



BC/13565
IB/81210

NILMA LÚCIA VIGUETTI *aut.*

ESTUDO CITOGENÉTICO DE INDIVÍDUOS DO SEXO
FEMININO COM BAIXA ESTATURA PROPORCIONADA E
BOM DESENVOLVIMENTO NEUROPSICOMOTOR

*Este exemplar corresponde a versão final de
seu trabalho pela orientadora Nilma Lúcia
Viguetti e aprovado pela comissão julgadora.*

*Andréa Trevas Maciel Guerra
02 de março de 1991*

7133218/IB
Tese apresentada ao Instituto de Biologia
da Universidade Estadual de Campinas para
a obtenção do Título de Mestre em Ciências
Biológicas na Área de Genética

ORIENTADORA: Profa. Dra. Andréa Trevas Maciel Guerra *aut.*

Campinas - SP
1991

T/UNICAMP

V689

UNICAMP

CM000 20753-9

CLASSIF.	T/1085
AUTOR	V6892
V.	EX.
TOMBO B2	13565

A criatura mais fraca, ao concentrar suas forças num ser ou objeto, pode realizar alguma coisa, ao passo que a mais forte, ao desperdiçar suas forças, pode não conseguir nada. Sendo assim, é necessário, que concentremos todas as nossas forças, para que possamos transpor as barreiras que a vida nos impõe, pois quanto maior for a nossa concentração em um determinado objetivo, o qual desejamos atingir, maior será a probabilidade de alcançá-lo.

Dedico este trabalho a meus pais, Newton Augusto Viguetti e Zoraide Viguetti e a meus irmãos Newce, Newtinho, Nelson, Nádia e Narinha, que são pessoas maravilhosas, as quais eu convivi por toda minha vida e que me fizeram crer que família é o ponto inicial de uma longa jornada, que sempre tentamos buscá-lo, mas que dificilmente o reencontraremos, pois ele é único.

AGRADECIMENTOS ESPECIAIS

A Profa. Dra. Andréa Trevas Maciel Guerra, pela segurança, tranquilidade, otimismo e seriedade com que ela me orientou, e além disso, pela amizade que desenvolvemos no decorrer desse trabalho.

Ao Prof. Dr. Aquiles Eugênico Piedrabuena, por ter me dado a oportunidade de conhecer minha atual orientadora, pelo apoio emocional em momentos difíceis, pelas lições de vida, pelo auxílio estatístico, enfim, por demonstrar que ainda existem seres humanos.

A Profa. Dra. Denise Janovitz Norato, por mesmo sem me conhecer, ter colocado seu nome em jogo, me dando assim a chance de demonstrar que eu tinha algum valor e além disso pela sua amizade.

A Profa. Dra. Christine Hackel, pela sua enriquecedora participação na pré-banca de minha tese, e pela dedicação e carinho com que ela tem me tratado.

Ao Prof. Dr. André Moreno Morcillo, pela sua grande participação na pré-banca de minha tese, e pelos conhecimentos que ele passou.

A amiga Ana Beatriz Ferreira Torreão, pelo companheirismo que ela demonstrou, em diversos momentos em que eu precisei de uma amiga.

A Maria Lectícia Firpe Penna, pelo apoio dado a mim antes e depois de eu entrar na Genética Médica, me fazendo crer que havia uma luz no fim do túnel.

Ao Prof. Luiz Pedro Barrueto Cid, pela sua participação na minha permanência no curso de mestrado.

A Dra. Cláudia Feres Kenney, pela amizade e respeito profissional.

A Profa. Dra. Solange Bento Farah, pela amizade, carinho e respeito profissional.

A Janete Maria Cerutti, pela realização da hibridização com sondas Y específicas, em uma de minhas pacientes, e além disso pelo companheirismo e amizade.

Aos meus companheiros de curso Marilda Gonçalves de Sousa, Paulo Latuf Filho, Rogério Carlos Novaes, Ricardo Tadeu de Faria e Carmem Silvia Bertuzzo Martins, além de outros, por todo apoio que me foi dado no decorrer deste curso.

