.; Cho, K.; et al. : Etiologic categorization of common congenital heart diseases. In: Van Praagh, R.; Takao, A. : *Etiology and Morphogenesis of Congenital Heart Disease*. Mount Kisco, N. Y.: Futura Publishing (pub.) 1980. Pp. 261-269.
- Tandan, R.; Taylor, R.; Adesina, A.; Sharma, K.; Fries, T.; Pendlebury, W. : Benign autosomal dominant syndrome of neuronal Charcot-Marie-Tooth disease, ptosis, parkinsonism, and dementia. *Neurology* 40: 773-779, 1990.
- Teshima, I.; Chadwick, D.; Chitayat, D.; Kobayashi, J.; Ray, P.; Shuman, C.; Siegel-Bartelt, J.; Strasberg, P.; Weksberg, R. : FISH Detection of chromosome 15 deletions in Prader-Willi and Angelman Syndromes. *Am. J. Med. Genet.* 62: 216-223, 1996.
- Therman, E.; Susman, M. : *Cromosomas humanos - Estrutura, comportamento y efectos*. 3ª edição. Sociedade Brasileira de Genética, Ribeirão Preto, 1996.
- Thompson, M. W.; Mc Innes, R. R.; Willard, H. F. : *Genética Médica*. 5ª edição. Guanabara Koogan, Rio de Janeiro, 1993.
- Tommerup, N. : Mendelian Cytogenetics. Chromosome rearrangements associated with mendelian disorders. *J. Med. Genet.* 30: 713-727, 1993b.
- Tommerup, N.; van der Hagen, C. B.; Heiberg, A. : Tentative assignment of a locus for Rubinstein-Taybi syndrome to 16p13.3 by a de novo reciprocal translocation, t(7;16)(q34;p13.3). *Am. J. Med. Genet.* 44: 237-241, 1992.

- Tommerup, N.; van der Hagen, C. B.; Heiberg, A. : Tentative assignment of a locus for Rubinstein-Taybi syndrome to 16p13.3 by a de novo reciprocal translocation, t(7;16)(q34;p13.3). (Abstract) *Cytogenet. Cell Genet.* 58: 2002-2003, 1991.
- Tommerup, N. : Personal Communication. Zurich, Switzerland, 1993a.
- Ton, C. C. T.; Huff, V.; Call, K. M.; Cohn, S.; Strong, L. C.; Housman, D. E.; Saunders, G. F. : Smallest region of overlap in Wilms tumor deletions uniquely implicates an 11p13 zinc finger gene as the disease locus. *Genomics* 10: 293-297, 1991.
- Toth-Fejel, S.; Oslon, S.; Gunter, K.; Quan, F.; Wolford, J.; Popovich, B. W.; Magenis, R. E. : The impact of imprinting: Prader-Willi syndrome resulting from chromosome translocation, recombination, and nondisjunction. *Am. J. Hum. Genet.* 58: 1008-1016, 1996.
- Turleau, C.; Chavin-Colin, F.; de Grouchy, J.; Maroteaux, P.; Rivera, H. : Langer-Giedion syndrome with and without del 8q: assignment of critical segment to 8q23. *Hum. Genet.* 62: 183-187, 1982.
- Wevrick, R.; Kerns, J. A.; Francke, U. : Identification of a novel paternally expressed gene in the Prader-Willi syndrome region. *Hum. Molec. Genet.* 3: 1877-1882, 1994.
- Williams, J. C.; Barratt-Boyes, B. G.; Lowe, J. B. : Supravalvular aortic stenosis. *Circulation* 24: 1311-1318, 1961.
- Wilson, D. I.; Cross, I. E.; Goodship, J. A.; Brown, J.; Scambler, P. J.; Bain, H. H.; Taylor, J. F. N.; Walsh, K.; Bahkier, A.; Burn, J.; Wolstenholme, J. : A prospective cytogenetic study of 36 cases of DiGeorge syndrome. *Am. J. Hum. Genet.* 51: 957-963, 1992.
- Wilson, T. A.; Blethen, S. L.; Vallone, A.; Alenick, D. S.; Nolan, P.; Katz, A.; Amorillo, T. P.; Goldmuntz, E.; Emanuel, B. S.; Driscoll, D. A. : DiGeorge anomaly with renal agenesis in infants of mothers with diabetes. *Am. J. Med. Genet.* 47: 1078-1082, 1993.
- Wilson, W. G.; Shah, H.; Wyandt, H. E. : Interstitial deletion of 8q in a patient with multiple exostoses and developmental delay. (Abstract) *Am. J. Hum. Genet.* 33: 96A only, 1981.
- Wulfsberg, E. A.; Klisak, I. J.; Sparkes, R. S. : High resolution chromosome banding in the Rubinstein-Taybi syndrome. *Clin. Genet.* 23: 35-37, 1983.
- Yunis, J. J. : High resolution of human chromosomes. *Science.* 191: 1268-1270, 1976.
- Yunis, J. J. : *Human Chromosome Methodology.* Academic Press, New York, 1965.
- Zaletaev, D. V.; Kuleshov, N. P.; Lur'e, I. V.; Marincheva, G. S. : Langer-Giedion syndrome and chromosome 8 long arm deletion. *Sov. Genet.* 23: 629-633, 1987.
- Zaletajev, D. V.; Marincheva, G. S. : Langer-Giedion syndrome, in a child with complex structural aberration of chromosome 8. *Hum. Genet.* 63: 178-182, 1983.
- Zori, R.; Williams, C.; Mattei, J. F.; Moncla, A. : Parental origin of del(15)(q11-q13) in Angelman and Prader-Willi syndromes. *Am. J. Med. Genet.* 37: 294-295, 1990.
- Zuffardi, O.; Buhler, E. M.; Fraccaro, M. : Chromosome 15 and Prader-Willi syndrome. (Abstract) *Clin. Genet.* 14: 315-316, 1978.