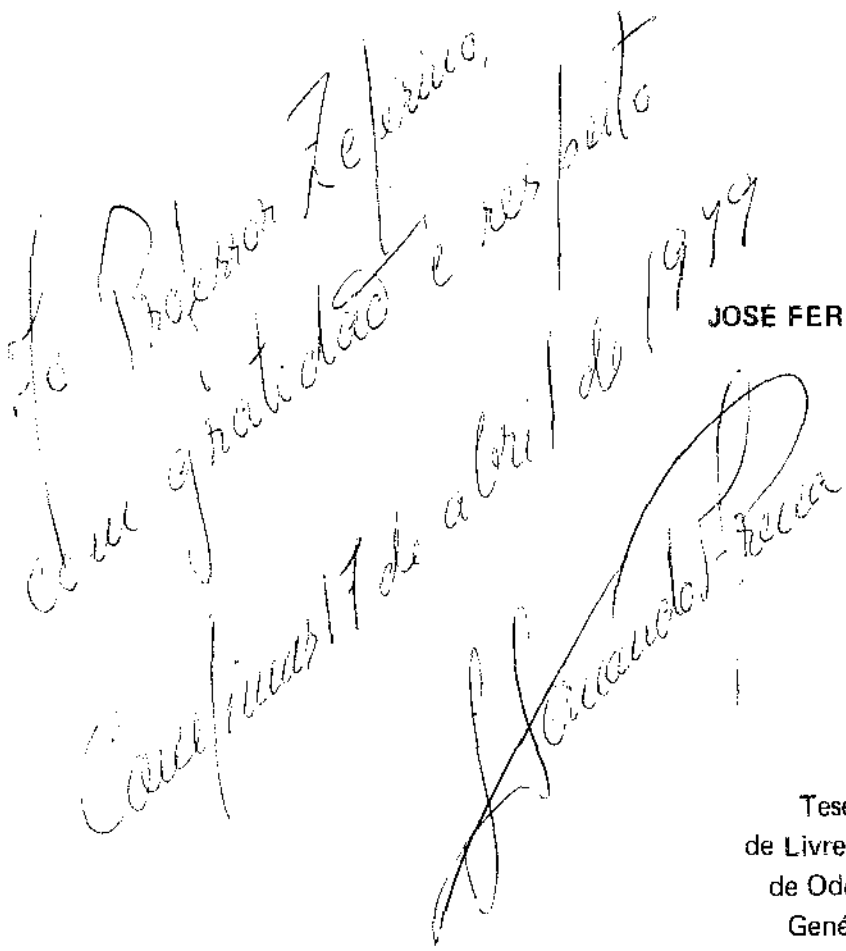
ESTUDO IMUNOLÓGICO E CITOGENÉTICO DE INDIVÍDUOS PORTADORES DA SÍNDROME DE DOWN E DE SEUS FAMILIARES



JOSÉ FERNANDO PEREIRA ARENA

Tese apresentada para Concurso de Livre Docência do Departamento de Odontologia Infantil – Área de Genética Clínica – da Faculdade de Odontologia de Piracicaba da Universidade Estadual de Campinas

PIRACICABA 1979

UNICAMP
BIBLIOTECA CENTRAL

AGRADECIMENTOS ESPECIAIS

À aquela que

como parceira, soube trabalhar
como companheira, soube estar junto
como amiga, soube perdoar
como dona de casa, soube fazer reinar a paz
como mãe, soube dar o exemplo
como esposa, soube continuar

DR. PHILIP J. FIALKOW – pela idéia e orientação do presente trabalho, bem como, pelo apoio confiança que nos depositou.

RACHEL ALLISON NEVILS – pela inestimável ajuda que nos deu durante as fases mais difíce deste trabalho.

ROBERT COTTINGHAM – pela acessoria e assistência durante o processamento de dados.

DR. ARNO MOTULSKY – pela aceitação de nossa pessoa para treinamento em seu serviço n Universidade de Washington

FUNDAÇÃO DE AMPARO À PESQUISA DO ESTADO DE SÃO PAULO (FAPESP) – pela bols de estudos que tornou possível a nossa permanência na Universidade d Washington para a realização deste trabalho.

PROF. DR. ZEFERINO VAZ – pela permissão de nossa ida e prorrogação de nossa permanênci no exterior.

PROF. DR. JOSÉ MERZEL – pelo irrestrito apoio recebido em todos os momentos difíceis.

PROF. DR. M. C. MÜLLER DE ARAUJO – pela inestimável ajuda na remoção dos obstáculos su gidos, pelo estímulo e pela orientação recebidos.

AOS PACIENTES E SEUS FAMILIARES – pela irrestrita colaboração e perene boa vontade.

A TODOS AQUELES QUE DIRETA OU INDIRETAMENTE COLABORARAM PARA A REA LIZAÇÃO DESTE TRABALHO.

AGRADECIMENTOS

O presente trabalho foi fruto de um grande esforço conjunto de um grupo de pessoas às quais queremos externar os nossos profundos agradecimentos.

1) Idéia e orientação — Dr Philip J. Fialkow **

2) Coleta de Material — Rachel Allison Nevils **
e Susan Rasmussen *

3) Estudo Cromossômico — Jean Bryant **
e Maureen Parks **

Fotografias — Sandy Swanson **
e Holly Willianso **

4) Anticorpos Antitireoidianos — Laura Steinmann **

5) Antígenos do Sistema HL-A — Dr. Paul I. Terasaki ***

6) Processamento de Dados — Robert Cottinghan *
Jürg Ott, PhD *
Joe Feldenstein, PhD *

7) Suporte Financeiro — Division of Medical Genetics
Department of Medicine
University of Washington
Seattle, WA, USA

Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP)
Campinas, SP, Brasil

Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de
São Paulo (FAPESP)
São Paulo, SP, Brasil

8) Serviço de Secretaria — Camille Campbell **
Adalgisa Helena Lobo Arena

Agradecemos também à Dra. Judith Hall e a todos os médicos que nos deram permissão para contactar os seus pacientes.

*—University of Washington
Seattle, WA, USA

**— Veterans Administration Hospital
Seattle, WA, USA

***— University of California
Los Angeles, Ca, USA

I – INTRODUÇÃO

Analisando-se as frequências relativas dos diferentes tipos de anomalias cromossômicas, BOUÉ e colaboradores (BOUÉ et. al., 1975) estimam que para cada duas fertilizações humanas ocorridas, um dos produtos gerados apresenta uma aberração cromossômica.

Quando são levados em consideração os tipos de aberrações cromossômicas encontradas (numéricas ou estruturais), verifica-se que as aberrações estruturais, detectadas em abortamentos espontâneos, constituem minoria, como mostram os dados contidos na tabela I-1. Os dados da tabela I-1 referem-se aos resultados obtidos em 5 investigações cromossômicas realizadas em abortamentos espontâneos. Assim sendo, a grande maioria das aberrações cromossônicas detectadas acarreta a alteração do número dos cromossomos e portanto, é chamada de aberrações numéricas. Tais aberrações numéricas, resultam, por exemplo, de erros ocorridos durante a gametogenese (não disjunções cromossômicas durante a meiose) ou de erros ocorridos durante a fertilização (triploidia causada por digamia ou diespermia) ou ainda por erros ocorridos durante as primeiras divisõesmitóticas do ovo fertilizado (tetraploidia, mosaicismo).

Nos recém-nascidos vivos, a incidência de aberrações cromossômicas é da ordem de 0,6% (tabela I-2) ou seja, 80 vezes menor do que aquela encontrada entre os abortamentos espontâneos (tabela I-3). Os dados dispostos na tabela I-2 foram obtidos a partir daqueles coletados na literatura por HOOK e HAMERTON (1977), com base em 6 investigações cromossômicas levadas a efeito em recém-nascidos vivos de diferentes populações. Os dados contidos na tabela I-3 resultam de uma composição das tabelas I-1 e I-2.

Com base nos dados da tabela I-3 e levando-se em conta os tipos de aberrações cromossômicas, verifica-se que as trissomias constituem a aberração cromossômica mais frequentemente detectada, tanto entre os abortamentos espontâneos (26,3%) quanto entre os recém-nascidos (0,3%)o que equivale a aproximadamente 50% de todas as aberrações cromossômicas detectadas. Tais aberrações resultam geralmente de uma não-disjunção cromossômica ocorrida durante a gametogenese paterna ou materna (não-disjunção cromossômica durante a meiose) entretanto, existem casos que podem ser explicados por não-disjunções pós-zigóticas (não-disjunção cromossômica durante a mitose). Embora seja possível entender-se como se origina uma trissomia, através da ocorrência das não-disjunções cromossômicas, as razões pelas quais as não-disjunções ocorrem e são detectadas com maior frequência em determinados cromossomos, permanecem ainda bastante obscuras.

Entre as trissomias mais frequentes e de maior importância clínica, a trissomia do cromossomo 21 ocupa um lugar de destaque. Sendo esta aneuploidia compatível com a vida, em grande número de afetados, o onus individual familiar e social que ela acarreta é bastante grande. Por outro lado, considerando a sua frequência e sua viabilidade, tal patologia constitui um modelo atrativo para a investigação dos fatores causais das não-disjunções.

O quadro clínico correspondente à trissomia do cromossomo 21 foi descrito em 1866 por John Langdon Down, numa publicação do London Hospital Reports e recebeu deste autor o nome de Idiotia Mongólica (DOWN, 1866).

Por se tratar de uma patologia relativamente frequente, a Síndrome de Down, como ficou posteriormente conhecida na literatura, despertou logo o interêsse de vários autores.

A idade materna foi o primeiro fator a ser reconhecido como importante na etiologia da Síndrome de Down (MATTEI, 1974). FRASER e MITCHEL em 1876, observaram que os indivíduos portadores desta síndrome, eram geralmente, os últimos filhos de casais com grande prole. SHUTTLEWORTH (1909), a propósito de uma investigação etiológica de 350 casos, enfatizou a idade materna avançada e a elevada ordem gestacional dos probandos, como sendo dois fatores causais importantes no aparecimento da Síndrome de Down. Estando estes dois fatores obviamente bastante correlacionados, SHUTTLEWORT naõ conseguiu distinguir qual dos dois seria o mais importante, isto é, a idade materna avançada ou o desgaste sofrido em decorrência de um grande número de gestações.

Durante os últimos 40 anos, as investigações realizadas sobre a Síndrome de Down se tornaram progressivamente mais preocupadas com o aspecto genético desta patologia (SMITH e BERG) 1976). Primeiramente procurou-se estabelecer a frequência desta condição patológica ao nascimento. Estimativas foram realizadas por JENKINS (1933) e MELPAS (1937) tendo seus

Tabela I.1 — Aberrações cromossômicas detectadas em 3080 abortamentos espontâneos provenientes de diferentes populações. Entre parêntesis os resultados em porcentagem.

Populações	Total	Anômalos		Monossomia (XO)		Trissomias		Triploidias		Tetraploidias		Mosaicos		Aberrações Estruturais		Referências
			%		%		%		%		%		%		%	
Suiça	152	81	(53,3)	12	(14,8)	51	(63,0)	10	(12,3)	5	(6,2)	0	(0,0)	3	(3,7)	KAJII et. al. (1973)
França	1498	920	(61,4)	140	(15,2)	495	(53,8)	183	(19,9)	57	(6,2)	[illegible]	([illegible])	35	(3,8)	BOUÉ e. al. (1975)
Dinamarca	255	140	(54,9)	40	(28,6)	66	(47,1)	14	(10,0)	12	(8,6)	1	(0,7)	7	(5,0)	LAURITSEN (1976)
Inglaterra	941	286	(30,4)	68	(23,8)	145	(50,7)	38	(13,3)	12	(4,2)	12	(4,2)	11	(3,8)	CREASY et. al. (1976)
Hawai	234	108	(46,1)	27	(25,0)	53	(49,1)	15	(13,9)	6	(5,5)	2	(1,8)	5	(4,6)	HASSOLD et. al. (1978)
Total	3080	1535	(49,8)	287	(18,7)	810	(52,8)	260	(16,9)	92	(6,0)	25	(1,6)	61	(4,0)	

Tabela 1.2 — Aberrações cromossômicas detectadas em 56952 recém-nascidos provenientes de diferentes populações. Entre parêntesis os resultados em porcentagem.

Populações	Total	Anômalos		Monossomia (XO)		Trissomias		Triploidias		Tetraploidias		Mosaidos		Aberrações Estruturais		Referências
			%		%		%		%		%		%		%	
Reino Unido	11680	78	(0,7)	0	(0,0)	44	(56,4)	1	(1,3)	0	(0,0	8	(10,2)	25	(32,0)	JACOBS et. al. (1974)
Dinamarca	11148	93	(0,8)	1	(1,1)	34	(36,5)	0	(0,0)	0	(0,0)	10	(10,7)	48	(51,6)	FRIEDRICH e NIELSEN (1973) NIELSEN e SILLISEN(75)
Canadá	16020	76	(0,5)	0	(0,0)	40	(52,6)	0	(0,0)	0	(0,0)	7	(9,2)	29	(38,1)	SERGOVICH et. al (69) [illegible]RTON et. al (75)
Estados Unidos	18104	106	(0,6)	1	(0,9)	55	(51,9)	0	(0,0)	0	(0,0)	3	(2,8)	47	(44,3)	LUBS e RUDDLE (1970) WALZER e GERALD (1977)
Total	56952	353	(0,6)	2	(0,6)	173	(49,0)	1	(0,3)	0	(0,0)	28	(7,9)	149	(42,2)	

dados sido confirmados por investigações posteriores. Atualmente, aceita-se uma incidência média de 1:660 em diferentes populações (SMITH, 1975). Em nosso país, por ocasião de um estudo prospectivo de 3028 recém-nascidos da população de Campinas, SP, ARENA (1974) detectou uma incidência de um portador da Síndrome de Down para cada 372 nascimentos.

Tabela 3 — Incidência comparativa de aberrações cromossômicas detectadas em abortamentos espontâneos e em recém-nascidos.

Anomalias	Abortamentos Espontâneos (3080)	%	Recém-Nascidos (56952)	%	% Abortos / % Recém-nascidos
Tetraploidias	92	(3,0)	0	(0,000)	∞
Triploidias	260	(8,4)	1	(0,002)	4200
Monossomia (XO)	287	(9,3)	2	(0,005)*	1860
Trissomias	810	(26,3)	173	(0,304)	86
Mosaicos	25	(0,8)	28	(0,049)	16
Aberrações Estruturais	61	(2,0)	149	(0,262)	8
Total	1535	(49,8)	353	(0,620)	80

* Calculado para um total de 43201 recém-nascidos, ou seja, excluindo-se os dados de WALZER e GERALD (1977) os quais se referem somente a recém-nascidos do sexo masculino.

A associação entre a incidência da Síndrome de Down e a idade dos pais do probando, foi investigada independentemente por JENKINS (1933) e PENROSE (1933). Verificou-se então que a idade paterna isolada não tinha influência sobre a incidência da Síndrome de Down. Em 1934, Penrose conseguiu analisar separadamente, o efeito da ordem gestacional e o efeito da idade materna sobre a incidência da Síndrome de Down.Demonstrou-se, então, que a influência isolada da ordem gestacional sobre a incidência da Síndrome de Down não era significativa, reforçando-se assim, o efeito isolado da idade materna avançada.

PENROSE (1961, 1964) demonstrou que a idade materna dos portadores da trissomia do cromossomo 21 se distribui segundo uma curva bimodal, o que permitiu verificar a existência de dois grupos bem definidos em relação a incidência da Síndrome de Down. O primeiro grupo é constituído por filhos de mães mais jovens e nele a incidência desta Síndrome não depende da idade materna. Este grupo engloba a maioria das translocações esporádicas ou herdadas (WRIGHT et. al. 1967). O segundo grupo é constituído por filhos de mães mais idosas e nele a incidência da Síndrome de Down é estritamente dependente da idade materna. Neste grupo quanto maior for a idade materna, maior será o risco de ter um filho afetado. De acordo com PENROSE e SMITH (1966), 39,8% das trissomias apresentam-se no primeiro grupo e 60,2% no segundo.

A relação entre o envelhecimento materno e a não-disjunção cromossômica, embora bem demonstrada na literatura, no concernente às trissomias autossômicas, carece ainda bastante de explicações (MATTEI, 1974).

Muito se tem discutido e pesquisado no sentido de se esclarecer os fatores que acarretam as não-disjunções cromossômicas. Hipóteses as mais variadas têm sido elaboradas tais como , a fecundação de óvulos em consequência de uma diminuição da frequência de coitos (GERMAN, 1968; JUBERG, 1976); envelhecimento biológico precoce em mães jovens (EMANUEL et. al. (1972); alterações fisiológicas no trato reprodutivo feminino (FORD, 1973), etiologia viral acarretando lesões do fuso ou persistência do nucléolo (STOLLER e COLLMAN, 1965; NICHOLS,1970);

irradiação materna, principalmente no grupo de mulheres idosas, traduzindo um efeito cumulativo ao longo dos anos (UCHIDA et. al., 1968); heterozigose para genes condicionadores de variantes do enzima α 1 antitripsina (FINEMAN, 1976); presença de anticorpos antitireoidianos nas mães dos indivíduos portadores da Síndrome de Down (FIALKOW et. al., 1971), e etc.

Em relação a esta última hipótese, desde há muito tempo se conhecem casos de doenças auto-imunes, principalmente da tireoide, entre os casos de aberrações cromossômicas (MATTEI, 1974). Vários autores chamaram a atenção para um aumento da freqüência de bocio e disfunção tireoidiana em mães de pacientes com a Síndrome de Down (MYERS, 1938); BENDA, 1949; EK, 1959; COPPEN e COWIE, 1960; RUVALCABA et. al., 1969; McDONALD, 1972). Por outro lado, um aumento da freqüência de anticorpos antitireoidianos foi observado tanto em pacientes com a Síndrome de Down (MELLONS et. al., 1963; AARSKOG, 1969; VAN HAELST, 1970; FIALKOW, 1971) quanto em pacientes com disgenesia gonadal (SPARKES e MOTULSKY, 1963; GRUMBACH e MORISHIMA, 1964; WILLIAMS et. al., 1964; FIALKOW, 1968).