Aos funcionários da Genética Médica, em especial a Antonio Conceição Costa, Edi Lúcia Sartorato, Jossimar Alves do Nascimento, Henry Norberto Ciolfi e Dna. Geralda Luzia Alves, que tiveram grande participação no meu trabalho prático, me ensinando muito do pouco que eu sei, e além disso pela amizade que eu desenvolvi com todos os funcionários do departamento.

Aos docentes do departamento de Genética Médica, pela amizade, respeito profissional e auxílio no esclarecimento de dúvidas, quando necessário, além disso agradeço à aqueles que fazem ambulatório por terem realizado a avaliação e posterior encaminhamento de pacientes para que eu pudesse fazer meu trabalho.

Aos docentes da Pediatria, em especial ao Dr. Gil Guerra Jr. e a Profa. Dra. Denise Marmo, que fizeram a gentileza de fazer a avaliação e posterior encaminhamento de pacientes para meu trabalho de tese, e além disso por terem me esclarecido dúvidas e fornecido algumas referências bibliográficas relacionadas a parte pediátrica.

As secretárias do departamento de Genética e Evolução por todo auxílio na parte burocrática que envolve o mestrado, e além disso pela amizade que envolveu todo esse trabalho.

As agências financiadoras CNPQ e CAPES, pela concessão de bolsa durante todo curso de mestrado.

INDICE

I Introdução	1
I.A Etiologia da Baixa Estatura	1
I.A.1 Variantes Normais	2
I.A.2 Variantes Patológicas	3
I.A.2.1 Deficiência de Crescimento com Início Pré-Natal	3
I.A.2.1.1 Primária	4
I.A.2.1.2 Secundária	4
I.A.2.2 Deficiência de Crescimento com Início Pós-Natal	5
I.A.2.2.1 Primária	5
I.A.2.2.2 Secundária	5
I.B Causas Genéticas de Baixa Estatura Patológica	7
I.B.1 Padrões de Herança de Heredopatias	7
I.B.1.1 Heredopatias Monogênicas Associadas a Baixa Estatura	9
I.B.2 Aberrações Cromossômicas	18
I.B.2.1 Análise do Cariótipo Humano	25
I.B.2.2 Sexo Nuclear	28
I.B.2.3 Síndrome de Turner	29
I.C Diagnóstico Diferencial	34
I.C.1 Anamnese	34
I.C.1.1 Antecedentes Gestacionais	34
I.C.1.2 Antecedentes Pessoais	34
I.C.1.3 Antecedentes Familiares	35
I.C.2 Exame Físico	35
I.C.3 Exames Subsidiários	36
I.D Frequência Relativa das Diversas Causas de Baixa Estatura	37
II Objetivos	38
III Casuística e Métodos	39
III.A Cultura de Linfócitos	41
III.B Técnica de Obtenção de bandas G	42
III.C Técnica de Obtenção de bandas Q	43
III.D Técnica de Análise de Cromatina X	44
IV Resultados	46
V Discussão	50
VI Conclusões	55
VII Resumo	56
VIII Summary	57
IX Referências Bibliográficas	58

I - INTRODUÇÃO

A avaliação e o tratamento de crianças com retardo do crescimento são frequentes e complexos problemas para pediatras e geneticistas. É necessário verificar, primeiramente, se a baixa estatura corresponde a uma variação da normalidade, ou se este sinal indica a presença de uma doença básica, já que de um diagnóstico específico dependem o tratamento, o prognóstico e o aconselhamento genético do paciente e de sua família.

Em uma população de crianças cuja estatura esteja pelo menos dois desvios padrão (DP) abaixo da média ou abaixo do terceiro percentil, é esperado que cerca de 20% tenham baixa estatura patológica e que as restantes sejam portadoras de baixa estatura familiar ou retardo constitucional do crescimento (Rudman *et al.*, 1979). Na prática verifica-se, ainda, que a maioria das crianças cuja estatura está pelo menos três desvios padrão abaixo da média para a idade são portadoras de algum quadro patológico (Rimon e Horton, 1978 e 1978a; Rimon *et al.*, 1986; Schaff-Blass *et al.*, 1984). Existem centenas de entidades nosológicas que se acompanham de deficiência de crescimento, sendo necessária, portanto, uma avaliação criteriosa de cada paciente que apresente este sinal clínico.

1.1) ETIOLOGIA DA BAIXA ESTATURA

Frente a um portador de baixa estatura, a elaboração de um diagnóstico diferencial exige o conhecimento de suas múltiplas causas, que serão abordadas a seguir.

1.A.1) Variantes Normais:

O potencial de crescimento de um indivíduo depende de fatores hereditários, fatores esses que podem ser modificados por condições intrínsecas (orgânicas) e extrínsecas (ambientais). Em condições orgânicas e ambientais normais, os indivíduos situam-se dentro dos limites geneticamente determinados. Uma vez que a distribuição dos seres humanos segundo a estatura mostra grande ajustamento à curva normal (Carter e Marshall, 1978), espera-se que cerca de 2,5% dos indivíduos estejam mais de dois desvios-padrão abaixo da média sem que haja, necessariamente, uma conotação patológica. A **baixa estatura familiar** é considerada, portanto, uma variação da normalidade, juntamente com o **retardo constitucional do crescimento (maturação lenta)**, sendo ambos de herança poligênica.

Até os dois anos de idade, a nutrição tende a ser o principal fator determinante do crescimento. A partir de então, passa a haver uma alta correlação entre a estatura de uma criança e aquela que atingirá na idade adulta (Tanner *et al.*, 1956). Assim sendo, nos casos de **baixa estatura familiar**, a estatura situa-se pouco abaixo do terceiro percentil e aumenta paralelamente a ele. A velocidade de crescimento e a idade óssea são normais, assim como todas as investigações endocrinológicas, e a puberdade ocorre na época usual. A estatura de um ou ambos os genitores costuma estar próxima do terceiro percentil, e, projetando-se a estatura da criança para a idade adulta, esta encontra-se dentro da faixa de 9cm em torno da média dos percentis da estatura dos pais (Parkin, 1989).

Nos casos de **maturação lenta**, há uma alteração na taxa de maturação óssea, na idade em que ocorre a puberdade, e na época em que cessa o crescimento (Preece, 1979). A velocidade de crescimento encontra-se no limite inferior da normalidade, a idade óssea está significativamente atrasada, e a estatura desvia-se gradualmente de seu percentil inicial para percentis inferiores até a puberdade, que ocorre tardiamente, quando então retorna a sua posição original na curva de crescimento. É frequente o encontro de uma história familiar de maturação lenta, menarca tardia na mãe ou atraso no estirço de crescimento ou no surgimento de caracteres sexuais secundários no pai (Parkin, 1989).

1.A.2) Variantes Patológicas:

1.A.2.1) Deficiência de Crescimento com Início Pré-Natal:

Caracteriza-se pelo encontro, já ao nascimento, de um tamanho pequeno para a idade gestacional. O fator etiológico que determina a deficiência de crescimento esquelético frequentemente costuma determinar, também, deficiências no crescimento e desenvolvimento de outros sistemas, tal como o sistema nervoso central. Nesses casos, é comum que a deficiência de crescimento se acompanhe de dismorfismos, desproporção entre os segmentos corporais e/ou assimetrias.

De modo geral, os fatores que prejudicam o crescimento fetal dividem-se em fetais (primários), maternos, placentários e ambientais (secundários).

1.A.2.1.1) Primária

Nesta categoria, um problema primário das células esqueléticas afeta a capacidade de crescimento fetal, a qual acompanha-se, frequentemente, de distormorfismos, assimetria e malformações extra-esqueléticas. Quando de etiologia conhecida, grande parte dessas anomalias têm uma base genética, incluindo casos de aberrações cromossômicas. Existem diversas heredopatias em que a mutação afeta a multiplicação celular. Entre elas estão as osteocondrodismplasias, em que o distúrbio ocorre predominantemente nas células esqueléticas, além de outras anomalias em que múltiplos tecidos são afetados.