De acordo com FIALKOW (1964), tais achados são sugestivos de que a presença de anticorpos antitireoidianos nos pais, pode de algum modo predispor ao aparecimento de uma anomalia cromossômica nos filhos. Em um estudo prospectivo realizado em mães de indivíduos portadores da Síndrome de Down e em um grupo controle, FIALKOW e col. (1965a) encontraram uma freqüência aumentada de bócio e ou disfunção tireoidiana bem documentada laboratorialmente, nas mães dos indivíduos afetados. A seguir, FIALKOW e col. (1965b), pesquisando a existência de anticorpos antitireoidianos verificou que entre as mulheres em idade reprodutiva, mães de indivíduos portadores da Síndrome de Down 29% apresentavam anticorpos antitireoidianos ao passo que tais anticorpos foram encontrados somente em 9% das mães dos indivíduos tomados como controles. A freqüência aumentada de anticorpos antitireoidianos em relação ao grupo controle é quase que restrita às mães que tiveram seus filhos com idade inferior a 35 anos, isto é, no grupo cuja incidência da Síndrome de Down é independente da idade materna (FIALKOW e UCHIDA, 1968).

Estes achados foram confirmados por outros investigadores (DALLAIRE e KINGSMILL-FLYNN, 1967; VACCARO et. al., 1969; VANHAELST et. al., 1969; ENGELBERTH et. al., 1969), e são suportados pela observação de que os anticorpos antitireoidianos são encontrados mais freqüentemente nos probandos e em seus irmãos normais, do que no grupo controle (FIALKOW, 1970).

Há aproximadamente 10 anos passados, FIALKOW e colaboradores estudaram 106 famílias de indivíduos portadores da Síndrome de Down residentes em instituições para retardados mentais. Simultaneamente outras 71 famílias, cujos probandos residiam em suas casas, bem como, famílias controles apropriadas para ambos os grupos, foram também investigadas (FIALKOW et. al., 1971).

Os resultados obtidos revelaram a existência de um significativo aumento na freqüência de moléstias da tireoide, nas mães dos afetados, tanto entre o grupo institucionalizado quanto entre aqueles residentes com suas respectivas famílias. Da mesma maneira, as irmãs dos pacientes e os parentes em primeiro grau de suas mães (Maternal first-degree relatives), apresentaram um maior número de patologias tireoidianas do que o grupo controle. Encontrou-se também, um significativo aumento de anticorpos antitireoidianos nos portadores da Síndrome de Down e em suas mães, ao passo que os seus pais apresentaram resultados semelhantes ao grupo controle (FIALKOW et. al., 1971).

A prevalência relativamente alta de anticorpos antitireoidianos em irmãos normais de portadores da Síndrome de Down, a comprovação clínica, em muitas mães dos indivíduos afetados, da existência de doenças da tireoide previamente à concepção dos probandos, bem como, uma maior freqüência de patologias da tireoide em parentes pelo lado materno, sugerem a existência de uma predisposição familiar à autoimunidade tireoidiana (FIALKOW, 1970). Por outro lado, o encontro de um significativo aumento de anticorpos antitireoidianos nos portadores da Síndrome de Down e em suas mães, mas não em seus pais, reforça tal hipótese e sugere que a existência nas mulheres, de um fator relacionado à autoimunidade tireoidiana predispõe às mesmas a terem um filho portador da Síndrome de Down (FIALKOW et. al. 1971).

Desde a época em que FIALKOW e colaboradores realizaram seus estudos, ocorreram dois significativos desenvolvimentos nos campos de pesquisa da Síndrome de Down e da autoimunidade.

Com o advento das técnicas de bandeamento cromossômico com corantes fluorescentes derivados da quinacrina, tornou-se possível a identificação de heteromorfismos do cromossomo 21 (CASPERSON et. al., 1970, 1971). Tal fato permitiu realizar-se o que já havia sido previsto por LEJEUNE (1970), ou seja, identificar-se a origem (paterna ou materna) do cromossomo 21 excedente, em grande número de portadores da trissomia deste cromossomo.

Estudos posteriores vieram demonstrar tal possibilidade em pelo menos 25% a 50% dos casos (WAGENBICHLER et. al., 1976; MIKKELSEN et. al., 1976). Assim sendo, atualmente, em condições favoráveis, é possível determinar-se através do estudo dos cromossomos dos pais e de seu filho afetado, a origem do cromossomo 21 em excesso, ou seja, se o mesmo resultou de uma não-disjunção ocorrida durante a primeira ou a segunda divisão da meiose paterna ou materna.

No consernente ao campo da autoimunidade, verificou-se que certos antígenos do sistema H.L.A. (Human Leukocytes Antigens), por exemplo, HL-A B8, são encontrados mais frequentemente em indivíduos que apresentam certos tipos de doenças autoimune (DAUSSET e. al., 1974) Embora as bases para a existência de uma correlação entre determinados fenótipos do sistema HL-A e doenças autoimunes sejam ainda desconhecidas, uma explicação possível seria a existência de genes determinadores de uma resposta autoimune, em ligação muito próxima com alguns antígenos do sistema HL-A (Linkage desequilibrium).

Assim sendo, em face da possibilidade atual de se identificar a origem da não-disjunção (paterna ou materna) que acarreta a trissomia do cromossomo 21, bem como, a disponibilidade de um sistema genético capaz de revelar a eventual existência de genes determinadores da resposta imunológica, o presente projeto foi idealizado com os seguintes objetivos:

1 - Reinvestigar as famílias estudadas há aproximadamente 10 anos, por FIALKOW e colaboradores, a fim de:

a) determinar se os indivíduos inicialmente autoimunes negativos, haviam se transformado em autoimunes positivos e vice-versa.

b) determinar se os familiares que apresentavam no início somente anticorpos antitireoidianos, desenvolveram agora doença autoimune da tireoide ou se se tornaram anticorpos negativos.

2 - Levando-se em conta a idade materna à época do nascimento dos probandos (mães jovens ou mães idosas) comparar os resultados dos exames laboratoriais nestes dois grupos de famílias.

3 - Correlacionar a presença de imunidade antitireoidiana com a origem do cromossomo 21 em excesso.

4 - Correlacionar a presença de imunidade antitireoidiana com algum particular fenótipo do sistema HL-A nas famílias dos pacientes com a Síndrome de Down e correlacionar algum particular fenótipo do sistema HL-A com a origem do cromossomo 21 em excesso.

Observação: Os objetivos 1b e 4 constituirão objetos de um outro trabalho a ser publicado posteriormente.

II – MATERIAL E MÉTODOS

II-1. Descrição da amostra

A amostra original de 177 famílias investigadas durante os anos de 1964 a 1967 por FIALKOW e colaboradores (FIALKOW et. al. 1971) na cidade de Seattle, Washington, U.S.A., constituiu o material inicial a ser reinvestigado no presente trabalho. Tais famílias encontravam-se subdivididas em dois grupos, tendo em vista o fato do paciente portador da Síndrome de Down viver junto com os seus familiares (WD), ou viver em instituições para retardados mentais (WM).

Inicialmente as pastas originais dessas famílias foram revistas e os seus endereços listados para serem atualizados. Através de uma investigação dos nomes de tais famílias no arquivo de pacientes do University of Washington Hospital, através de contactos telefônicos diretos, cartas, conversas telefônicas com parentes e vizinhos, procurou-se atualizar os respectivos endereços. A seguir as famílias encontradas foram agrupadas de acordo com a área de sua residência para serem contactadas.

Em relação às famílias (WM), cujos probandos encontravam-se em instituições, primeiramente procedeu-se a entrevista das mesmas durante a qual obteve-se a permissão devida (formulário II-1-1) e posteriormente, realizou-se a coleta de sangue dos probandos nas respectivas instituições.

Das 177 famílias estudadas originalmente (FIALKOW et. al. 1971), 95, ou seja, (54%) puderam ser reinvestigadas. Entre as 82 famílias restantes, a grande maioria não se encontrava mais na área de Seattle; algumas famílias recusaram-se a nova investigação e outras tantas encontravam-se desfalcadas de ambos os pais ou dos probandos, por morte dos mesmos.

FORMULÁRIO II - 1 - 1.

Formulário para o consentimento de coleta de sangue em indivíduos portadores da Síndrome de Down. Formulário apresentado na sua forma original.

University of Washington
Department of Medicine
Seattle, WA 98195
Telephone: 206 543-3595

CONSENT FORM

Title of Investigation:

Autoimmunity and Down's Syndrome

Investigators:

Philip J. Fialkow, M.D., Professor of Medicine and Genetics
Fernando P. Arena, M.D., Ph.D., Senior Fellow in Medical Genetics
Rachel A. Nevils, Family Worker

I am a patient with Down's Syndrome (mongolism). I understand that Dr. Philip Fialkow and his associates at the University of Washington are conducting a research project concerned with that disorder.

As part of their study, they are obtaining small amounts of blood (about two tablespoons) from patients with Down's Syndrome and their relatives. The purpose on the study is to determine possible relationship of Down's Syndrome with certain disorders of the thyroid gland in patients with Down's Syndrome and their relatives.

I understand that all personal data and information will be kept confidential and available only to the investigators. I further understand that there is very little likelihood that the results of the tests that Dr. Fialkow and his associates are doing will have any direct benefit to me, but I realize that it is possible that the results will provide some insights into the causes, and therefore into the prevention of Down's Syndrome.

The risks associated with obtaining the blood specimen are very, very low. Ocasionally, some blood may look from the vein and cause a black and blue spot which sometines can cause minimal, transistory disconfort. Rarely, a person may faint when blood is being taken.

If I participate in the study, I will be seen by a family worker or physician at my

convenience, usualy in my home, who will obtain a blood sample (about two tablespoons) by placing a needle in an arm vein.

I know that my participation in this study is voluntary and that I am free to withdraw at amy time without any penalty whatsoever to myself or to my relatives. My participation or refusal to participate will have no bearing on my or my relatives' eligibility for, and receipt of social, economic or health services by the Department of Social and Health Services of the State of Washington.

I have had an opportunity to ask questions and have received satisfactory answers to my questions.

The tests will be done at no cost to me and I will not receive any payments or fees.

I agree to participate as a volunteer.

Investigator's Statment:

To the extent possible, I have defined and explained the procedure to the volunteer, including the risks and potential effects. I am taking all appropriate steps to protect his or her rights and welfare and to maintain confidentiality.

I agree to participate as a volunteer in this study.

Volunteer: ....
Name Age

....
Signature Date

Our son/daughter has given oral consent to participate in this study.

Mother: ....
Name Age

....
Signature Date

Father: ....
Name Age

....
Signature Date

and/or Legal Guardian:

....
Name Age

....
Signature Date

Investigator: ....
Signature Date

Copies to: Subject
Investigator's File

Após a reinvestigação dessas 95 famílias e tendo em vista os resultados obtidos no concernente à pesquisa dos antígenos do sistema HL-A, optou-se por uma ampliação da amostra.

Para tanto, diante da impossibilidade de se conseguir mais famílias componentes da amostra original de FIALKOW e col. (1971), optou-se pela investigação de novas famílias. Procedeu-se assim, a um levantamento de dados nos arquivos do Serviço de Genética Clínica do CHILDREN'S ORTHOPEDIC HOSPITAL, serviço este, também pertencente a Universidade de Washington e situado na mesma cidade de Seattle, onde foi coletada a amostra original de FIALKOW e colaboradores (1971).

Após a obtenção dos nomes dos pacientes, realizou-se uma investigação dos seus prontuários clínicos com a finalidade de se constatar a veracidade do diagnóstico, a existência do exame do cariótipo, o endereço da família e a origem étnica dos probandos.

Selecionou-se somente caucasoides da mesma maneira que as outras 95 famílias reinvestigadas. Selecionou-se também, somente os indivíduos residentes na área de Seattle e com o diagnóstico bem comprovado de portadores da Síndrome de Down, de preferência com o exame do cariótipo. As famílias assim escolhidas foram procuradas para serem contactadas, da mesma maneira como foi descrito para as 95 primeiras.

Um total de 35 novas famílias puderam ser investigadas, perfazendo uma amostra global de 130 famílias, estudadas no presente trabalho.

Tendo em vista o fato de que as primeiras 95 famílias pertenciam ao estudo original de FIALKOW e col. (1971), tal grupo foi denominado de Estudo I sendo as 35 novas famílias denominadas de Estudo II. Somente uma família pertencente ao Estudo I possuía dois filhos afetados com a Síndrome de Down.

II - 2. Coleta de Material

Um questionário especial foi elaborado para a entrevista com as famílias (formulário II-2-1), juntamente com os formulários II-2-2 e II-2-3 respectivamente destinados a obter permissão para a coleta de sangue dos familiares adultos e menores de 18 anos dos probandos. Todos estes formulários são apresentados, no presente trabalho, na sua forma original.

Após um contacto telefônico com as famílias, uma entrevista era marcada, geralmente, para depois das 18 horas ou para os domingos, tendo em vista a obtenção do maior número de amostras possíveis, dentro de cada família. Entretanto, muitas amostras de sangue tiveram que ser colhidas em hospitais, escolas, local de trabalho ou ainda no local de maior conveniência no momento. As entrevistas foram sempre realizadas nas casas, através de um contacto pessoal com os pais dos probandos. Durante a entrevista fazia-se o levantamento da árvore genealógica dos pacientes até os seus avós paternos e maternos, preenchendo-se o questionário acima mencionado.

Uma amostra de 35 ml de sangue era colhida dos pais e do probando destinando-se 20 ml para a pesquisa dos antígenos do sistema HL-A, 10 ml para o estudo cromossômico e 5 ml para a investigação de anticorpos antitireoidianos. Sempre que possível, uma amostra de 25 ml de sangue foi também colhida de cada irmão (a) do probando cuja idade fosse acima de 10 anos. Neste caso somente os exames do HL-A e a pesquisa de anticorpos antitireoidianos foram realizados.

No concernente às 35 famílias (Estudo II), o procedimento foi idêntico ao adotado para o Estudo I, com exceção dos exames do cariótipo dos pais e dos probandos, os quais nesse grupo, não puderam ser realizados.

II - 3. Processamento laboratorial

As investigações dos antígenos do sistema HL-A foram feitas no serviço dos doutores... (continua na pagina 16)

FORMULÁRIO II - 2-1

Questionário utilizado na entrevista com as famílias. Apresentado na sua forma original.

QUESTIONAIRE

DOWN'S SYNDROME STUDY

Year ..... Year .....

Family Number ..... Date of Interview: Month .....

Day .....

Family Name ..... Informant .....

Address ..... Telephone .....

Referring Institution or M.D. .....

Interviewer .....

Religion of the mother ..... Religion of the father .....

PEDIGREE

Consanguinity

1. Was there anyone in your family who married a relative like first cousins or an uncle and a niece?
.....

Twins

1. Have there been any twins in the family? .....
Were they the same sex? .....
Were they identical? .....

Miscarrieges

1. Did you, mother, have any miscarriages or still births? .....
If so, year, month of pregnancy and birth order. .....

2. Did any of your children die in the first few days or months of life? .....
If so, age of death. ..... Place of death. .....
Cause of death. .....

Marriage

1. Date of marriage ....
If divorced, date or divorce. .....

DISEASES

Thyroid Disorders

1. Has anyone in your family had any thyroid disease or thyroid disorder? .....
.....
2. Has anyone in your family had a goiter, a large thyroid gland, a swelling in the neck? .....
.....
3. Has anyone in your family had an operation on their thyroid gland? .....
.....
4. Has anyone in your family had an operation on their neck? .....
.....
5. Has anyone in your family had hypothyroidism, an underactive thyroid gland or myxedema?
.....
6. Have you (mother and father) taken thyroid medication? .....
Why? .....
What synptoms did you have? .....
7. Have you (mother) ever taken thyroid medicine? .....
Date, dose and duration of therapy. .....
Before, during, or after birth of (Interviewer insert name of propositus? .....
.....

8. Has anyone in your family had an overactive thyroid gland, hyperthyroidism, or thyrotoxicosis?
9. Has anyone in your family had protuberant eyes, pop eyes or eyes that stick far out of their sockets?
10. Has anyone in your family had an inflamation or infection of the thyroid?

Has anyone in your family had thyroiditis or Hashimoto's thyroiditis?

11. Has anyone in your family had cretinism?
12. Has anyone in your family had a tumor or cancer of the thyroid?

Diabetes Mellitus

1. Has anyone in your family been told that they had sugar diabetes?

If so, how old were they when they first knew they had diabetes?
Do they take pills or insulin? Are they on a diet?

2. Sugar in the urine?
3. Was anybody in the family told to take insulin?

Addison's Disease

1. Has anyone in your family had Addison's disease?
2. Has anyone in your family had difficulty with their adrenal glands?
3. Has anyone in your family taken cortisone?
   If yes, why?

Neoplasms

1. Has anyone had a tumor or a cancer?
   In what organ ?
2. Has anyone had leukemia, Hodgkin's disease, lymphoma or blood cancer?

Hematology

1. Has anyone had anemia or low blood with yellow jaundice?
2. Has anyone had anemia or low blood and taken cortisone?
3. Has anyone had anemia or low blood and had their spleen taken out?
4. Has anyone had hemolytic anemia?
5. Has anyone had pernicious anemia?
6. Has anyone taken liver or vitamin B-12 injections for anemia?

Muscle-Nerve

1. Has anyone in the family ever had multiple sclerosis?
2. Has anyone in the family ever had myasthenia gravis?
3. Has anyone in the family ever had a muscle or nerve disease?