O diagnóstico depende do reconhecimento clínico dos padrões de malformações, e, quando possível, confirmação por exames subsidiários (como o cariótipo em caso de aberração cromossômica). Pacientes que apresentem um quadro malformativo associado a deficiência de crescimento e retardamento mental que não seja possível enquadrar em síndrome conhecida necessitam de um estudo citogenético. Segundo Smith (1977), em aproximadamente 9% desses casos têm sido encontradas anomalias cromossômicas.

1.A.2.1.2) Secundária

Nesta categoria, a deficiência de crescimento esquelético é considerada secundária a um fator exógeno, como, por exemplo, infecção congênita, ou a diminuição do espaço intra-uterino que ocorre em gestações múltiplas. Além disso, é frequente que haja causas maternas, como desnutrição, toxemia, hipertensão arterial, doença renal ou cardíaca, ingestão de álcool, drogas e fumo (Smith, 1977).

O crescimento pós-natal é variável nesses casos, podendo o recém-nascido recuperar uma velocidade de crescimento normal após ser retirado das condições adversas que determinaram a deficiência de crescimento.

1.A.2.2) Deficiência de Crescimento com Início Pós-Natal

1.A.2.2.1) Primária

Há poucas anomalias em que a deficiência de crescimento primária torna-se visível somente após o nascimento. Essas incluem alguns casos de Síndrome de Turner, pacientes com mucopolissacaridoses, e determinadas osteocondrodisplasias, como a displasia espondilo epifisária ligada ao X (Smith, 1977).

1.A.2.2.2) Secundária

A deficiência de crescimento pós-natal pode se originar secundariamente à falta de nutrientes, hormônios ou oxigênio, necessários à multiplicação das células enquelóticas e à manutenção da homeostase extracelular.

A **desnutrição**, que em nosso meio é muito mais frequentemente de natureza sócio-econômico, por falta de ingestão associada a infecções e parasitoses repetidas, determina desaceleração da velocidade de crescimento. Nas **doenças sistêmicas viscerais**, o crescimento é prejudicado por diversos mecanismos, como a deficiência de oxigenação dos tecidos nas anemias, cardiopatias e pneumopatias, o comprometimento indireto da nutrição nas infecções, parasitoses, doenças gastro-intestinais, pancreáticas e neoplásicas, o comprometimento direto de múscu-

los, ossos e articulações nas doenças musculares primárias, poliomielite e traumatismos, e a obrigatoriedade de determinados tratamentos, como a corticoterapia. Nas doenças renais, considera-se que o prejuízo do crescimento se deva principalmente à osteodistrofia associada, acidose metabólica crônica e desnutrição (Marcondes, 1989).

A **deficiência do hormônio do crescimento** pode ser herdada de forma monogênica ou se originar de tumores hipofisários ou hipotalâmicos, traumatismos cranianos, infecções ou irradiação do sistema nervoso central, ou ainda resistência dos órgãos alvo a sua ação. Mais frequentemente, porém, ela é idiopática. Nesses casos, o peso e o comprimento ao nascer são normais e a desaceleração do crescimento linear inicia-se na primeira infância. Esses indivíduos apresentam o chamado **fácies de querubim**, que decorre de hipoplasia dos ossos da face associada a um perímetro cefálico normal, obesidade truncal, micropênis no sexo masculino, além de retardo da maturação óssea (Mahoney, 1987).

O **hipotireoidismo**, que é mais frequentemente primário, pode ser congênito ou adquirido (principalmente por tireoidite linfocítica crônica). O hipotireoidismo congênito, quando não tratado precocemente, determina retardo do desenvolvimento neuropsicomotor e deficiência mental, **fácies característico**, constipação intestinal, anemia, hipotermia e letargia, além de grave desaceleração do crescimento acompanhada de retardo da maturação óssea, podendo ou não acompanhar-se de bócio, dependendo de sua etiologia. Já no hipotireoidismo adquirido, o sinal mais precoce é o distúrbio de crescimento e de maturação óssea, sem comprometimento do sistema nervoso central. O **diabetes melitus** mal controlado, a **síndrome de Cushing** endógena ou exógena e o **hipogonadismo** também são causa de deficiência de crescimento e maturação óssea (Mahoney, 1987).