Ulcerative Colitis and Regional Enteritis

1. Has anyone had ulcerative colitis or bloody diarrhea?
2. Has anyone had regional enteritis or Crohn's disease?

Rheumatoid Arthritis

1. Has anyone in your family had rheumatoid (crippling) arthritis?
2. How old were when they first got arthritis?
3. Where?

Systemic Lupus Erythematosus

1. Has anyone had a disease called lupus?

Congenital Malformation

1. Has anyone been born with any congenital abnormality such as extra fingers, cleft lip or palate,

heart disease, kidney disease, mental retardation? .....

.....

Other Chromosomal Abnormalities

1. Have there been any women in the family who never menstruated? .....
2. Have there ever been any women in the family who were less than 5' tall? .....
3. Have they had any children or ever menstruated? .....
4. Have there been any women in the family with a short broad neck? .....
5. Have they had any children or ever menstruated? .....
6. Have there been any men who could not have children? .....
7. Does anyone in the family have anything wrong with their chromossomes ? .....

Mental Retardation

1. Does anyone go to a special school? .....
2. If so, why? ..... Waht school? .....
3. Has there been anybody in the family who was thought to be mentally retarded? .....

.....

Other

1. Has anyone in your family had any other disabling disease? .....

.....

FORMULÁRIO II - 2-2.

Formulário para o consentimento de coleta de sangue em familiares adultos dos indivíduos portadores da Síndrome de Down. Apresentado na sua forma original.

University of Washington
Department of Medicine
Seattle, WA 98195
Telephone: 206 543-3593

CONSENT FORM

Title of Investigation:

Autoimmunity and Down's Syndrome

Investigators:

Philip J. Fialkow, M.D., Professor of Medicine and Genetics
Fernando P. Arena, M.D., PhD., Senior Fellow in Medical Genetics
Rachel A. Nevils, Family Worker

I am a relative of a patient with Down's Syndrome (mongolism). I Understand that Dr. Philip Fialkow and his associates at the University of Washington are conducting a research project concerned with that disorder.

As part of their study, they are obtaining small amounts of blood (about two tablespoons) from patients with Down's Syndrome and thair relatives. The purpose of the study is to determine possible relationship of Down's Syndrome with certain disordes of the thyroid gland in patients with Down's Syndrome and their relatives.

I understand that all personal data and information will be kept confidential and available only to the investigators. I further understand that there is very little likelihood that the results of the tests that Dr. Fialkow and his associates are doing will have any direct benefit to me, but I realize that it is possible that the results will provide some insights into the causes, and therefore into the prevention of Down's Syndrome.

The risks associated with obtaining the blood specimen are very, very low. Occasionally, some blood may leak from the vein and cause a black and blue spot which sometimes can cause minimal, transistory discomfort. Rarely, a person may faint when blood is being taken.

If I participate in the study, I will be seen by a family worker or physician at my convenience, usualy in my home, who will obtain a blood sample (about two tablespoons) by placing a needle in an arm vein and who will ask a series of questions concerning my health and perhaps the health of some of my close relatives. I realize that I may refuse to answer any or all of these questions.

I know that my participation in this study is voluntary and that I am free to withdraw at any time without any penalty whatsoever to myself or to my relative with Down's Syndrome. My participation or refusal to participate will have no bearing on my or my relatives' eligibility for, and receipt of, social, economic or health services by the Department of Social and Health Services of the State of Washington.

I have had an opportunity to ask questions and have received satisfactory answers to my questions.

The tests will be done at no cost to me and I will not receive any payments or fees.

I agree to participate as a volunteer.

Investigator's Statement:

I have fully defined and explained the procedure to the volunteer, including the risks and potential effects. I am taking all apporpriate steps to protect his or her rights and welfare and maintain confidentality.

Volunteer: ....

Name Age

....

Signature Date

Investigator: ....

Signature Date

Copies to: Subject
Investigator's File

FORMULARIO II - 2-3

Formulário para o consentimento de coleta de sangue em familiares menores de 18 anos, dos indivíduos portadores da Síndrome de Down. Apresentado na sua forma original.

University of Washington
Department of Medicine
Seattle, WA 98195
Telephone: 206 543 3593

CONSENT FORM

Title of Investigation:

Auto-immunity and Down's Syndrome

Investigators:

Philip J. Fialkow, M.D., Professor of Medicine and Genetics
Fernando P. Arena, M.D., Ph-D, Senior Fellow in Medical Genetics
Rachel A. Nevils, Family Worker

I am a relative of a patient with Down's Syndrome (mongolism). I understand that Dr. Philip Fialkow and his associates at the University of Washington are conducting a research project concerned with that disorder.

As part of their study, they are obtaining small amounts of blood (about two tablespoons) from patients with Down's Syndrome and their relatives. The purpose of the study is to determine possible relationship of Down's Syndrome with certain disorders of the thyroid gland in patients with Down's Syndrome and their relatives.

I understand that all personal data and information will be kept confidential and available only to the investigators. I further understand that there is very little likelihood that the results of the tests that Dr. Fialkow and his associates are doing will have any direct benefit to me, but I realize that it is possible that the results will provide some insights into the causes, and therefore into the prevention of Down's Syndrome.

The risks associated with obtaining the blood specimen are very, very low. Occasionally, some blood may leak from the vein and cause a black and blue spot which sometimes can cause minimal, transistory discomfort. Rarely, a person may faint when blood is being taken.

If I participate in the study, I will be seen by a family worker or physician at my convenience, usualy in my home, who will obtain a blod sample (about two tablespoons) by placing a needle in an arm vein and who will ask a series of questions concerning my health and perhaps the health of some of my close relatives. I realize that I may refuse to answer any or all of these questions.

I know that my participation in this study is voluntary and that I am free to withdraw at any time without any penalty whatsoever to myself or to my relative with Down's Syndrome. My participation or refusal to participate will have no bearing on my or my relatives' eligibility for, and receipt of, social, economic or health services by the Department of Social and Health Services of the State of Washington.

I have had an opportunity to ask questions and have received satisfactory answers to my questions.

The tests will be done at no cost to me and I will not receive any payments or fees.

I agree to participate as a volunteer.

Investigator's Statement:

I have fully defined and explained the procedure to the volunteer, including the risks and potential effects. I am taking all appropriate steps to protect his or her rights and welfare and to maintain confidentiality.

(I) (We) agree to our (son's) (daughter's) participation as a volunteer in this study.

Volunteer:	..... Name	..... Age
	..... Signature	..... Date
Mother:	..... Name	..... Age
	..... Signature	..... Date
Father:	..... Name	..... Age
	..... Signature	..... Date
and/or Legal Guardian:	..... Name	..... Age
	..... Signature	..... Date
Investigator:	..... Signature	..... Date

Copies to: Subject
Investigator's File

PAUL I. TERASAKI, Ph D. e GARY S. RACHELEFSKY, M.D., Department of Surgery, University of California, Los Angeles, CA. USA, e para tanto as amostras de sangue destinadas a este exame, eram enviadas por via aérea, no mesmo dia da coleta, para aquele Laboratório, a fim de serem processadas.

Os exames para a pesquisa de anticorpos antitireoidianos, bem como, o estudo cromossômico foram realizados no Veterans Administration Hospital, Seattle, WA, USA, Serviço do Dr. FIALKOW.

II-3 A. Pesquisa de anticorpos antitireoidianos

Dois foram os testes realizados com a finalidade de se detectar a presença e o título de anticorpos antitireoidianos nos indivíduos investigados, o Tanned Red Cell Haemagglutination Test (TRCT) e o Thyroid Microsomal Antibodies Test (TMAT).

O sangue coletado para estes exames, após coagulação espontânea era centrifugado e o soro transferido para um frasco especial, devidamente numerado, ficando armazenado à temperatura de - 20°C para posterior processamento.

O TRCT destinava-se a pesquisa dos anticorpos antitireoglobulina e foi realizado segundo a mesma técnica empregada no estudo original de FIALKOW e col. (1971) e descrita por este autor em FIALKOW et al. (1965 b). Da mesma forma que no estudo anterior, considerou-se positivos os títulos de 1/9 ou superiores.

O TMAT destinava-se à pesquisa dos anticorpos antimicrosomatireoidiano e foi realizado segundo a microtécnica desenvolvida pelo laboratório Fujizoki Pharmaceutical Co. Ltd. do Japão, (PERRIN e BUBEL, 1974). Para tanto utilizou-se o kit Sera-Tek Thyroid Microsomal Antibody Test (2902), manufaturado pelo referido laboratório e distribuido pela AMES Company USA.

É interessante salientar que no estudo original de FIALKOW et al. (1971) para a pesquisa dos anticorpos antimicrosomatireoidiano, o teste utilizado foi o Immunofluorescent Test (IFT), realizado segundo a técnica descrita em FIALKOW et al. (1965b).

Entretanto, uma pesquisa realizada no próprio Serviço do Dr. FIALKOW, testando-se 23 indivíduos simultaneamente com o IFT e o TMAT, mostrou uma correlação de 100%, quando os valores dos títulos adotados como positivos para o TMAT foram iguais ou superiores a 1:100 (dados não publicados). Assim sendo, no presente trabalho, em relação ao TMAT, somente foram considerados como resultados positivos aqueles obtidos com títulos iguais ou superiores a 1:100.

Para a análise dos resultados obtidos, no presente trabalho, denominou-se de Teste Anterior aqueles realizados por FIALKOW e col. (1971) no estudo original. Assim Teste Anterior compreende o TRCT e o IFT. Os indivíduos considerados positivos em relação ao Teste Anterior são aqueles que mostraram um resultado positivo que no TRCT ou no IFT ou em ambos.

Da mesma maneira, foram chamados de Teste Atual aqueles realizados no presente estudo, quais sejam o TRCT e o TMAT. São considerados Teste Atual positivos aqueles indivíduos que mostraram um valor positivo quer no TRCT ou no TMAT ou em ambos.

Finalmente, denominou se Resultado Combinado a combinação dos resultados do Teste Anterior com os resultados do Teste Atual. Assim, um resultado positivo no Teste Anterior ou no Teste Atual ou em ambos traduz-se por um resultado positivo no Resultado Combinado.

II-3 B. Estudo cromossômico

O estudo cromossômico teve por finalidade determinar, sempre que possível, a origem do cromossomo 21 em excesso nos probandos. Em outras palavras, tratava-se de verificar se o cromossomo 21 em excesso, nos pacientes estudados era proveniente do seu pai ou de sua mãe. Para tanto, o sangue periférico obtido dos pais e dos probandos foi processado para a obtenção de

cromossomos de acordo com a técnica originalmente descrita por MOORHEAD et al. (1960). De cada indivíduo foram feitas, uma média de cinco lâminas, sendo uma ou duas submetidas à técnica de bandeamento cromossômico e as demais, devidamente guardadas para posterior investigação, caso necessário.

As lâminas assim obtidas, foram submetidas à técnica de bandeamento cromossômico, descrita por CASPERSSON et al. (1971), para a obtenção das bandas O.

As lâminas inicialmente secas, eram hidratadas em solução de etanol com concentrações decrescentes (100% - 95% - 70% - 50%), ficando por 5 minutos em cada solução. A seguir eram colocadas em água destilada também por 5 minutos e transferidas para uma solução tampão de McIlvaine ph 7 preparada pela diluição de 86,3 ml de ácido cítrico 0,1 M (C_6 H_8 O_7) e 453,7 ml de fosfato dissódico 0,2 (Na_2 HPO_4) em um litro de água destilada, sendo o ph ajustado para 7.

A solução corante de mustarda de quinacrina era preparada pela diluição de 0,5 mg de mustarda de quinacrina para cada 10 ml de solução tampão de McIlvaine ph 7.

As lâminas eram então mergulhadas por 20 minutos na solução corante a 20ºC e a seguir eram passadas por 3 frascos contendo somente a solução tampão de McIlvaine ph 7, permanecendo 5 minutos em cada um.

As lâminulas eram então colocadas sobre as lâminas utilizando-se solução saturada de sucrose. Assim montadas, as lâminas eram guardadas na ausência de luz para serem analisadas. Tal análise realizada sempre no mesmo dia em que as lâminas eram coradas, foi feita em um fotomicroscópio Zeiss III, equipado com luz ultravioleta de acordo com a técnica descrita por MAGENIS et. a. (1977).

Uma média de 15 boas metáfases foram fotografadas de cada indivíduo utilizando-se o filme Kodak Tri x pan 35mm, 400 ASA. Os cromossomos 21 de cada célula foram reporduzidos fotograficamente em 4 diferentes tempos de exposição (Figura II-3-B-1) para acentuar as variações existentes entre eles. O papel fotográfico utilizado foi o Ektamatic SC revelado segundo o processo Ektamatic.

As 4 diferentes exposições de cada metáfase foram feitas sempre a uma mesma altura e tempo, variando-se porém, a abertura do aparelho ampliador.

Para a reprodução fotográfica a escala do aparelho foi fixada no ponto 31/2 a fim de assegurar a mesma ampliação. Cada negativo foi exposto 4 vezes durante um mesmo tempo de exposição, variando-se porém a abertura do aparelho (f4 - f4,5 - f5,6 - f6,3). A determinação do tempo de exposição foi realizada utilizando-se um negativo de intensidade média. O menor tempo de exposição deveria ser ainda suficiente para impressionar o papel fotográfico de modo a tornar o fundo bem próximo do preto. O maior tempo de exposição deveria impressionar o papel fotográfico com intensidade tal, que a banda cromossômica mais intensa fosse ainda visível. Tal tempo variava com a densidade do negativo e com a fonte luminosa, entretanto, o seu valor situava-se geralmente entre 6 a 10 segundos. Embora a variável tempo permanecesse constante para um mesmo negativo, o seu valor, era ajustado para cada negativo.

As melhores fotografias eram então recortadas e os cromossomos 21 emparelhados sobre um fundo preto, de acordo com o modelo apresentado na figura II-3-B-2.

A decisão quanto à origem paterna ou materna do cromossomo 21, foi em todos os casos sempre tomada pela mesma pessoa (J.B.)* que com base nos níveis de intensidade de fluorescência dos cromossomos (brilhante, intenso, médio, pálido e negativo) estabelecidos pela Conferência de Paris em 1971 (Paris Conference, 1971), elaborou um tipo de avaliação que somente leva em conta padrões intra-cromossomo 21, possibilitando dessa maneira que cada cromossomo 21 fosse avaliado em relação a si mesmo, o que evidentemente, facilita a comparação de várias celulas, mesmo de indivíduos diferentes e em condições diferentes.

c* Mrs. JEAN BRYANT - responsável pelo setor de citogenética do Veterans Administration Hospital, Seattle, WA, U.S.A., Serviço do Dr. Phillip J. Fialkow.

Figura II-3–B–1 – Reprodução fotográfica dos cromossomos **21** de uma mesma célula, com diferentes tempos de exposição.

Figura II-3–B–2 – Emparelhamento dos cromossomos 21 paternos, maternos e do probando.

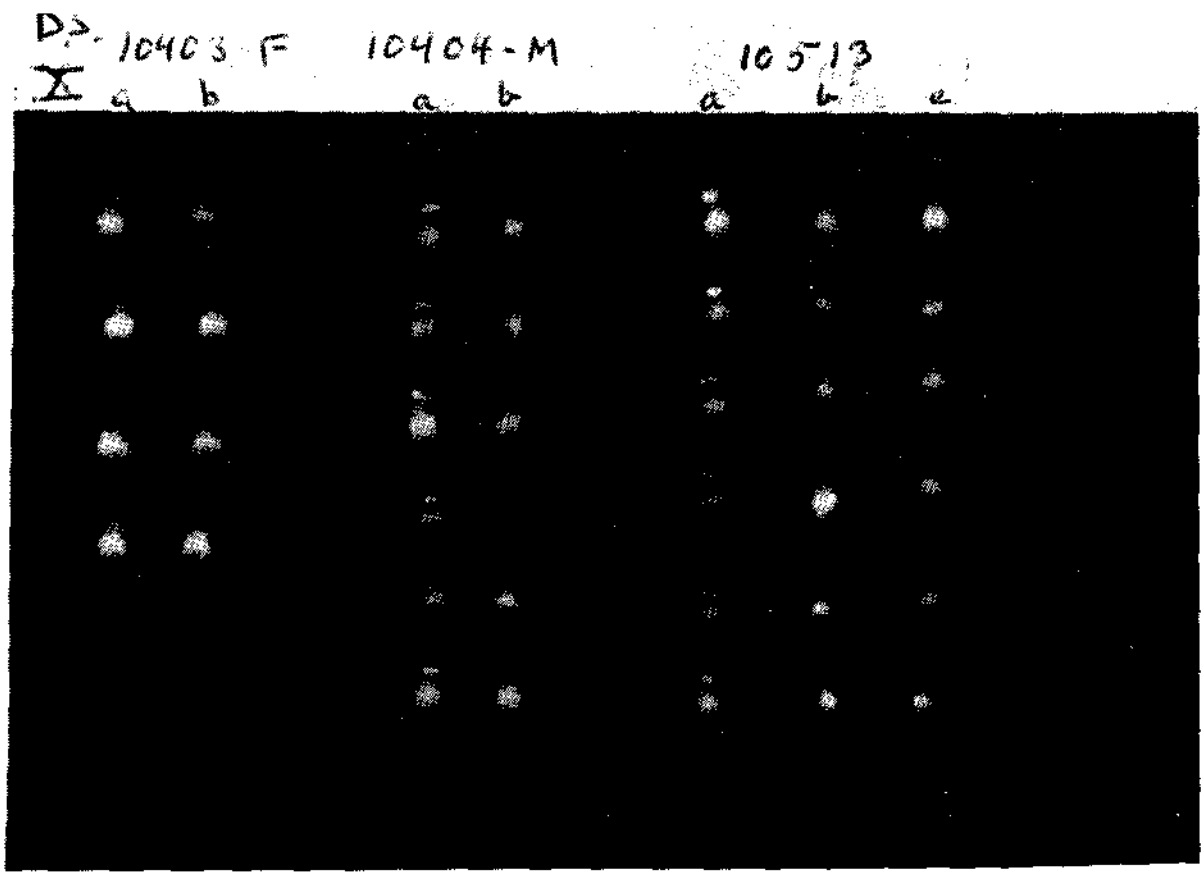
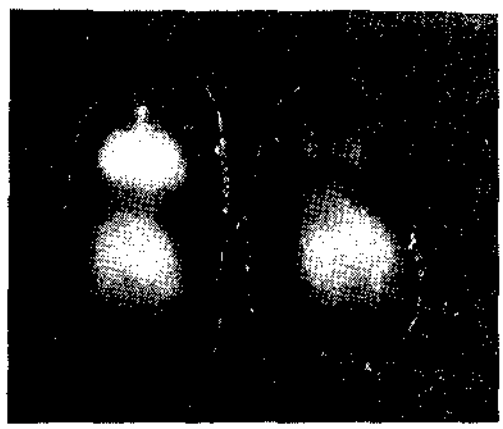


Figura II-3-B-3 – Exemplo de classificação dos cromossomos 21 paternos, maternos e do probando para a determinação da origem do cromossomo 21 em excesso. As fotografias utilizadas foram exageradamente ampliadas a título de demonstração.

Pa Pb
Cromossomos Paternos



Ma Mb
Cromossomos Maternos

PATERNO MATERNO

P a			P b			M a			M b		
braço menor	dist.	satélite	braço menor	dist.	satélite	braço menor	dist.	satélite	braço menor	dist.	satélite
I –	2	I –	I	2	M	I –	3	B+	M+	3	M

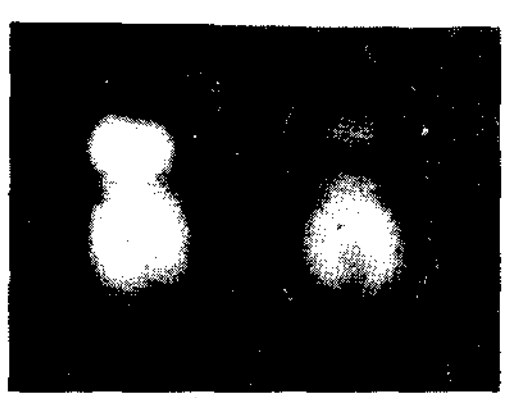
PROBANDO

braço menor	dist.	satélite
I –	2	I –
Paterno a		

braço menor	dist.	satélite	braço menor	dist.	satélite
I –	3	B+	M+	3	M
Materno a			Materno b		

PROBANDO

P a



M a M b

CONCLUSÃO: origem materna
não-disjunção – primeira divisão da meiose

Assim sendo, os cromossomos 21 paternos (a e b) e maternos (a e b) eram classificados de acordo com a intensidade de fluorescência do braço menor e dos satélites segundo as seguintes graduações.

Brilhante (B) — intensidade maior do que aquela apresentada pela porção mais brilhante do braço maior do cromossomo 21.

Intenso (I) — intensidade igual àquela apresentada pela porção mais brilhante do braço maior do cromossomo 21.

Médio (M) — intensidade menor do que aquela apresentada pela porção mais brilhante do braço maior do cromossomo 21

Pálido (P) — levemente visível.

Negativo (N) — invisível

Tais graduações poderiam por sua vez, serem acrescidas dos sinais de — ou de +.

Assim procedendo, cada cromossomo 21 era avaliado em relação à intensidade luminosa do seu próprio braço maior, eliminando portanto, possíveis causas de erro como artefatos de coloração, intensidade de coloração, tempo decorrido após a coloração da lâmina, etc.

Outro parâmetro utilizado foi a distância entre o braço menor do cromossomo 21 e o seu satélite. Em relação a este último parâmetro, chamou-se de grau 1 a ausência de distância entre o braço menor do cromossomo 21 e o seu satélite, grau 2 a existência de uma curta distância e grau 3 a presença de uma longa distância. Em resumo, os cromossomos maternos e paternos eram classificados de acordo com a intensidade luminosa do seu braço menor, de acordo com a intensidade luminosa do seu satélite, bem como, de acordo com a distância entre o braço menor do cromossomo 21 e o seu satélite (Figura II-3-B-3).

Em decorrência de tal classificação foi possível decidir-se em grande número de casos, não só a origem paterna ou materna do cromossomo 21 em excesso, mas também, se a não-disjunção responsável ocorreu na primeira ou na segunda divisão da meiose.

Assim o encontro nos probandos de três cromossomos 21 diferentes entre si, traduzia a ocorrência de uma não disjunção na primeira divisão da meiose e o encontro nos probandos de dois cromossomos 21 iguais entre si e de um diferente, traduzia a ocorrência de uma não-disjunção na segunda divisão da meiose.

II-3-C. Pesquisa de antígenos do sistema HL-A

Para a determinação dos antígenos do sistema HL-A, 20 ml de sangue periférico de cada indivíduo estudado, foi coletado em um frasco com anticoagulante (panheparin). Um total de 52 antígenos referentes aos locus A e B foram pesquizados utilizando-se a técnica de linfocitotoxidade padronizada pelo National Institute of Health-N.I.H. (TERASAKI et al., 1973). Os antisoros utilizados foram também, aqueles selecionados pelo N.I.H. juntamente com uma bateria de vários outros antisoros selecionados a partir de outras fontes.

II-4. Processamento dos dados

Os dados coletados no presente projeto foram armazenados no computador DEC SYSTEM-10 do John L. Locke Jr. Computer Center Health Sciences, University of Washington Seattle, WA, U.S.A. para serem analisados

Elaborou-se para tanto, um programa denominado ENTRY o qual permitiu a entrada de dados, através de terminais no University of Washington Hospital e no Veterans Administration Hospital onde funcionava o laboratório do Dr. FIALKOW.

Os dados armazenados através do programa ENTRY perfaziam um total de 55 variáveis dispostas como mostra o formulário II-4-1 e especificados como mostra o formulário II-4-2, constituindo assim, o banco de dados do presente trabalho. Para a análise estatística desses dados ,utilizaram-se os programas BANK e STAPACK de autoria de RIC[illegible] HOUCHARD, Western Michigan University Computer Center, Kalamazoo, MI. USA.

O programa BANK se destina a manipulação dos dados de um banco de dados permitindo a criação de novas variáveis, a combinação de variáveis a deleção e modificação de variáveis, etc. O programa STATPACK (STATICAL PACKAGE) permite a realização dos diferentes cálculos estatísticos.

FORMULÁRIO II-4-1.

Sequência de variáveis constantes do programa ENTRY, apresentadas na sua forma original.

DOWN'S SYNDROME PROJECT

IDNO ..... MOID ..... FAID ..... SEX ..... BIRTHDATE ...../...../.....
SAMID ..... TWINS ..... ALIVE/DEAD ..... DATE OF DEATH...../...../.....
CAUSE ..... DOWN'S SYNDROME ..... MAR STATUS ..... DATE...../...../.....
REMO ..... REFA ..... COOPERATION..... MATERNAL AGE GROUP .....

DISEASES

THYROID DISEASES: TYPE) ..... CONFIRMED? ..... PROGRESS .....
DIABETES MELLITUS: (TYPE) .....
ADDISON'S DISEASE: .....
NEOPLASM: (TYPE) .....
HEMATOLOGY: (TYPE) .....
MUSCLE - NERVE: (TYPE) .....
ULCERATIVE COLITIS: .....
RHEUMATOID ARTHRITIS: .....
SYSTEMIC LUPUS ERYTHEMATOSUS .....
CONG. MALFORMATIONS: (TYPE) .....
OTHER CHROMOSOMAL ABNORMALITIES: (TYPE) .....
MENTAL RETARDATION: .....
OTHER: (TYPE) .....

LAB TESTS

PREVIOUS TEST — 1 - none
2 - present
DATE BLOOD OBTAINED ...../...../.....
PREVIOUS TRCT .....
PREVIOUS TIFT .....
PRESENT CHROMOSOMAL TEST 1-none
2-present
PRESENT CHROMOSOMAL TEST RESULTS: .....
ORIGIN OF THE EXTRA CHROMOSOME 21: .....

PRESENT TEST — 1 - none
2 - present
DATE BLOOD OBTAINED...../...../.....
PRESENT TRCT .....
PRESENT TMAT .....

HL-A

LOCUS A ..... AA ..... AB
LOCUS B ..... BA ..... BB

FORMULÁRIO II-4-2.

Especificações das variáveis constantes do programa ENTRY, apresentadas na sua forma original.

DOWN'S SYNDROME PROJECT DESCRIPTION

1 - IDNO – Identification Number
2 - MOID – Mother Identification
3 - FAID – Father Identification
4 - SEX
    1 - male
    2 - female
5 - BIRTH DATE
    5 - year
    6 - month
    7 - day
8 - SAMID – Sample Identification
    1 - newborn alive
    2 - still birth
    3 - spontaneous abortion
    4 - induced abortion
    5 - death on neonatal period or during the 1st year
9 - TWIN/S
    1 - no twin
    2 - twin
    3 - identical twin
    4 - non identical twin, like sex
    5 - non identical twin, different sex
    6 - other multiple birth
    7 - some sex, identity unknown
10 ALIVE/DEAD
    1 - alive
    2 - dead
11 - DATE OF DEATH
    11 - year
    12 - month
    13 - day
14 - CAUSE OF DEATH
    1 - accident, war, suicide
    2 - stroke
    3 - heart attack
    4 - heart disease
    5 - neoplasms
    6 - infectious diseases
    7 - Immune deficiencies
    8 - other
15 - DOWN'S SYNDROME
    1 - individual with Down's Syndrome
    2 - individual without Down's Syndrome
16 - MAR STATUS – MARITAL STATUS
    1 - single
    2 - married
    3 - divorced
    4 - widowed

17 - **DATE** – DATE OF MARRIAGE OR DIVORCE
- 17 - year
- 18 - month
- 19 - day

20 - **REMO** – RELIGION OF THE MOTHER
- 1 - no religion
- 2 - protestant
- 3 - catholic
- 4 - jewish

21 - **REFA** – RELIGION OF THE FATHER
- 1 - no religion
- 2 - protestant
- 3 - catholic
- 4 - jewish

22 - COOPERATION
- 1 - individual found, questionnaire and blood obtained
- 2 - individual found, questionnaire obtained and blood refused
- 3 - individual found, not cooperative
- 4 - individual not found
- 5 - family refused individual to be contacted, too old
- 6 - family refused individual to be contacted, too ill
- 7 - family refused individual to be contacted, other reason
- 8 - too young
- 9 - dead
- 10 - unable to get blood

23 - MATERIAL AGE GROUP
- 1 - Group I (< 35 years old at the time of the birth of the Down Syndrome child)
- 2 - Group II (> 34 years old at the time of the birth of the Down Syndrome child)

24 - THYROID DISEASE
- 1 - none
- 2 - cretinism
- 3 - non-congenital hypothyroidism
- 4 - hyperthyroidism, type unknown or unspecified, Rx treatment unknown
- 5 - hyperthyroidism, type unknown or unspecified, Rx PTU (propylthiouracil), etc.
- 6 - hyperthyroidism, type unknown or unspecified, Rx treatment RAI (Radioactive iodine)
- 7 - hyperthyroidism, type unknown or unspecified, Rx treatment surgery
- 8 - Grave's disease, no pathological report
- 9 - Grave's disease, no lymphocytic infiltration
- 10 - Grave's disease, Hashimoto's thyroiditis
- 11 - Grave's disease, CLT (Chronic Lumphocytic Thyroiditis)
- 12 - Grave's disease, focal lymphocytic thyroiditis
- 13 - Grave's disease, (clinical diagnossis), Rx unknown or unspecified
- 14 - Grave's disease, (clinical diagnosis), Rx PTU
- 15 - Grave's disease, (clinical diagnosis), Rx RAI
- 16 - Toxic nodule (s), Rx unknown
- 17 - " " , No pathological report
- 18 - " " , No lymphocytic infiltration
- 19 - " " , Hashimoto's thyroiditis
- 20 - " " , CLT (Chronic Lymphocytic Thyroiditis)
- 21 - " " , focal Lymphocytic thyroiditis
- 22 - " " , Rx PTU, etc.
- 23 - " " , Rx RAI (Radioactive Iodine)
- 24 - Non-toxic goitre, surgery, path report unavailable
- 25 - " " " " , adenona
- 26 - " " " " , colloid goitre
- 27 - " " " " , Hashimoto's thyroiditis

28 - Non-toxic goitre, surgery, CLT
29 - " " " " , focal lymphocytic thyroiditis
30 - " " " " , other
31 - " " " , clinical diagnosis in past
32 - " " " " " at present
33 - Thyroid hormone treatment in past
34 - " " " now
35 - Thyroid surgery, diagnosis unknown, path report unavailable
36 - Thyroid malignancy, any type
37 - Thyroid tumor, dx unknown, Rx unknown
38 - Other

25 - CONFIRMED
1 - yes
2 - no

26 - PROGRESS
1 - unknown
2 - unchanged
3 - improuved
4 - cured
5 - deterioration
6 - death

27 - DIABETES MELITTUS
1 - none
2 - insulin-dependent, onset before age 30
3 - " " " age 30 or later
4 - " " " unknown
5 - insulin not required, Rx oral hypoglycemics, or diet only, onset before age 30
6 - insulin not required, Rx oral hypoglycemics, or diet only, onset age 30 or later
7 - diabetes present, Rx unknown, onset before age 30
8 - " " " " " age 30 or later
9 - " " " " " unknown
10 - diabetes borderline

28 - ADDISON'S DISEASE
1 - none
2 - present

29 - NEOPLASMS
1 - none
2 - acute lymphoblastic leukemia (ALL)
3 - acute myelogenous leukemia (AML)
4 - acute leukemia, type unknown or unspecified
5 - chronic lymphocytic leukemia (CLL)
6 - chronic myelocytic leukemia (CML)
7 - chronic leukemia, type unknown or unspecified
8 - Hodgkin's disease
9 - lymphoma
10 - other hematopoietic neoplasm
11 - cancer, breast
12 - " , uterus
13 - " , lung
14 - " , colon or rectum
15 - " , stomach
16 - " , bladder
17 - " , kidney
18 - " , larynx
19 - " , mouth
20 - " , skin
21 " , prostate
22 - " , spleen
23 - " , ovaries

24 - cancer, bone
25 - " , brain
26 - cancer, thyroid, type unknown or unspecified
27 " " , follincular
28 " " , papillary
29 - " " , mixed papillary and follicular
30 - " " , other
31 - " " , pancreas
32 - Pheochromocytoma
33 - testicular seminoma
34 - cancer, liver
35 " , throat
36 - " , esophagus
37 - " , other
38 - " , organ unknown

30 - HEMATOLOGY
1 - none
2 - anemia with yellow jaundice
3 - anemia without yellow jaundice
4 - anemia and taking cortisone
5 - anemia and splenectomy
6 - hemolytic anemia
7 - pernicious anemia
8 - anemia treatment with liver or vitamin B-12 injections
9 - other

31 - MUSCLE-NERVE
1 - none
2 - multiple sclerosis
3 - myasthemia gravis
4 - other

32 - ULCERATIVE COLITIS
1 - none
2 - present

33 - RHEUMATOID ARTHRITIS
1 - none
2 - present

34 - SYSTEMIC LUPUS ERYTHEMATOSUS
1 - none
2 - present

35 - CONGENITAL MALFORMATIONS
1 - none
2 - anencephaly
3 - spina bifida cystica
4 - cleft lip alone
5 - cleft palate alone
6 - cleft lip and palate
7 - club foot, bilateral or unilateral
8 - hydrocephalus
9 - congenital heart disease, incompatible with life
10 - " " " , compatible with life
11 - cerebral palsy "
12 - congenital hip dislocation
13 - multiple congenital anomalies
14 - renal defect
15 - thyroglossal cyst
16 congenital deafness
17 - others

36 – OTHER CHROMOSOMAL ABNORMALITIES

1 - none
2 - trissomie 18
3 - trissomie 13
4 - other

37 – MENTAL RETARDATION

1 - none
2 - present

38 – OTHER

1 - none
2 - rheumatic fever
3 - rheumatic fever with heart disease
4 - heart disease
5 - parkinson
6 - ankylosing spondytilis
7 - glaucoma
8 - asthma
9 - schisophrenia
10 - kidney disease
11 - conective tissue disease
12 - epilepsy
13 - liver disease
14 - other

LAB TESTS

39 – PREVIOUS TEST

1 - none
2 - present

40 – DATE BLOOD OBTAINED

40 - year
41 - month
42 - day

43 – PREVIOUS TRCT

1 - negative
2 - 5
3 - 9
4 - 27
5 - 81
6 - 243
7 - 729
8 - ≥2187
9 - cannot absorb

44 – PREVIOUS TIFT

1 - negative
2 - 10
3 - 20
4 - 100
5 - 200
6 - 400
7 - ≥400
8 - ANF
9 - mitochondrial

45 – PRESENT TEST

1 - none
2 - present

46 – DATE BLOOD OBTAINED

46 - year
47 - month
48 - day

49 – PRESENTE TRCT

1 - negative
2 - 5
3 - 9
4 - 27
5 - 81
6 - 243
7 - 729
8 - 2187
9 - cannot absorb

50 – PRESENT TMAT

1 - negative
2 - 1:100
3 - 1:400
4 - 1:1600
5 - 1:25,600
6 - 1:25,600

51 – PRESENT CHROMOSOMAL TEST

1 - none
2 - present

52 – PRESENT CHROMOSOMAL TEST RESULT

1 - normal
2 - trisomy 21
3 - translocation G/G
4 - translocation D/G
5 - mosaicism
6 - poor harvest
7 - other

53 – ORIGIN OF THE EXTRA CHROMOSOME 21

1 - no decision
2 - maternal (I or II)
3 - paternal (I or II)
4 - maternal I
5 - maternal II
6 - maternal I
7 - paternal II

54 – HL–A LOCUS A

AA
BA

55 – HL–A LOCUS B

BA
BB

Por se tratar de um estudo de famílias onde cada membro deveria ser identificado quanto ao seu grau de parentesco em relação ao probando, um programa especial foi desenvolvido no Division of Medical Genetics, University of Washington, Seattle, WA, USA, com a finalidade de se atender a esta necessidade. Tal programa denominado REL * permite a partir de um probando, a identificação de todos os seus parentes.