Finalmente, temos o nanismo por **carência psicossocial**, que decorre de estimulação insuficiente na esfera biopsicossocial, sendo observado com frequência em internações prolongadas, asilos, creches, e lares em que há distúrbios da dinâmica afetiva familiar (Marcondes, 1989).

1.B) CAUSAS GENÉTICAS DE BAIXA ESTATURA PATOLÓGICA

Entre as causas genéticas de baixa estatura patológica temos heredopatias monogênicas e poligênicas e aberrações cromossômicas numéricas e estruturais envolvendo autossomos e cromossomos sexuais. Há ainda diversos quadros sindrômicos raros, porém clinicamente reconhecíveis, cuja etiologia permanece desconhecida.

1.B.1) Os Padrões de Herança de Heredopatias

O reconhecimento de anomalias hereditárias monogênicas recessivas e dominantes, determinadas por genes autossômicos e ligados ao cromossomo X, pode ser feito por meio do estudo da distribuição dos indivíduos em coleções de famílias. Beiguelman (1981) apresenta de modo sucinto os critérios para reconhecimento desses padrões de herança.

Nas anomalias **autossômicas recessivas**, o pai e a mãe dos indivíduos quase nunca manifestam a anomalia apresentada pelos filhos. A proporção de casais consanguíneos entre os genitores de anômalos é alta, e, entre os irmãos desses indivíduos, a proporção de anômalos é, em média, de 25%. A anomalia afeta os indivíduos de ambos os sexos na mesma proporção. De um casal de anômalos nascem apenas filhos anômalos, enquanto que de casais constituídos por um indivíduo anômalo e outro normal nascem, quase sempre, indivíduos normais.

Nas anomalias **autossômicas dominantes**, os indivíduos anômalos são, quase sempre, filhos de pai ou de mãe com a mesma anomalia. O risco de um anômalo gerar um filho também afetado é de 50%, e a anomalia afeta os indivíduos de ambos os sexos na mesma proporção. A proporção de indivíduos com e sem a anomalia, bem como a razão de sexo entre os anômalos, não dependem do sexo do genitor afetado. Nas famílias com indivíduos anômalos, os não afetados têm descendência sem a anomalia.

As anomalias **recessivas ligadas ao cromossomo X** são restritas, praticamente, aos indivíduos do sexo masculino, e transmitidas com salto de gerações. Os indivíduos anômalos têm, quase sempre, genitores sem a anomalia, e a proporção de anômalos entre os irmãos do sexo masculino de um indivíduo afetado é, em média, de 50%. Os filhos de um homem anômalo são, quase sempre, normais, mas enquanto os do sexo masculino não transmitem a anomalia à sua descendência, os do sexo feminino correm o risco de 50% de transmiti-la a sua prole do sexo masculino. Os homens anômalos casados com portadoras (heterozigotas do gene deletério) podem gerar filhos de ambos os sexos com a mesma anomalia e filhos de ambos os sexos normais, em igual proporção. As mulheres anômalas, quando ocorrem, quase sempre são filhas de um homem anômalo casado com uma mulher portadora, ou são heterozigotas nas quais o gene deletério ligado ao cromossomo X teve manifestação parcial ou total.

Nas anomalias **dominantes ligadas ao cromossomo X**, a anomalia ocorre entre os indivíduos do sexo feminino com o dobro da frequência com que é encontrada entre os do sexo masculino, e é transmitida sem saltar gerações. Os homens anômalos casados com mulheres normais geram

filhos normais e filhas com a mesma anomalia, enquanto que homens normais casados com mulheres anômalas geram filhos e filhas anômalos e normais, com a mesma probabilidade. Os filhos e filhas normais de um indivíduo anômalo não transmitem a anomalia a seus descendentes.