Assim sendo, os dados coletados no presente trabalho foram armazenados no computador através do programa ENTRY e analisados estatisticamente com o auxílio dos programas BANK, STATPACK e REL.

Na análise dos dados, verificou-se inicialmente os resultados dos testes para a investigação da presença de autoimunidade (TRCT, IFT, TMAT).

Numa primeira etapa os resultados de tais testes foram analisados para o total da amostra, de acordo com a posição de cada indivíduo na família (pai, mãe, probando, irmãos). Assim sendo, procurou-se verificar o número de indivíduos testados como positivos no Teste Anterior (realizado por FIALKOW et al., 1971) e no Teste Atual (realizado no presente trabalho).

A seguir entre os indivíduos pertencentes ao Estudo I, selecionou-se somente aqueles que haviam sido testados no Teste Anterior e também, no Teste Atual para constituirem uma amostra de indivíduos que se chamou de Duplamente Testados, ou seja, testado duas vezes com intervalo de aproximadamente 10 anos.

Na análise dos resultados do estudo cromossômico e do estudo do HL-A, levou se em consideração a idade materna à época do nascimento do probando e a presença ou ausência de anticorpos antitireoidianos nos indivíduos estudados.

A idade materna de 35 anos à época do nascimento do probando foi considerada limite. As mães com idade menor do que 35 anos foram consideradas jovens e pertencentes a um mesmo grupo, o qual foi denominado Grupo I. As mães com idade igual ou superior a 35 anos foram consideradas idosas e também, neste caso, pertencentes a um mesmo grupo denominado Grupo II. Em decorrência desta classificação das mães, os demais elementos da família, para efeito de análise, passaram a ser também, reunidos em Grupos I e II de acordo com o grupo etário materno.

A autoimunidade, detectada no Teste Anterior ou no Teste Atual, foi considerada presente nos indivíduos que apresentavam pelo menos um resultado positivo em qualquer um destes testes (Resultado Combinado). Assim, na análise dos resultados do estudo cromossômico e do estudo do HL-A levou se em consideração o Resultado Combinado dos testes de anticorpos antitireoidianos, considerando-se os indivíduos como sendo positivos ou negativos.

As frequências dos antígenos do sistema HL-A nos indivíduos pertencentes aos grupos I e II e também, no total (grupo I + grupo II) foram verificadas em cada categoria (pai, mãe, probando e irmãos) e comparadas a uma amostra controle. Como amostra controle utilizou-se um grupo de 419 indivíduos normais, caucasoides, não descendentes de Mexicanos ou de outros Hispanoamericanos, estudantes da University of California, UCLA em Los Angeles, CA, USA, os quais foram sendo tipados pelo mesmo laboratório, simultaneamente com os componentes da amostra do presente trabalho. Na comparação dos dados referentes à frequência dos antígenos, para cada antígeno utilizou-se um teste de qui-quadrado para duas variáveis independentes. O significado estatístico foi avaliado e o seu resultado corrigido em relação ao número de variáveis (antígenos). A correção foi feita multiplicando-se o valor obtido para a probabilidade do qui-quadrado (p) pelo número 52, ou seja, pelo número de antígenos pesquisados (CHOPRA et al., 1977).

* O programa REL foi elaborado pelos senhores ROBERT COTTINGHAN e JOE FELSENSTEIN ambos pertencentes ao Division of Medical Genetics, University of Washington, Seattle, WA, USA.

III — RESULTADOS

III 1 — A amostra coletada

Os resultados do Estudo I e Estudo II quanto ao número de pessoas sobre as quais foi possível obter-se algum tipo de informação encontram-se dispostos na tabela III-1-1. No concernente ao número de pessoas investigadas laboratorialmente, a tabela III-1-2 mostra os resultados obtidos de acordo com o grau de parentesco de cada membro da família em relação ao probando. O número total de exames realizados foi de 1740 sendo 500 "Tanned red cell haemagglutination tests" (TRCT), 500 "Thyroid microsomal antibodies test" (TMAT), 498 testes para a pesquisa de antígenos do sistema HL-A e 242 cariótipos. Os resultados em porcentagem foram calculados em relação ao número total de indivíduos existentes para cada grau de parentesco. Assim sendo, verificou-se que dos 131 indivíduos portadores da Síndrome de Down, investigados no presente trabalho, 81% puderam ser testados laboratorialmente. Entre as suas mães tal porcentagem foi de 98%, verificando-se, entretanto, um menor percentual entre os irmãos (44%) e as irmãs (58%) dos probandos.

III-2 — Pesquisa de Anticorpos Antitireoidianos

Os resultados da pesquisa de anticorpos antitireoidianos realizados no total da amostra de 130 famílias, levando-se em consideração o Teste Anterior e o Teste Atual, bem como, o Resultado Combinado desses dois testes encontram-se distribuídos na tabela III-2-1.

Os resultados obtidos em relação ao grupo de indivíduos Duplamente Testados, ou seja, aqueles que foram anteriormente testados por FIALKOW et al. (1971) e também, no presente trabalho, encontram-se reunidos na tabela III-2-2.

Em relação aos diferentes membros das famílias que tiveram o seu teste de autoimunidade atual, em discordância com o teste anterior, a coluna Δ mostra a resultante para o total de indivíduos em cada categoria. Assim entre 79 probandos duplamente testados, o número de indivíduos que se tornaram positivos foi maior do que o número de indivíduos que se negativaram, havendo, dessa maneira no total da amostra, um saldo positivo de 17 para os que se positivaram. O mesmo saldo com um número maior de positivos, verificou-se no caso dos pais (+ 2) e dos irmãos (+ 2) dos probandos. Entretanto, em relação às mães (— 4) e as irmãs (— 5) dos probandos, encontrou-se um maior número de indivíduos que se negativaram no segundo exame.

TABELA III-1-1 — Número de indivíduos no Estudo I e Estudo II sobre os quais foi possível obter-se algum tipo de Informação

	Estudo I	Estudo II	Total
Número de Famílias	95	35	130
Probandos (Downs)	96	35	131
Pais	95	35	130
Mães	95	35	130
Irmãos	137	50	187
Irmãs	107	28	135
Irmãos sem sexo assinalado	62	21	83
Irmãos Paternos	152	67	219
Irmãs Paternas	145	61	206
Irmãos Paternos sem sexo assinalado	7	0	7
Irmãos Maternos	159	66	225
Irmãs Maternas	149	55	204
Irmãos Maternos sem sexo assinalado	26	1	27

TABELA III-1.2 – Número de indivíduos investigados laboratorialmente no Estudo I, Estudo II e no total da amostra. Entre parêntesis os valores em porcentagem, calculados em relação ao total de indivíduos existentes em cada categoria

	Estudo I	(%)	Estudo II	(%)	Total	(%)
Probandos	88	(92)	18	(51)	106	(81)
Pais	77	(81)	28	(80)	103	(81)
Mães	93	(98)	35	(100)	128	(98)
Irmãos	76	(55)	7	(14)	83	(44)
Irmãs	73	(68)	5	(18)	78	(58)
Total	407		93		500	

TABELA III-2.1 – Resultados da pesquisa de anticorpos antitireoidianos realizada no total da amostra de 130 famílias, levando-se em consideração o grau de parentesco dos indivíduos testados e a época de realização do teste.

	Teste Anterior		Teste Atual	
	Total	Positivo %	Total	Positivo %
Probandos	79	21.5	106	40.6
Mães	93	31.2	128	23.4
Pais	79	7.6	105	8.6
Irmãos	57	3.5	83	6.0
Irmãs	59	10.2	78	9.0

TABELA III-2.2 – Resultados da pesquisa de anticorpos antitireoidianos realizada em uma amostra de indivíduos Duplamente Testados, ou seja, por FIALKOW et. al. (1971) (Teste Anterior) e no presente trabalho (Teste Atual). A coluna Δ indica o número e o percentual de indivíduos que tiveram o resultado do seu Teste Atual alterado em relação ao resultado do seu Teste Anterior.

	Total Teste Anterior			Teste Atual		Resultado Combinado		Δ	
Probandos	78	(17)	21.8%	(34)	43.6%	(40)	51.3%	(+ 17)	21.8%
Mães	92	(28)	30.4%	(23)	25.0%	(34)	36.9%	(– 5)	5.4%
Pais	73	(5)	6.8%	(7)	9.6%	(8)	10.9%	(+ 2)	2.7%
Irmãos	42	(1)	2.4%	(3)	7.1%	(4)	9.5%	(+ 2)	4.8%
Irmãs	47	(6)	12.8%	(1)	2.1%	(6)	12.8%	(– 5)	10.6%

A amostra de indivíduos Duplamente Testados, utilizada na tabela anterior, foi também, analisada de acordo com o grupo etário materno (Grupo I e Grupo II) como mostram os dados da Tabela III-2.3.

III-3 – Estudo cromossômico

O estudo cromossômico abrangeu 87 famílias de portadores da Síndrome de Down, sendo que uma delas apresentava 2 filhos afetados. Entre as famílias estudadas, 27 não puderam ser analisadas visto estarem incompletas por morte ou não cooperação de um de seus membros (pai, mãe ou probando). Em quatro famílias a má qualidade das culturas obtidas ou o encontro de mosaicos, não permitiu a análise. Em cinco famílias verificou-se a presença de translocações do tipo DeNovo sendo 1 G/G (21/21) e 4 D/G (14/21; 14/21, 14/21, 15/21). Assim sendo um total de 60 famílias perfazendo 61 probandos foram analisadas a fim de se decidir a origem do cromossomo 21 em excesso no probando.

Em 24 casos não foi possível decidir-se a origem do cromossomo 21 em excesso, tendo em vista a ausência de marcadores paternos e / ou maternos adequados, a qualidade técnica dos cromossomos obtidos, o padrão das fotografias, etc. Assim, em 36 casos (36/60 = 60%) a origem do cromossomo 21 em excesso nos probandos foi identificada, sendo que em 27 casos a origem foi materna e em 9 casos, paterna. No concernente a identificação da origem da não-disjunção em relação a primeira ou segunda divisão da meiose, em um caso apesar de se identificar a origem materna da não-disjunção, não foi possível decidir-se a divisão da meiose em que ela ocorreu.

TABELA III-2.3 — Resultados da pesquisa de anticorpos antitireoidianos realizada nos indivíduos Duplamente Testados, levando-se em conta a idade materna à época do nascimento do probando (Grupo I ou Grupo II).

	Total		Teste Anterior		Teste Atual		Resultado Combinado	
	Grupo I	Grupo II	Grupo I	Grupo II	Grupo I	Grupo II	Grupo I	Grupo II
Probandos	(49)	(29)	26.0%	13.8%	40.1%	48.3%	53.1%	48.3%
Mães	(59)	(33)	30.5%	30.3%	25.4%	24.2%	37.3%	36.4%
Pais	(50	(23)	2.0%	17.4%	2.0%	26.1%	4.0%	26.1%
Irmãos	(29)	(13)	0.0%	7.7%	6.9%	7.7%	6.9%	15.4%
Irmãs	(33)	(14)	12.0%	14.3%	3.0%	0.0%	12.0%	14.3%

Os dados dispostos na tabela III-3.1 mostram a origem da não-disjunção do cromossomo 21, em 35 casos de portadores da Síndrome de Down

Levando-se em consideração a origem materna (M1 primeira divisão da meiose ou M2 segunda divisão da meiose) ou paterna (P1 primeira divisão da meiose ou P2 segunda divisão da meiose) do cromossomo 21 em excesso, bem como, a idade materna do nascimento dos probandos (Grupo I ou Grupo II), construiu-se a tabela III-3.2.

Considerando os Resultados Combinados dos testes para anticorpos antitireoidianos nas mães dos probandos, bem como a origem do cromossomo 21 em excesso nos probandos, construiu-se a tabela III-3.3.

III-4 — A pesquisa de antígenos do sistema HL-A.

A freqüência em procentagem dos antígenos referentes aos locus A e B do Sistema HL-A nos indivíduos portadores da Síndrome de Down nos seus pais, nas suas mães e nos seus irmãos, de acordo com o grupo etário bem como, a freqüência em porcentagem desses antígenos em 419 indivíduos controles, encontram-se dispostas nas tabelas III-4.1 até III-4.8.

TABELA III-3.1 — Origem da não-disjunção do cromossomo 21 em 35 indivíduos portadores da Síndrome de Down.

Meiose	Materna	Paterna	Total
I	(77%) 20	(56%) 5	(71%) 25
II	(23%) 6	(44%) 4	(29%) 10
Total	**26 (74%)**	**9 (26%)**	**35**

TABELA III-3.2 — Origem (paterna ou materna) da não-disjunção do cromossomo 21 levando-se em conta a fase da meiose e a idade materna à época do nascimento do probando Grupo I e Grupo II).

	Meiose				
Mães	M1	M2	P1	P2	Total
Grupo I	12	3	5	4	24
Grupo II	8	3	0	0	11
Total	20	6	5	4	35

TABELA III-3.3 – Origem da não-disjunção do cromossomo 21 e Resultados Combinados dos testes de autoimunidade nas mães dos probandos (R.C.M.).

	Meiose				
R.C.M	M1	M2	P1	P2	Total
Positivo	4	3	3	1	11
Negativo	10	2	2	2	17
Total	14	5	5	4	28

TABELA III-4.1 – Freqüência em procentagem dos antígenos do sistema HL-A, locus A, em indivíduos portadores da Síndrome de Down (Grupo I e Grupo II) e no total da amostra, comparada a um grupo controle.

Antígenos	Controles (419)	Total (106)	Grupo I (63)	Grupo II (43)
A1	27.68	33.02	34.92	30.23
A2	48.93	51.89	52.38	51.16
A3	25.30	25.47	20.63	32.56
A9	0.00	–	–	–
A10	0.00	–	–	–
A11	12.41	11.32	14.29	6.98
A25	3.82	2.83	3.17	2.33
A26	9.55	3.77	4.76	2.33
A28	7.40	11.32	11.11	11.63
A29	5.97	3.77	4.76	2.33
AW19	0.00	–	–	–
AW23	3.34	1.89	3.17	–
Aw24	14.32	23.58	17.46	32.56
AW30	3.82	3.77	3.17	4.56
AW31	6.68	3.77	4.76	2.33
AW32	9.79	5.66	3.17	9.30
AW33	2.39	1.89	3.17	–
AW34	0.00	1.89	1.59	2.33
AW36	0.00	–	–	–
AW43	0.00	–	–	–

TABELA III-4.2 – Freqüência em porcentagem dos antígenos do sistema HL-A, locus B, em indivíduos portadores da Síndrome de Down (Grupo I e Grupo II) e no total da amostra, comparada a um grupo controle.

Antígenos	Controles	Total	Grupo I	Grupo II
	(419)	(106)	(63)	(43)
B5	0.24	0.94	59	–
B7	22.91	23.58	23.81	23.26
B8	18.85	26.42	26.98	25.58
B12	6.44	24.28	28.57	18.60
B13	5.01	7.55	4.76	11.63
B14	7.64	5.66	6.35	4.65
B15	11.22	15.09	19.05	9.30
B17	9.07	4.72	7.94	–
B18	6.68	7.55	6.35	9.30
B27	8.11	13.21	12.70	13.95
B37	2.63	1.89	3.17	–
B40	11.46	12.26	14.29	9.30
BW16	0.00	–	–	–
BW21	0.95	–	–	–
BW 22	0.24	–	–	–
BW35	20.29	16.98	14.29	20.93
BW38	5.01	5.66	6.35	4.65
BW39	3.58	2.83	1.59	4.65
BW41	0.24	–	–	–
BW42	0.00	–	–	–
BW44	20.53	4.72	–	11.63
BW45	0.95	–	–	–
BW46	0.00	–	–	–
BW47	0.00	–	–	–
BW48	0.00	–	–	–
BW49	2.39	–	–	–
BW50	1.67	0.94	1.59	–
BW51	10.26	6 60	6.35	6.98
BW52	1.91	0 94	1.59	–
BW53	0.00	–	–	–
BW54	5 97	1.89	1.59	2.33
BW55	0.00	–	–	–

TABELA III-4.3 – Freqüência em porcentagem dos antígenos do sistema HL-A, locus A, nos pais dos indivíduos portadores da Síndrome de Down (Grupo I e Grupo II) e no total da amostra, comparada a um grupo controle.

Antígenos	Controles (419)	Total (105)	Grupo I (71)	Grupo II (34)
A1	27.68	32.40	33.80	29.41
A2	48.93	48.57	53.52	38.24
A3	25.30	31.43	29,58	35.29
A9	0.00	–	–	–
A10	0.00	–	–	–
A11	12.41	16.19	15.49	17.65
A25	3.82	2.86	1.41	5.88
A26	9.55	2.86	1.41	5.88
A28	7.40	8.57	8,45	8.82
A29	5.97	5.71	5.63	5.88
AW19	0.00	–	–	–
AW23	3.34	1.90	2.82	–
AW24	14.32	20.00	18.31	23.53
AW30	3.82	2.86	4.23	–
AW31	6.68	2.86	2.82	2.94
AW32	9.79	3.81	2.82	5.88
AW33	2.39	2.86	–	5.88
AW34	0.00	0.95	1.41	–
AW36	0.00	–	–	–
AW43	0.00	–	–	–

TABELA III-4.4 – Freqüência em porcentagem dos antígenos dos antígenos do sistema HL-A, locus B, nos pais dos indivíduos portadores da Síndrome de Down (Grupo I e Grupo II) e no total da amostra, comparada a um grupo controle.

Antígenos	Controles (419)	Total (105)	Grupo I (71)	Grupo II (34)
B5	0.24	0.95	1.41	–
B7	22.91	32.38	30.99	35.29
B8	18.85	25.71	26.76	23.53
B12	6.44	17.14	18.31	14.71
B13	5.01	3.81	2.82	5.88
B14	7.64	3.81	4.23	2.94
B15	11.22	5.71	7.04	2.94
B17	9.07	2.86	2.82	2.94
B18	6.68	7.62	9.86	2.94
B27	8.11	8.57	8.45	8.82
B37	2.63	2.86	1.41	5.88
B40	11.46	17.14	16.90	17.65
BW16	0.00	–	–	–
BW21	0.95	2.86	4.23	–
BW22	0.24	3.81	4.23	2.94
BW35	20.29	18.10	14.08	26.47
BW38	5.01	3.62	4.23	2.94
NW39	3.58	2.86	2.82	2.94
BW41	0.24	–	–	–
BW42	0.00	–	–	–
BW44	20.53	9.52	5.63	17.65
BW45	0.95	–	–	–
BW46	0.00	–	–	–
BW47	0.00	–	–	–
BW48	0.00	–	–	–
BW49	2.39	0.95	1.41	–
BW50	1.67	0.95	1.41	–
BW51	10.26	9.52	12.68	2.94
BW52	1.91	1.90	2.82	–
BW53	0.00	–	–	–
BW54	5.97	0.95	–	2.94
BW55	0.00	0.95	1.41	–

TABELA III-4.5 — Freqüência em porcentagem dos antígenos do sistema HL-A, locus A, nas mães dos indivíduos portadores da Síndrome de Down (Grupo I e Grupo II) e no total da amostra, comparada a um grupo controle.

Antígenos	Controles (419)	Total (127)	Grupo I (80)	Grupo II (47)
A1	27.68	33.86	33.75	34.04
A2	48.93	53.54	52.50	55.32
A3	25.30	17.32	17.5[illegible]	17.82
A9	0.00	—	—	—
A10	0.00	—	—	—
A11	12.41	11.81	11.25	12.77
A25	3.82	4.72	7.50	—
A26	9.55	7.09	11.25	—
A28	7.40	7.09	5.00	10.64
A29	5.97	4.72	6.25	2.13
AW19	0.00	—	—	—
AW23	3.34	5.51	6.25	4.26
AW24	14.32	14.17	8.75	23.40
AW30	3.82	5.51	3.75	8.51
AW31	6.68	7.87	7.50	8.51
AW32	9.79	4.72	3.75	6.38
AW33	2.39	3.15	3.75	2.13
AW34	0.00	0.[illegible]	1.25	—
AW36	0.00	—	—	—
AW43	0.00	—	—	—

TABELA III-4.6 — Freqüência em porcentagem dos antígenos do sistema HL-A, locus B, nas mães dos indivíduos portadores da Síndrome de Down (Grupo I e Grupo II) e no total da amostra, comparada a um grupo controle.

Antígenos	Controles (419)	Total (127)	Grupo I (80)	Grupo II (47)
B5	0.24	—	—	—
B7	22.91	21.26	17.50	27.65
b8	18.85	23.62	25.00	21.27
B12	6.44	23.62	26.25	19.44
B13	5.01	4.72	3.75	6.38
B14	7.64	7.09	7.50	6.38
B15	11.22	13.39	12.50	14.89
B17	9.07	8.66	1125	4.25
B18	6.68	9.45	10.00	8.51
B27	8.11	12.60	13.75	10.63
B[illegible]0	2.63	1.57	2.50	—
BW16	0.00	—	—	—
BW21	0.95	0.79	—	2.12
BW22	0.24	1.57	2.50	—
BW35	20.29	14.17	13.75	14.89
BW38	5.01	5.51	6.25	4.25
NW39	3.58	2.36	—	6.38
BW41	0.24	—	—	—
BW42	0.00	—	—	—
BW44	20.53	4.72	3.75	6.38
BW45	0.95	0.78	1.25	—
BW46	0.00	—	—	—
BW47	0.00	—	—	—
BW48	0.00	—	—	—
BW49	2.39	0.79	1.25	—
BW50	1.67	—	—	—
BW51	10.26	8.66	3.00	14.89
BW52	1.91	0.79	1.25	—
BW53	0.00	—	—	—
BW54	5.97	1.57	1.25	2.13
BW55	0.00	—	—	—

TABELA III.4.7 – Freqüência em porcentagem dos antígenos do sistema HL-A, locus A, nos irmãos (♂ + ♀) dos indivíduos portadores da Síndrome de Down (Grupo I e Grupo II) e no total da amostra, comparada a um grupo controle.

Antígenos	Controles (419)	Total (160)	Grupo I (99)	Grupo II (61)
A1	27.68	31.25	37.37	21.31
A2	48.93	50.00	48.48	52.46
A3	25.30	33.75	30.30	39.34
A9	0.00	–	–	–
A10	0.00	–	–	–
A11	12.41	9.38	60.61	14.75
A25	3.82	1.88	3.03	–
A26	9.55	3.13	3.03	3.28
A28	7.40	14.38	13.13	16.39
A29	5.97	7.50	9.09	4.92
AW19	0.00	–	–	–
AW23	3.34	4.38	7.07	–
AW24	14.32	20.00	15.15	27.87
AW30	3.82	1.88	2.02	1.64
AW31	6.68	3.75	4.04	3.28
AW32	9.79	3.13	4.04	1.64
AW33	2.39	1.25	2.02	–
AW34	0.00	0.63	1.01	–
AW36	0.00	–	–	–
AW43	0.00	–	–	–

TABELA III.4.8 – Freqüência em porcentagem dos antígenos do sistema HL-A, locus B, nos irmãos (♂ + ♀) dos indivíduos portadores da Síndrome de Down (Grupo I e Grupo II) e no total da amostra, comparada a um grupo controle.

Antígenos	Controles (419)	Total (160)	Grupo I (99)	Grupo II (61)
B5	0.24	0.63	1.01	–
B7	22.91	31.88	23.23	45.90
B8	18.85	23.75	26.26	19.67
B12	26.44	30.00	31.31	27.87
B13	5.01	6.25	8.08	3.28
B14	7.64	8.13	8.08	8.20
B15	11.22	12.50	14.14	9.84
B17	9.07	4.38	5.05	3.28
B18	6.68	6.88	9.09	3.28
B27	8.11	9.38	9.09	9.84
B37	2.63	2.50	3.03	1.64
B40	11.46	18.13	23.23	9.84
BW16	0.00	–	–	–
BW21	0.95	0.63	–	1.64
BW22	0.24	3.75	4.04	3.28
BW35	20.29	11.88	10.10	14.75
BW38	5.01	3.75	4.04	3.28
NW39	3.58	2.50	–	6.56
BW41	0.24	–	–	–
BW42	0.00	–	–	–
BW44	20.53	3.13	2.02	4.92
BW45	0.95	–	–	–
BW46	0.00	–	–	–
BW47	0.00	–	–	–
BW48	0.00	–	–	–
BW49	2.39	1.25	2.02	–
BW50	1.67	–	–	–
BW51	10.26	5.00	3.03	8.20
BW52	1.91	0.63	1.01	–
BW53	0.00	–	–	–
BW54	5.97	1.25	–	3.28
BW55	0.00	–	–	–

IV – DISCUSSÃO

IV.1 – Anticorpos Antitireoidianos

Como vimos anteriormente, na introdução do presente trabalho, os estudos de FIALKOW e colaboradores sugerem a existência de uma predisposição familiar à autoimunidade tireoidiana em conseqüência da qual, ou de algum fator relacionado a esta predisposição, certas mulheres seriam mais suscetíveis a terem um filho com a Síndrome de Down.

A presença de autoimunidade tireoidiana estimada a partir da pesquisa de anticorpos antitireoidianos, nos indivíduos portadores da Síndrome de Down e em seus familiares pode ser avaliada na tabela III.2.1. Nesta tabela apresenta-se os resultados do Teste Anterior e do Teste Atual para o total da amostra de 130 famílias. Deve-se ressaltar que neste caso um maior número de indivíduos possui somente o Teste Atual devido ao acréscimo das 35 famílias do Estudo II.

Quando só se leva em conta a posição dos indivíduos na família, observa-se que tanto no Teste Anterior quando no Teste Atual os probandos e suas mães são os que apresentam a maior freqüência de testes positivos. Assim sendo, verifica-se que o intervalo de tempo decorrido entre o Teste Anterior e o Teste Atual não alterou a tendência inicial observada. Entretanto, quantitativamente, os probandos aumentaram o seu percentual de resultados positivos ao passo que suas mães aparentemente diminuiram.

Para possibilitar uma análise mais apurada de uma eventual alteração dos resultados em função do tempo decorrido entre o Teste Anterior e o Teste Atual, selecionou-se somente os indivíduos que foram Duplamente Testados, ou seja, aqueles que apresentavam os resultados do Teste Anterior e do Teste Atual (Tabela III.2.2).

A diferença entre os resultados dos Testes Anterior e Atual, dispostos na coluna Δ foi calculada admitindo-se igualdade de condições na realização desses testes, bem como, igual sensibilidade dos mesmos.

Vale a pena lembrar que o teste para a pesquisa de anticorpos antitireoglobulina realizado no Teste Anterior (TRCT) e no Teste Atual foram feitos no mesmo laboratório (Serviço do Dr. FIALKOW), com a mesma técnica e até pela mesma pessoa. No concernente a pesquisa de anticorpos antimicrosoma tireoidiano, embora no Teste Anterior e no Teste Atual a mesma também tenha sido realizada no mesmo laboratório (Serviço do Dr. FIALKOW), nas mesmas condições e até pela mesma pessoa, as técnicas empregadas foram diferentes sendo que no Teste Anterior o teste utilizado foi o Immunofluorescent Test (IFT) e no Teste Atual o teste utilizado foi o Thyroid microsomal antibodies test (TMAT) como ficou dito no capítulo de Material e Métodos.

É claro que este fato poderia eventualmente explicar alguma diferença de resultado entre o Teste Anterior e o Teste Atual, entretanto vários trabalhos na literatura demonstram uma grande concordância de resultados entre o Immunofluorescent test e o Thyroid microsomal antibodies test (PERRIN e BUBEL, 1974; AMINO et. al. 1976), além do que, como foi dito anteriormente, em 23 casos testados no laboratório do Veterans Administration Hospital, Seattle, WA, USA, Serviço do Dr. FIALKOW a concordância do IFT e do TMAT foi de 100% quando o limiar de positividade para o TMAT foi considerado o título 1:100, adotado no presente trabalho. Por estas razões, considerou-se o Teste Atual e o Teste Anterior, como tendo sido realizados nas mesmas condições e apresentando o mesmo poder discriminatório.

Isto posto, verifica-se na tabela III-2.2 que 21,8% dos portadores da Síndrome de Down, testados como negativos no Teste Anterior, tornaram-se positivos no Teste Atual ($X^2_{(1)}$ corr. = 7,458; $P < 0,01$). Entre os demais familiares, as alterações observadas foram bem menores e em nenhum outro caso chegou a ser estatisticamente significativa.

O encontro simultâneo de indivíduos que se tornaram positivos no Teste Atual, bem como o encontro de indivíduos que se tornaram negativos nesse mesmo teste, reforça a hipótese de que o Teste Atual foi bastante semelhante ao Teste Anterior. Por outro lado, no concernente aos

probandos, a comparação dos resultados dos Testes Anterior e Atual evidencia claramente que durante o intervalo de tempo decorrido entre estes testes, um número significativo de probandos desenvolveu autoimunidade. Assim sendo, os dados da tabela III-2.2 permitem concluir que durante o intervalo de tempo decorrido entre o Teste Anterior e o Teste Atual, um número significativo de portadores da Síndrome de Down desenvolveu anticorpos antitireoidianos sendo que o mesmo não pode ser observado entre os seus familiares.

Na tabela III 2.3 o mesmo grupo de indivíduos Duplamente Testados foi agora subdividido de acordo com a idade materna à época do nascimento dos probandos, em Grupo I e Grupo II. Tal divisão destinou-se a averiguar a existência de alguma eventual diferença entre os grupos, no concernente à autoimunidade, tanto no Teste Anterior quanto no Teste Atual.

Os dados obtidos mostram que o aumento de resultados positivos no Teste Atual em relação ao Teste Anterior, observado nos probandos foi estatisticamente significativo entre os probandos do Grupo II, os quais passaram de 13.8% no Teste Anterior para 48.3% no Teste Atual ($X^2_{(1)}$ corr. = 6,525; P< 0,02). Entre os probandos do Grupo I, embora tenha se verificado um aumento de resultados positivos de 26.5% para 40.1% o mesmo não foi estatísticamente significativo ($X^2_{(1)}$ corr. = 1,645; P> 0,20).

Assim embora nos probandos não se tenha observado diferenças estatisticamente significativas entre os Grupos I e II, quer no Teste Anterior ($X^2_{(1)}$ corr. = 1.067; P> 0,30) quer no Teste Atual ($X^2_{(1)}$ corr. = 0,164; P > 0,50), a análise do desempenho imunológico desses indivíduos durante o intervalo de tempo decorrido entre o Teste Anterior e o Teste Atual, mostra que os indivíduos do Grupo I, em termos imunológicos se "comportaram" diferentemente dos indivíduos do Grupo II. Tal fato não pode ser observado entre os demais familiares.

Em relação aos pais dos probandos, verificou-se uma diferença entre os resultados do Grupo I (2,0%) e do Grupo II (17,4%) no Teste Anterior ($X^2_{(1)}$ corr. = 3,685; P> 0,05) sendo que tal diferença tornou-se nitidamente acentuada no Teste Atual ($X^2_{(1)}$ corr. = 7,947; P< 0,01) ou seja, após o intervalo de tempo decorrido entre os Testes Anterior e Atual.

Assim sendo, os dados da tabela III-2.3 parecem sugerir no caso dos pais e dos probandos, a existência de um comportamento autoimune diferente para os indivíduos pertencentes ao Grupo I e ao Grupo II.

IV -2 — Estudo Cromossômico

Os resultados do estudo cromossômico dispostos na tabela III-3.1 foram bastante semelhantes àqueles obtidos por outros autores e dispostos na tabela IV-2.1. Assim verificou-se no presente trabalho que 74% das não-disjunções identificadas foram de origem materna e 26% de origem paterna. No concernente à divisão da meiose (primeira ou segunda) em que ocorreu a não-disjunção, observou se que entre os casos de origem materna, aproximadamente 3/4 deles resultaram de um erro na primeira divisão da meiose. Entretanto, entre os casos de origem paterna as não-disjunções ocorreram com freqüências semelhantes na primeira (56%) e na segunda (44%) divisão da meiose.

Levando-se em conta a idade materna à época do nascimento dos probandos (Grupo I e Grupo II), a origem (materna M e paterna P) dos cromossomos em excesso nos portadores da Síndrome de Down, bem como, a divisão da meiose (1.o ou 2.o) em que ocorreu a não-disjunção, obteve-se a tabela III-3.2. Nesta tabela verificou-se que nos indivíduos do Grupo I, 62% dos cromossomos identificados foram de origem materna e 38% de origem paterna.

Entre os indivíduos do Grupo II, 100% dos cromossomos identificados foram de origem materna

TABELA IV - 2.1 – Origem (paterna ou materna) da não-disjunção do cromossomo 21 em excesso, nos portadores da Síndrome de Down.

Nº de Indivíduos estudados	Nº de Conclusões	Origem Materna Meiose I	Origem Materna Meiose II	Origem Paterna Meiose I	Origem Paterna Meiose II	Referências
6	1 (17%)	1	–	–	–	LICZNERSKI e LINDSTEIN (1972)
10	2 (20%)	1	–	–	1	PUNNETT et. al. (1973)
12	4 (33%)	4	–	–	–	ROBINSON (1973)
59	7 (12%)	–	3	–	4	BOTT et al. (1975)
32	3 (9%)	1	2	–	–	GIRAUD et al. (1975)
33	4 (12%)	1	2	–	1	(HARA e SASAKI (1975)
58	13 (22%)	5	4	2	2	MIKKELSEN et. al. (1976) HANSON e MIKKELSEN(1976)
40	23 57%)	22	–	1	–	SCHMIDT et al. (1976)
70	34 (49%)	16	6	8	4	WAGENBICHLER (1976)
42	31 (74%)	23	1	5	2	MAGENIS et al (1977)
362	122 (34%)	74(80%)	18(20%)	16(53%)	14(53%)	TOTAL
		92 (75%)		30 (25%)		

Entretanto no trabalho de MAGENIS et al. (1977), foi possível observar-se que entre 8 indivíduos do Grupo II, em dois casos (25%) os cromossomos identificados foram de origem paterna.

Infelizmente além de ser ainda reduzido o número de trabalhos sobre este assunto existentes na literatura, em muitos deles a idade materna não se encontra disponível para que os indivíduos possam ser classificados em Grupo I e Grupo II.

Assim reunindo-se os dados de MIKKELSEN et al. (1976), MAGENIS et al. (1977) e os do presente trabalho, construiu-se a tabela IV-2.2. Nesta tabela é possível verificar-se que no concernente a origem (materna ou paterna) do cromossomo 21 em excesso, os indivíduos portadores da Síndrome de Down do Grupo I, apresentam porporções (maternas 69% x paterna 31%) diferentes daquelas observadas entre os indivíduos do Grupo II (materna 90% x paterna 10%).