Entre as anomalias de herança multifatorial, que são de ocorrência relativamente frequente na população, com uma prevalência maior que 1:1000 entre recém-nascidos, temos os defeitos de fusão de tubo neural, cardiopatias congênitas, fissuras de lábio e/ou palato, estenose hipertrófica do píloro, etc. . Estudos utilizando pares de gêmeos mostram que há participação tanto de fatores genéticos quanto do meio ambiente, sendo os valores de herdabilidade acima de 50 a 60%. Há uma predisposição poligênica, à qual se associa o efeito desencadeante dos fatores ambientais. Existe, em geral, um desvio da razão de sexo entre os indivíduos anômalos, e o risco de recorrência da anomalia é maior quando o propósito é do sexo menos frequentemente afetado. Esse risco depende, ainda, da gravidade da anomalia apresentada pelo propósito, do número de indivíduos anômalos na família, da existência ou não de consanguinidade entre os genitores, e da incidência da anomalia na população (Czeizel, 1977).

1.B.1.1) Heredopatias monogênicas associadas a baixa estatura

Os quadros I e II resumem os aspectos clínicos de diversas heredopatias monogênicas que cursam com baixa estatura, além de algumas outras síndromes de etiologia desconhecida.

O quadro I refere-se especificamente às osteocondrodysplasias, que são anormalidades do crescimento e desenvolvimento cartilaginoso e ósseo. No quadro II encontram-se quadros síndrômicos nos quais a baixa estatura é uma característica preponderante.

QUADRO I - OSTEONCONDRODISPLASIAS (adaptado de Jones, 1988)

NOME	CARACTERÍSTICAS CLÍNICAS	ETIOLOGIA
Acondrogênese tipo I	Há frequentemente polihidrânio e hidropsia fetal. Estatura ao nascimento extremamente baixa (28 a 38 cm). Nariz em sela, membros muito curtos, ossificação incompleta do esterno e da coluna lombo-sacra. Grave anomalia do desenvolvimento ósseo e cartilaginoso, letal no período perinatal.	HAR ?
Acondrogênese tipo II	Baixa estatura de manifestação pré-natal, com estatura ao nascimento de 27 a 36 cm, fontanelas amplas, membros curtos, polihidrânio. Natimortalidade ou óbito neonatal.	HAR
Síndrome de Grebe	A baixa estatura é consequente a grave redução da porção distal dos membros, principalmente inferiores. Braquidactilia acentuada, polidactilia, fâcies normal. Alta frequência de natimortalidade e mortalidade na infância. Os sobreviventes são de inteligência normal.	HAR
Síndrome da Displasia Tanatofórica	Há frequentemente movimentos fetais fracos e/ou polihidrânio. Acentuado retardo do crescimento intra-útero (estatura ao nascimento de 40 cm, em média). Hipotonia muscular, macrocrania, foramen magnum estreito, fronte ampla, nariz em sela, hipoplasia de face. óbito no período neonatal.	HAR ?
Síndrome da Distrofia Torácica de Jeune	Baixa estatura de manifestação geralmente pós-natal. Caixa torácica pequena, membros curtos, hipoplasia das asas do ilíaco. Displasia renal e hipoplasia pulmonar. óbito na infância, geralmente por asfixia com ou sem pneumonia.	HAR
Síndrome da Displasia Camptomélica	Retardo de crescimento de manifestação pré-natal, com estatura ao nascimento de 35 a 49 cm e atraso da maturação óssea. Tíbias arqueadas, escápulas hipoplásicas, caixa torácica pequena, face achatada. óbito geralmente no período neonatal por insuficiência respiratória.	HAR

QUADRO I (continuação)