Embora tal diferença não seja ainda estatisticamente significativa (X^2 corr. = 2,721 $P > 0,05$), as proporções observadas são pelo menos indicativas, de que esta diferença provavelmente existe e se tornará significativa, na medida em que se dispuser de maior número de casos para serem analisados. Assim sendo, apesar da origem do cromossomo 21 em excesso, ser predominantemente materna em ambos os grupos, os probandos do Grupo II, em quase sua totalidade, receberam o cromossomo 21 extra, através de suas mães.

TABELA IV-2.2 – Origem (paterna ou materna) da não-disjunção do cromossomo 21 levando-se em conta a fase da meiose e a idade materna à época do nascimento do probando (Grupo I e Grupo II).

M1	Grupo I				M1	Grupo II				
M1	M2	P1	P2	Total	M1	M2	P1	P2	Total	REFERÊNCIAS
5	2	2	2	11	0	2	0	0	2	MIKKELSEN et. al., 1976
18	0	3	2	23	5	1	2	0	8	MAGENIS et. al., 1977
12	3	5	4	24	8	3	0	0	11	PRESENTE TRABALHO
35	5	10	8	58	13	6	2	0	21	TOTAL
(40(69%)		18(21%)			19(90%)		(2(10%)			

IV-3 – Antígenos do Sistema HL-A

A freqüência dos antígenos do sistema HL-A investigados no presente trabalho (tabelas III-4.1 a III-4.8), foram comparadas às freqüências dos antígenos de um grupo controle. Tal comparação no entanto, somente foi feita em relação aos antígenos considerados mais freqüentes, ou seja, cujas freqüências encontradas na amostra estudada, foram iguais ou superiores a 10% (tabela IV-3.1).

TABELA IV-3.1 – Comparação das freqüências em porcentagem dos antígenos do sistema HL-A (locus A e locus B) nos indivíduos portadores da Síndrome de Down e em seus familiares, com as freqüências desses antígenos encontradas em um grupo controle. Somente foram comparados os antígenos cujas freqüências encontradas na amostra estudada, foram iguais ou superior a 10%.

Antígenos	Controles	Probandos	Pais	Mães	Irmãos
Locus A	(419)	(106)	(105)	(127)	(160)
A1	27.68	33.02	32.40	33.86	31.25
A2	48.93	51.89	48.57	53.54	50.00
A3	25.30	25.47	31.43	17.32	33.75
A11	12.41	11.32	16.19	11.81	–
A28	7.40	11.32	–	–	14.38
AW24	14.32	23.58	20.00	14.17	20.00
Locus B					
B7	22.91	23.58	32.38	21.26	31.88
B8	18.85	26.42	25.71	23.62	23.75
B12	26.44	24.28	17.14	23.62	30.00
B15	11.22	15.09	–	13.39	12.50
B27	8.11	13.21	–	12.60	–
B40	11.46	12.26	17.14	15.75	18.13
BW35	20.29	26.98	18.10	14.17	11.88

Os resultados obtidos mostram que somente no caso do antígeno AW24 foi possível observar-se alguma diferença entre a amostra estudada e a amostra controle. Em relação ao antígeno AW24, os indivíduos portadores da Síndrome de Down diferiram levemente quanto a sua freqüência, dos indivíduos da amostra controle (X^2 corr. = 4,968; $P < 0,05$), entretanto tal diferença perde o seu significado quando corrigimos a probabilidade P através da multiplicação da mesma, pelo número de 52 antígenos pesquisados (CHOPRA et. al. 1977).

Assim sendo, no presente trabalho não se verificou nenhuma diferença significativa quando as freqüências dos antígenos do sistema HL-A dos indivíduos portadores da Síndrome de Down e de seus familiares, foram comparadas a um grupo controle. Tais resultados confirmam os dados de SEGAL et al. (1975), em contraste com o que foi previamente sugerido por BOXER e YOKOYAMA (1972), segundo os quais, os portadores da Síndrome de Down teriam uma certa diminuição na freqüência dos antígenos do sistema HL-A, por inibição da expressão desses mesmos antígenos.

Com o intuito de se verificar a existência de uma eventual diferença entre os indivíduos do Grupo I e os indivíduos do Grupo II, no concernente à freqüência dos antígenos do sistema HL-A, os antígenos dispostos na tabela IV-3.1 foram comparados em freqüência, nos probandos e nos seus familiares. Os resultados positivos obtidos encontram-se distribuidos na tabela IV-3.2.

Em relação à freqüência do antígeno AW24, verificou-se que as mães do Grupo I diferiram das mães do Grupo II (X^2 corr. = 4,091; $P < 0,05$). Nenhuma diferença entretanto, foi observada em relação aos pais dos probandos.

No concernente aos irmãos dos probandos, verificou-se que a freqüência do antígeno B7 encontra-se nitidamente aumentada nos indivíduos do Grupo II ($X(_1^2)$ corr. = 7,919; P< 0,01) e embora o X^2 corrigido não tenha sido significativo, diferenças puderam também ser observadas em relação às freqüências dos antígenos A1 ($X(_1^2)$ = 4,532; P< 0,05) e B40 ($X(_1^2)$= 4,564; P<0,05).

TABELA IV-3.2 — Resultados da comparação das freqüências dos antígenos do sistema HL-A nos indivíduos dos Grupos I e II. Somente foram apresentados os antígenos cujas freqüências nos indivíduos dos Grupos I e II foram diferentes.

PROBANDOS

Antígenos	Grupo I (63)	Grupo II (43)	X^2	P	X^2 corr.	P
AW24	17.46	32.56	3,232	>0,05	2,449	> 0,10

MÃES

	Grupo I (80)	Grupo II (47)	X^2	P	X^2 corr.	P
AW24	8.75	23.40	5,227	< 0,05	4,091	< 0,05

IRMÃOS

	Grupo I (99)	Grupo II (61)	X^2	P	X^2 corr.	P
A1	37.37	21.31	4,532	< 0,05	3,815	> 0,05
AW24	15.15	27.87	3,815	> 0,05	3,061	> 0,05
B7	23.23	45.90	8,932	< 0,01	7,919	< 0,01
B40	23.23	9.84	4,564	< 0,05	3,786	> 0,05

Assim sendo, o encontro de uma maior freqüência do antígeno AW24 entre as mães do Grupo II, bem como, o encontro dos antígenos B7 e mesmo A1 e B40 com freqüências diferentes entre os irmãos classificados nos Grupos I e II, sugere a existência nas mães e nos irmãos dos probandos de um desequilíbrio de ligação entre certos antígenos do sistema HL-A e o Grupo I ou II em que foram classificados esses indivíduos.

IV-4 — Autoimunidade e origem da não-disjunção do cromossomo 21 em excesso nos probandos.

Analisando-se a origem da não-disjunção do cromossomo 21 em excesso nos probandos (tabela III-3.2), verifica-se que a sua origem é predominantemente materna, principalmente nos indivíduos do Grupo II. Entretanto, quando se leva em consideração a presença ou ausência de autoimunidade materna, definida pelos resultados combinados do Teste Anterior e Teste Atual (RCM) das mães dos probandos (tabela III-3.3), as proporções (materno x paterno) observadas em mães positivas ou negativas talvez possam vir a se revelar diferentes, quando o número de dados for suficiente para uma análise estatística.

Quando se combinam os fatores idade materna (Grupo I e Grupo II), autoimunidade materna (positivas ou negativas) e origem da não-disjunção do cromossomo 21, verifica-se o disposto na tabela IV-4-1

É interessante salientar que quando se observa a origem da não-disjunção em relação a primeira ou segunda divisão da meiose (paterna ou materna), verifica-se que nos probandos cujas mães são autoimunes negativas, as proporções M1:M2 e P1:P2 se assemelham àquelas observadas nas tabelas III-3-1 e III-3-2. Entretanto, no concernente aos filhos de mães autoimunes positivas, embora se reconheça que o número de dados disponíveis é muito pequeno para qualquer conclusão, as proporções M1:M2 tendem para 1:1, como nos casos observados de origem paterna.

Os dados da tabela IV-4-1 parecem sugerir que a proporção M1:M2 não difere entre os Grupos I e II ou seja, não é alterada pela idade materna e sim pela presença ou ausência de autoimunidade materna, ao passo que a proporção P1:P2 independe tanto da idade, quanto do

estado autoimune das mães, permanecendo sempre em torno de 1:1.

TABELA IV-4.1 – Origem da não-disjunção do cromossomo 21 de acordo com a idade (Grupo I e Grupo II) e com a autoimunidade materna (positiva ou negativa).

MÃES	AUTOIMUNIDADE	M1	M2	P1	P2	TOTAL
Grupo I	–	9	1	2	3	15
Grupo I	+	3	2	3	1	9
Grupo II	–	7	2	0	0	9
Grupo II	+	1	1	0	0	2
TOTAL		20	6	5	4	35

Quando se procura definir fatores de alto risco para um casal ter um filho com a Síndrome de Down, é importante questionar-se sobre o mecanismo de ação desses fatores. Assim o encontro de uma maior incidência da Síndrome de Down na prole de determinado tipo de casal, poderia ser explicado pela presença de fatores que levariam a um aumento da freqüência das não-disjunções, paternas ou maternas, ou seja, um aumento na "produção" de indivíduos portadores da trissomia do cromossomo 21. Por outro lado, se se aceitar a existência nas mulheres, de um mecanismo de "vigilância imunológica" que as permitam reconhecer a gestação de um concepto portador de uma aberração cromossômica, seria válido também, pensar na existência de fatores que agiriam impedindo ou dificultando este reconhecimento imunológico materno.

Dessa maneira, enquanto no primeiro caso ter-se-ia um aumento na produção de gametas anômalos, aumentando portanto, a chance de ser gerado um concepto com aberração cromossômica, no segundo caso ter-se-ia uma diminuição de uma eventual reação imunológica materna, contra embriões ou fetos anômalos aumentando-se assim a chance dessas mulheres levarem a termo a gestação de um filho anômalo.

Como vimos na tabela 1-1, aproximadamente 50% dos abortamentos espontâneos apresentam uma aberração cromossômica, sendo em torno de 25% aqueles que apresentam uma trissomia. Os dados da tabela I 3 mostram que aparentemente, quanto mais séria for a aberração cromossômica, maior será a chance de seus portadores serem eliminados em fases precoces da gestação.

No caso das trissomias, a freqüência observada em abortamentos espontâneos é 86 vezes maior do que aquela observada entre recém nascidos vivos. Entretanto, ainda não se sabe ao certo se o concepto anômalo é eliminado precocemente por apresentar morte intrautetina decorrente de sua constituição cromossômica, ou se existe um processo ativo de reconhecimento imunológico materno, que acarreta a sua eliminação.

A título de especulação pode-se pensar que a presença de autoimunidade em grande número de mães dos indivíduos portadores da Síndrome de Down, seja talvez sugestivo de que essas mulheres apresentam um certo "desarranjo" no seu sistema imunológico, o qual da mesma maneira que leva tais mulheres a reconhecerem erroneamente suas próprias células, poderia eventualmente confundir-lhes ou dificultar-lhes o reconhecimento de um concepto anômalo.

É interessante notar que no presente trabalho os dados da tabela IV-4-1, embora evidentemente insuficientes para conclusões definitivas, parecem sugerir que a presença de autoimunidade materna acarreta uma "acasualização" da origem detectada da não-disjunção cromossômica, ou seja, as proporções M1: M2: P1: P2 são mais semelhantes entre si do que as mesmas proporções observadas entre os probandos cujas mães são autoimunes negativas. Assim, enquanto nestes últimos o que se observa é um nítido predomínio de não-disjunções ocorridas na primeira divisão da meiose materna, entre os probandos filhos de mulheres com autoimunidade tal predomínio aparentemente desaparece.

IV-5 — Considerações finais

1 — No presente trabalho quando os probandos e os seus familiares foram divididos em Grupo I e Grupo II, de acordo com a idade de suas mães à época dos seus nascimentos, verificou-se que no concernente aos exames realizados, os indivíduos do Grupo I nem sempre apresentaram resultados semelhantes aos indivíduos do Grupo II. Assim em relação à pesquisa de autoimunidade tireoidiana (Teste Anterior e Atual) os probandos e os seus pais se "comportaram" imunologicamente de maneira diferente quando os respectivos Grupos I e II foram comparados entre si. No concernente ao estudo cromossômico, apesar da origem do cromossomo 21 em excesso ser predominantemente materna, tanto nos probandos do Grupo I quanto naqueles do Grupo II, nestes últimos a proporção de origem materna sobre origem paterna foi bem mais acentuada do que aquela verificada nos indivíduos do Grupo I.

Finalmente, em relação à pesquisa de antígenos do sistema HL-A verificou-se que as mães pertencentes ao Grupo II, apresentaram uma freqüência do Antígeno AW24 estatisticamente diferente daquela observada nas mães do Grupo I. Fato semelhante foi observado em relação aos irmãos dos probandos no concernente ao antígeno B7.

Assim sendo, tendo em vista os achados acima citados, cabe perguntar se as diferenças observadas entre os indivíduos dos Grupos I e II poderiam ser explicadas somente com base na diferença de idade materna que definiu estes Grupos, ou se os Grupos I e II poderiam ser também definidos concomitantemente por outros fatores, que não somente a idade materna.

2 — A freqüência das não-disjunções (materna x paterna) identificados no presente trabalho, parece depender primeiramente da idade materna (Grupo I e Grupo II), entretanto, entre os indivíduos do Grupo I, tal freqüência parece estar relacionada à presença ou ausência de autoimunidade materna, sendo que entre as mães autoimunes positivas as proporções (materno x paterno) se assemelham a 1:1. No concernente à divisão da meiose em que ocorreu a não-disjunção (primeira x segunda) a proporção M1: M2 não parece ser alterada pela idade materna (Grupo I e Grupo II), mas sim, pela presença ou ausência de autoimunidade tireoidiana materna, ao passo que as proporções P1: P2 parecem ser independentes tanto do fator idade quando do fator autoimunidade materna.

Diante dos achados do presente trabalho, torna-se bastante desejável um aumento amostral que permita conclusões definitivas, bem como, a repetição deste estudo em familiares de portadores da trissomia do cromossomo 21, eliminados sob a forma de abortamento espontâneo.

RESUMO

O presente trabalho é o resultado de uma reinvestigação clínica e laboratorial realizada em 95 famílias de portadores da Síndrome de Down, estudadas por FIALKOW e colaboradores há aproximadamente 10 anos e mais a investigação de 35 novas famílias.

Em cada família os seus membros (pai, mãe, probando e irmãos) foram, sempre que possível, testados quanto a presença de anticorpos antitireoglobulina (Tanned Red Cell Haemagglutination Test-TRCT) e anticorpos antimicrosomatireoidianos (Thyroid Microsomal Antibodies Test - TMAT).

Concomitantemente, tais indivíduos foram tipados em relação a 55 antígenos (Locus A e Locus B) do Sistema HL-A (Human Leukocytes Antigens) e em 87 famílias os probandos e os seus pais foram cariotipados a fim de se verificar a origem do cromossomo 21 em excesso, nos portadores da Síndrome de Down.

De acordo com a idade materna à época do nascimento dos probandos (menor que 35 anos = Grupo I; maior ou igual a 35 anos = Grupo II, as famílias e consequentemente, todos os seus membros, foram classificados em Grupo I e Grupo II.

As frequências dos antígenos do sistema HL-A nos probandos e em seus familiares (pai, mãe e irmãos) foram comparados a um grupo controle, não tendo sido encontrada diferenças significativas. Entretanto, quando os indivíduos do Grupo I foram comparados àqueles do Grupo II em cada categoria (probando, pai, mãe e irmãos), verificou-se que o antígeno HL-A AW24 foi mais frequente ($X_{(1)}$ corr. = 4,091; $P < 0,05$) nas mães do Grupo II (23,40%) do que naquelas do Grupo I (8,75%). Diferenças foram também observadas nos irmãos dos probandos ($X_{(1)}$ corr. = 7,919; $P < 0,01$) em relação ao antígeno B7 (Grupo I = 23,23% e Grupo II = 45,90%).

Para análise dos resultados dos testes autoimunes levou-se em consideração somente os indivíduos que tinham sido testados anteriormente por FIALKOW e colaboradores e também, o foram no presente trabalho (Duplamente Testados). Assim sendo, os resultados dos testes tireoidianos realizados por FIALKOW e colaboradores (Tanned Red Cell Haemagglutination Test – TRCT) e (Immunofluorescent Test - IFT) foram combinados entre si e denominados Teste Anterior. Da mesma maneira os resultados dos testes TRCT e TMAT realizados no presente trabalho, foram também, combinados entre si e denominados Teste Atual.

Os indivíduos considerados Teste Atual positivos foram aqueles que apresentavam pelo menos um resultado positivo nos dois testes componentes do Teste Atual. Igual critério foi adotado em relação ao Teste Anterior.

Dessa forma, verificou-se que 21,08% dos probandos, tornaram-se positivos no Teste Atual, sendo que quando os probandos do Grupo I foram comparados aos probandos do Grupo II verificou-se que no Grupo II, um número significativamente maior de probandos se positivaram no Teste Atual ($X_{(1)}$ corr. = 6,525; $P < 0,02$).

No concernente aos pais dos probandos os resultados do Teste Atual foram significativamente diferentes entre os indivíduos dos Grupos I e II ($X_{(1)}^2$ corr. = 7,947; $P < 0,01$).

Os resultados dos exames cromossômicos, foram suficientes para se decidir quanto a origem do cromossomo 21 em excesso nos probandos, em 35 casos. Assim verificou-se uma origem materna em 74% dos casos e uma origem paterna em 26%.

Quando se levou em consideração a divisão da meiose em que ocorreu a não-disjunção, verificou-se que entre aquelas de origem materna (M1 ou M2) a grande maioria das não-disjunções ocorreu na primeira divisão (77%) sendo que entre aqueles de origem paterna (P1 ou P2) as proporções observadas foram muito semelhantes na primeira (56%) e na segunda divisão (44%).

Também, em relação a origem dos cromossomo 21, comparou-se os probandos dos Grupos I e II e verificou-se que naqueles do Grupo II todos os casos (11) foram de origem

materna, sendo que no Grupo I 62% foram de origem materna e 38% de origem paterna.

Assim sendo, tendo em vista algumas diferenças observadas entre os indivíduos dos Grupos I e II no concernente aos exames laboratoriais realizados, questiona-se no presente trabalho, se tais diferenças poderiam ser totalmente explicadas pela diferença de idade materna que definiu estes Grupos ou se tais Grupos poderiam ser concomitantemente definidos por outros fatores, que não só a idade materna à época do nascimento dos probandos.

Levando-se em consideração a origem da não-disjunção do cromossomo 21, bem como, a idade materna à época do nascimento do probando (Grupo I ou Grupo II) e ainda o resultado combinado do Teste Anterior e do Teste Atual, verificou-se que embora os números sejam insuficientes para conclusões definitivas, os resultados observados entre os probandos filhos de mulheres autoimunes positivas, são sugestivos de que neste grupo de indivíduos as não-disjunções observadas ocorreram ao acaso, visto que, as proporções M1: M2: P1: P2, são muito semelhantes entre si.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AARSKOG, D — Autoimune thyroid disease in children with mongolism, Arch, Dis. Childd., 44: 454, 1969

AMINO, N., HAGEN, S.R., YAMADA, N. e REFETOFF, S. — Measurement of circulating thyroid microsomal antibodies by the tanned red cell haemagglutination technique: its usefulness in the diagnosis of [illegible] thyroid diseases. Clinical Endocrinology, 5: 115-125, 1976.

ARENA, J. F. P. — Estudo Clínico Epidemiológido Prospectivo das Anomalias Congênitas na População de Campinas, SP. Tese de Doutoramento, Faculdade de Ciências Médicas da UNICAMP, 1974, 229p

BENDA, C.E — Prenatal maternal factors in mongolism. J. A. M. A., 139: 979, 1949.

BOTT, C.E., SEKHON, G. S. e LUBS, H.A., — Unexpected high frequency of paternal origin of trisomy 21 Am Soc of Hum. Genet. 27th Annual Meeting, Baltimore, Maryland, Oct. 8-11 (1975).

BOUÉ, J., BOUÉ, A. e LAZAR, P. — Retrospective and prospective epidemiological studies of 1500 karyotyped spontaneous human abortions. Teratology 12: 11-26, 1975.

BOXER, L.A. e YOKOYAMA, M. — Lymphocyte antigens in patients with Down's syndrome. Vox Sang. (Basel) 22: 539-543, 1972.

CASPERSON, T., HULTEN, M., LINDSTEM, J. e ZECH, L. — Distinction between extra G-like chromosomes by quinacrine mustard fluorescense analysis. Exp. Cell Res., 63: 240-243, 1970.

CASPERSON, T., LOMAKKA, G. e ZECH, L. — The 24 fluorescence patterns of the human mataphase chromosomes-distinguishing characters and variability. Hereditas, 67: 89-102, 1971.

CHOPRA, I.J., SOLOMON, D.H., CHOPRA, U., YOSHIHARA, E., TERASAKI, P.I. e SMITH, F. Abnormalities in thyroid function in relatives of patients with Grave's Disease and Hashimoto's Thyroiditis: Lack of correlation with inheritance of HLA-B8. J. Clin. Endocrinol. Metab. 42: 778, 1977.

COPPEM, A. e COWIE, V — Maternal health and mongolism. Brit. med. J., 1: 1843, 1960.

CREASY, M.R., CROLLA, J.A. e ALBERMAN, E.D — A cytogenetic study of human spontaneous abortions using banding techniques. Hum. Genet. 31: 177-96, 1976.

DALLAIRE, L. e KINGSMILL-FLYNN, D. — Auto-immunité de la thyroide et aberrations chromossomiques. L'Union Méd du Canada 96: 1371-1375, 1967.

DAUSSET, J., DEGOS, L. e HORS, J. — The association of the HL-A antigens with diseases. Clin. Immunol. and Immunopathology 3: 127-149, 1974

DOWN, J.L.H. — Observations on an ethnic classification of idiots. Clinical Lecture Reports, London Hospital, 3: 259, 1866

EK, J.I. — Thyroid function in mothers of mongoloid infants. Acta paediat., 48: 33, 1959.

EMANUEL, I., SEVER, L.E., MILHAM, S. Jr. e THULINE, H. — accelerated aging in young mothers of children with Down's syndrome. Lancet II: 361-363, 1972.

ENGELBERTH, O., JEZKOVA, Z e BELIKOVOVA H. — Incidence of antibodies, diabets and lymphoma in conditions caused by chromosomal disorders. Sborn. Lék. 71: 123-130, 1969.

FIALKOW, P.J. — Autoimmunity: a predisposing factor to chromosomal aberrations? Lancet I: 474-475, 1964

FIALKOW, P.J., HECHT, F., BRYANT, J. e MOTULSKY, A.G. — Familial predisposition to chromosomal aberrations. Clin. Res. 13:124, 1965a.

FIALKOW, P.J., UCHIDA, I.A., HECHT, F. e MOTULSKY, A.G. — Increased frequency of thyroid autoantibodies in mothers of patients with Dow's syndrome. Lancet II: 868-870, 1965b.

FIALKOW, P.J. UCHIDA, I.A., HECHT, F. e MOTULSKY, A.G. — Incresead frequency of thyroid autoantibodies in mothers of patients with Down's syndrome. Lancet II: 868-870, 1965b.

FIALKOW, P.J. — Thyroid antibodies, Down's Syndrome, and maternal age. Nature 214: 1253-1254, 1967.

FIALKOW, P.J. e UCHIDA, I.A. — Autoantibodies in Down's syndrome and gonadal dysgenesis. Ann. of the N. York Acad. of Scien. 155: 769-769 — 1968.

FIALKOW, P.J. — Thyroid autoimmunity and Down's syndrome. Ann, of the N. York Acad. of Sci., 171: 500-511, 1970.

FIALKOW, P.J., TRULINE, H.C., HEGHT, F. e BRYANT, J. — Familial predisposition to thyroid disease in Down's syndrome: controlled immunoclinical studies. Am. J. Hum. Genet. 23: 67-85, 1971.

PINEMAN, R.M., KIDD, K.K., JOHNSON, A.M. e BREG, W.R. — Increased frequency of heterozygotes for α1 antitrypsin variants in individual with either sex chromossome mosaicism or trisomy 21. Nature 260: 320-321, 1976.

FORD, J.H. — Induction of chromosomal errors. Lancet I: 54, 1973.

FRASER, J. e MITCHELL, A. — Kalmuk idiocy: Report of a case with autopsy with notes on sixty two cases. J. Mental. Sci., 22: 169, 1876.

FRIEDRICH, U. e NIELSEN, J. — Chromosome studies in 5,049 consecutive newborn children. Clin. Genet., 4: 333-43, 1973.

GERMAN, J.L. — Mongolism, delayed fertilization and human sexual behavior. Nature, 217: 516, 1968.

GIRAUD, F., MATTEI, J.F. e MATTEI, M.G. — Etude Chromosomique chez les parents d'enfants trisomiques 21. Chromossomes marqueurs, remaniements, cassures et aneuploidies. Lyon Médical, 233 (3): 241-251, 1975.

GRUMBACH, M. e MORISHIMA, A. — X-chromosome abnormalities in gonodal dysgenesis: DNA replication of structurally abnormal X chromossome: relation to thyroid disease. J. Pediat. 65: 1087, 1964.

HAMERTON, J.L., CANNING, N., RAY, M. e SMITH, S. — A cytogenetic survey of 14,069 newborn infants. Clin. Genet., 8: 223-43, 1975.

HANSON, A. e MIKKELSEN, M. — Maternal and paternal nondisjunction in parents of children with Down's syndrome: Family studies of fluorescent markers and satellite association. Excerpta Medica ICS N.o 397, Abstracts, V International Congress of Human Genetics, p.129 (1976).

HARA, Y. e SASAKI, M. — A note en the origin of extra chromosomes in trisomies 13 and 21. Proc. Japan. Acad., 51: 295-299, 1975.

HASSOLD, T.J., MATSUYAMA, A., NEWLANDS, I.M., MATSUURA, J.S., JACOBS, P.A., MANUEL, B. e TSUEI, J. — A cytogenetic study of spontaneous abortions in Hawaii. Ann. Hum. Genet., Lond., 41: 443-54, 1978.

HOOK, E.B. e HAMERTON, J.L. — The frequency of chromosome abnormalities detected in consecutive newborn studies-differences between studies-results by sex and by severity of phenotypic involvement. In: E.B. Hook & I.H. Porter: Population Cytogenenetics-studies in humans. Academic Press, Inc. p. 63-79, 1977.

JACOBS, P.A., MELVOLLE, M., RATOLIFFE, S., KEAY, A.J. e SYME, J. — A cytogenetic survey of 11,680 newborn infants. Ann. Hum. Genet., 37: 359-76, 1974.

JENKINS, R.L. — Etiology of mongolism. Amer. J. Dis. Child., 45: 506, 1933.

JUBERG, R.C. — Origin of chromosomal abnormalities: Evidence for delayed fertilization in meiotic nondisjunction. Excerpta Medica ICS N.o 397, Abstracts, V International Congress of Human Genetics, p. 132, (1976).

KAJII, T., OHAMA, K., NIIKAMA, M., FERRIER, A. e AVIRACHAN, S. — Banding analysis of abnormal karyotypes in spontaneous abortion. Am. J. Hum. Genet., 25: 539-47, 1973.

LAURITSEN, J.G. — Aetiology of spontaneous abortion. Acta Obstet. Scand. Supplement 52, 1976.

LEJEUNE, J. — Chromosome in trisomy 21. Annals N.Y. Acad. Sci., 171: 381-390, 1970.

LICZNERSKI, G. e LINDSTEN, J. — Trisomy 21 in man due to maternal nondisjunction during

the first meiotic division. Hereditas 70: 153-154, 1972.
LUBS, H.A. e RUDDLE, F.H. — Chromosomal abnormalities in the human population: estimation of rates based on New Haven newborn study. Science 169: 445-97, 1970.
MAGENIS, R.E., OVERTON, K.M., CHAMBERLIN, J., BRADY, T. e LOVRIEN, E. — Parental origin of the extra chromosome in Down's syndrome. Hum. Genet., 37: 7-16, 1977.
MALPAS, P. — The incidence of human malformations. J. Obstet. Gynaec. Brit. Empa., 44: 434, 1937.
MATTEI, J.P. — Etude Genetique des Parents D'enfants trisomiques 21. Tese de Doutoramento, Faculdade de Medicina de Marselha, França, 1974, 250p.
McDONALD, A.D. — Thyroid disease and other maternal factors in mongolism. C.M.A.J., 106: 1085, 1972.
MELLON, J.P., PAY, B.Y. e GREEN, D.M. — Mongolism and thyroid autoantibodies, J. Ment. Defic. Res., 7: 31, 1963.
MIKKELSEN, M., HALLBERG, A. e POULSEN, H. — Maternal and paternal origin of extra chromosome in trisomy 21. Hum. Genet., 32: 17-21, 1976.
MOORHEAD, P.S., NOWELL, P.C., MELLMAN, W.J., BATTIPS, D.M. e HUNGERFORD, D.A. — Chromosome preparations of leukocytes cultured from human peripheral blood. Exp. Cell Res., 20: 613-616, 1960.
MYERS, C.R. — An application of the control group method to the problem of etiology of mongolism. Proc. Amer. Assoc. Ment. Def., 62: 142, 1938.
NICHOLS, W.W. — Viruses and chromosomal abnormalities. Ann. N.Y. Acad. Sci., 171: 478, 1970.
NIELSEN, J. e SILLISEN, I. — Incidence of chromossome aberrations among 11,148 newborn children. Humangenetik, 30: 1-12, 1975.
PARIS CONFERENCE (1971) — Standardization in Human Cytogenetics (1972). Birth Defects: Original Art. Ser. VIII: 7. The Nat. Foundation March of Dimes, New York.
PENROSE, L.S. — The relative effects of paternal and maternal age in mongolism. J. Genet., 27: 219, 1933.
PENROSE, L.S. — Mongolism. British Med. Bull, 17: 184, 1961.
PENROSE, L.S. — Genetical aspects of mental deficiency. Proc. Inter. Copenhagen Congr. Sci. Study Mental Retardation, vol. 1. (J. Oster and H.V. Sletved, ed.), pp 165-171, 1964.
PENROSE, L.S. e SMITH, G.F. — Down's Anomaly. Little, Brown and Company-Boston, 218p.
PERRIN, J. e BUBEL, M.A. — Assessment of a haemagglutination test for thyroid microsomal antibody. Med. Lab. Tech., 31: 205-211, 1974.
PUNNET, H.H. e KISTENMACHER, M.L. — The origin of the extra chromosome in trisomy 21. Genetics (Suppl.) 74: 222, 1973.
ROBINSON, J.A. — Origin of extra chromosome in trisomy 21. Lancet I: 131-133, 1973.
RUVALCABA, R.H.A., FERRIER, P.E. e THULLINE, H.C. — Incidence of goiter in patients with Down's syndrome. Amer. J. Dis. Child., 118: 451, 1969.
SCHMIDT, R., DAR, H. e NITOWSKY, H.M. — Apparent parental mosaicism for 21 trosomy as a predisposition factor for children with Down's syndrome. Excerpta Medica ICS N.o 397, Abstracts, V International Congress of Human Genetics, p. 151 (1976).
SEGAL, D.J., SCHLAUT, J.W., PABST, H.F., McCOY, E.E. e DOSSETOR, J.B. — HLA frequencies in Down's syndrome. Humangenetik, 27: 45-48, 1975.
SERGOVICH, F.R., VALENTINE, G.H., CHEN, A.T.L., KINCH, R.A.H. e SNOUT, M.D. — Chromosome aberrations in 2,159 consecutive newborn babies. New Eng. J. Med., 280: 851, 55, 1969.
SHUTTLEWORTH, J.E. — Mongolian imbecility. Brit. Med. J., 2: 661, 1909.
SMITH, D.W. — Recognizable Patterns of Human Malformation. Second edition, Volume VII in the series Major Problems in Clinical Pediatrics, W.B. Saunders Company, Philadelphia, London, Toronto, 1976. 504p.
SMITH, G.F. e BERG, J.M. — Down's Anomaly. Second Edition, Churchill Livingstone, Edinburgh London and New York, 1976, 348p.
SPARKES, R.S. e MOTULSKY, A.G. — Hashimoto's disease in Turner's syndrome with isochromosome X. Lancet i: 947, 1963.
STOLLER, A.C. e COLLMANN, R.D. — Virus aetiology for Down's syndrome (mongolism). Nature (Lond.), 208: 903-904, 1965.
TERASAKI, P.I., McCLELLAND, J. e McCURDY, B. 1973, p.54. In Ray JG, Jr., Hare DB, Kayhoe DE (eds). Manual of tissue typing techniques. National Institute of Allergy and Infections

Diseases, Bethesda, Maryland.
UCHIDA, I.A., HOLUNGA, R. e LAWLER, C. – Maternal radiation and chromosomal aberrations. Lancet II: 1045-1049, 1968.
VACCARO, R., ROSSONI, R. e ALESTRA, P. – Further research into the indicence of autoimmune disorders in patients with Down's syndrome and their parents. Minerva Pediat., 21: 1175-1183, 1969.
VAN HAELST, L., HAYEZ, F., BONNYNS, M. e BASTENIE, P.A. – Thyroid pathology and chromosome disorders. Ann. d'Andocrinologie 30 (5): 659-667, 1969.
VAN HAEST, L., HAYEZ, F., BONNYNS, M. e BASTEMIE, P.A. – Thyroid autoimmune disease and thyroid function in families of subjects with Down's syndrome. J. Clin. Endocr., 30: 792, 11970.
WAGENBICHLER, P. – Origin of the supernumerary chromosome in Down's syndrome. Excerpta Medica ICS N.o 397, Abstracts, V International Congress of Human Genetics, p. 167 (1976).
WAGENBICHLER, P., KILLIAN, W., RETT, A. e SCHNEDL, W. – Origin of the extra N.o 21 in Down's syndrome. Hum. Genet., 32: 13-16, 1976.
WALZER, S. e GERALD, P.S. – A chromosome survey of 13,751 male newbors. In: Population Cytogenetics, E.B. Hook and I.H. Porter Academic Press, New York, p.45-61, 1977.
WRIGHT, S.W., DAY, R.W., MULLER, H. e WEINHOUSE, R. – The frequency of trisomy and transcolation in Down's syndrome. J. Pediat., 70: 420, 1967.
WILLIAMS, E.D., ENGEL, E. e FORBES, A.P. – Thyroiditis and gonodal dysgenesis. New Eng. J. Med. 270: 805-810, 1964.

I N D I C E

I – INTRODUÇÃO 1

II – MATERIAL E METODOS 5
II – 1 - Descrição da amostra 5
II – 2 - Coleta de material 8
II – 3 - Processamento laboratorial 8
II – 3.A - Pesquisa de anticorpos antitireoidianos 16
II – 3.B - Estudo cromossômico 16
II – 3.C - Pesquisa de antígenos do sistema HL A 18
II – 4 - Processamento de dados 18

III – RESULTADOS 27
III – 1 - A amostra coletada 27
III – 2 - Pesquisa de anticorpos antitireoidianos 27
III – 3 - Estudo cromossômico 28
III – 4 - A pesquisa de antígenos do sistema HL-A 29

IV – DISCUSSÃO 35
IV – 1 - Anticorpos antitireoidianos 35
IV – 2 - Estudo cromossômico 36
IV – 3 - Antígenos do sistema HL-A 38
IV – 4 - Autoimunidade e origem da não-disfunção do cromossomo 21 em excesso nos probandos 39
IV – 5 - Considerações finais 41

V – RESUMO 42

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS 43