NOME	CARACTERÍSTICAS CLÍNICAS	ETIOLOGIA
Síndrome da Acondroplasia	Baixa estatura de manifestação pré-natal, com membros curtos, macrocefalia, ponte nasal baixa e fronte proeminente, estreitamento da porção caudal do canal vertebral, lordose lombar, mão em tridente. Complicações neurológicas frequentes, inteligência geralmente normal. Estatura final em média de 131cm no sexo masculino e 124 cm no sexo feminino.	HAD
Síndrome da Hipocondroplasia	Baixa estatura de manifestação pré-natal, com acentuação por volta dos três anos de idade. Membros curtos, estreitamento da porção caudal do canal vertebral, arqueamento dos membros inferiores. Pode haver oligofrenia associada.	HAD
Síndrome da Displasia Espôndilo-Epifisária Pseudo-Acondroplásica	Baixa estatura de manifestação pós-natal, tornando-se evidente aos 2 anos de idade. Membros curtos, marcha anserina, escoliose e arqueamento dos membros inferiores. Epífises pequenas e irregulares, metáfises irregulares em forma de cogumelo, vértebras achatadas e/ou em bico na face anterior. Inteligência normal; estatura final entre 82 e 130 cm.	HAD
Síndrome da Displasia Espôndilo-Epifisária Acrômeseômélica	Atraso de crescimento manifesto no primeiro ano de vida, abaulamento frontal, encurtamento das extremidades dos membros, cifose da porção inferior da coluna torácica. Inteligência normal.	HAR
Síndrome da Displasia Espôndilo-Epifisária Congênita	Baixa estatura de manifestação pré-natal, perfil achatado com hipoplasia malar, tronco curto, anomalias vertebrais, lordose lombar atraso de ossificação das epífises, coxa vara, limitações articulares, fraqueza muscular, miopia. Estatura final entre 93 e 130 cm.	HAD
Síndrome de Kniest	Baixa estatura de manifestação pré-natal, perfil achatado, aumento de volume e rigidez das articulações, membros curtos e arqueados, platisspondilia, contratura em flexão dos quadris. Inteligência normal; estatura final entre 106 e 145 cm.	HAD ?

QUADRO I (continuação)

NOME	CARACTERÍSTICAS CLÍNICAS	ETIOLOGIA
Síndrome de Kozlowski, ou ananos de idade, pescoço e tronco curtos, platispondilia, tórax em quilha, metáfises irregulares, marcha anserina, limitações articulares. Estatura final entre 128 e 150 cm. Epifisária	Atraso de crescimento manifesto entre 1 e 4 anos de idade, pescoço e tronco curtos, platispondilia, tórax em quilha, metáfises irregulares, marcha anserina, limitações articulares. Estatura final entre 128 e 150 cm.	HAD
Síndrome da Displasia Metatrófica	Baixa estatura de manifestação pré-natal, platispondilia com cifoescoliose progressiva no decorrer da primeira infância e na idade pré-escolar, alargamento das metáfises, membros curtos.	HAD e HAR
Síndrome de Ellis-Van Creveld	Baixa estatura de manifestação pré-natal, membros curtos, polidactilia, caixa torácica pequena, anomalias dentárias, cardiopatia congênita. Cerca de metade dos pacientes vão a óbito nos primeiros meses de vida por problemas cardio-respiratórios, os demais têm inteligência normal. Estatura final entre 110 e 150 cm.	HAR
Síndrome de Displasia Diastrófica	Baixa estatura de manifestação pré-natal, ossos tubulares curtos, pé torto varo, limitações articulares, polegar de implantação proximal, escoliose, hipertrofia da cartilagem dos pavilhões auriculares. Cerca de 25% dos portadores vão a óbito nos primeiros meses de vida por obstrução das vias aéreas; os demais apresentam estado geral e inteligência normais.	HAR
Síndrome da Displasia Espondilo-Epifisária Ligada ao Sexo	Baixa estatura que se manifesta entre os 5 e 10 anos de idade, achatamento das vértebras, cifose, pescoço curto, asas ilíacas pequenas, colo femoral curto, dores articulares. Estatura final entre 130 e 155 cm.	HRLX
Síndrome de Displasias Epifisárias Múltiplas	Baixa estatura que se manifesta entre os 2 e 10 anos de idade, marcha anserina, dor e rigidez articular, epífises pequenas e de contornos irregulares, vértebras de contorno ovalado. Estatura final entre 145 e 170 cm.	HAD

QUADRO I (continuação)

NOME	CARACTERÍSTICAS CLÍNICAS	ETIOLOGIA
Síndrome de Baixa estatura que se manifesta no segundo ano de vida, arqueamento dos membros inferiores, metáfises largas e irregulares, ossos tubulares curtos, marcha anserina, diminuída limitação da extensão dos dedos, dores nos membros inferiores durante a segunda infância. Estatura final entre 130 e 160 cm.		HAD
Síndrome de Baixa estatura de manifestação pré-natal, Hipoplasia metáfises largas e de contornos irregulares, membros inferiores ligeiramente arqueados, Cabeças, mãos pequenas, esterno saliente, lordose lombar, cabelos finos e ralos, má absorção intestinal, diminuição de imunidade celular. Estatura final entre 107 e 147 cm. (Mckusick)		HAR
Síndrome de Atraso de crescimento discreto a moderado, Conradi-Hu- lassimetria de membros, perfil achatado, es- Inermann (Cogn- coliose, atrofia de folículos pilosos dando Idrodiasplasia à pele aspecto de casca de laranja, calcifi- Punctata Au- cação em pontilhado das epífises, baixo ga- Itossômica Dq- inho ponderal e/ou infecções no primeiro ano Iminante) Ide de vida. Pode haver oligofrenia discreta ou Imoderada.		HAD e HRLX
Síndrome de Baixa estatura de manifestação pré-natal, Condrodisplasia perfil achatado, catarata, membros curtos, Isia Punctata metáfises alargadas e em cálice, calcifica- Ido tipo riz- cação em pontilhado das epífises, contraturas Imélico Iarticulares múltiplas. Óbito por insuficiênc- Icia respiratória no primeiro ou segundo ano Ide de vida		HAR
Raquitismo Baixa estatura que se manifesta no primeiro Hipofosfatê- ano de vida, arqueamento dos membros inferi- Imico Ligado lores, escoliose, marcha anserina, raquitis- Iao Sexo Imo que não responde às doses fisiológicas Ide de vitamina D, hipofosfatemia. Estatura fi- Inal entre 130 e 160 cm.		HDLX
Raquitismo Baixa estatura de manifestação pós-natal, Simulando a Iraquitismo, hipotonia muscular, retardo do IAvitaminose Idesenvolvimento motor, hipoplasia do esmal- ID (Pseudo-Ca- te dentário, hipocalcemia, hiperfosfatasia Irençial) Icom ou sem hipofosfatemia, aminoacidúria, Inormalização do quadro clínico e laborator- Ial com doses elevadas de vitamina D.		HAR e HAD

QUADRO I (continuação)

NOME	CARACTERÍSTICAS CLÍNICAS	ETIOLOGIA
Síndrome de Kenny	Baixa estatura de manifestação pré-natal, diminuição da luz dos canais medulares, miopia, hipocalcemia transitória.	HAD
Síndrome da Hipofosfatasia	Baixa estatura de início pré ou pós-natal, atraso do fechamento das fontanelas com ou sem cranioestenose, pernas arqueadas com rarefação irregular das metáfises e fragilidade óssea, arqueamento dos membros inferiores, caixa torácica pequena, anomalias dentárias, hipofosfatasia. Cerca de 50% dos pacientes vão a óbito nos primeiros meses de vida.	HAR
Síndrome de Hajdu-Cheney	Baixa estatura que se manifesta na segunda infância, acro-osteólise, queda prematura dos dentes, articulações frouxas, cifoescoliose.	HAD
Fibrocondro- gênese	Baixa estatura de manifestação pré-natal, fontanelas amplas, olhos protuberantes, fenda palatina, pescoço curto, achatamento de vértebras, costelas curtas, tórax pequeno, onfalocele, encurtamento rizomélico dos membros camptodactilia. Natimortalidade ou óbito neonatal.	HAR?
Atelosteogênese	Baixa estatura de manifestação pré-natal, encurtamento ou ausência de úmero, ausência de fíbulas, fêmur curto, vértebras achatadas, polihidrâmnio, natimortalidade ou óbito neonatal.	Desconhecida
Síndrome de Polidactilia e Costela Curta, Tipo Majewski	Baixa estatura de manifestação pré-natal, membros curtos, fenda labial mediana, fenda palatina, polidactilia de mãos e pés, tórax estreito, genitália ambigua, cistos renais, óbito neonatal.	HAR
Síndrome da Polidactilia e Costela Curta, Tipo Não Majewski	Baixa estatura de manifestação pré-natal, membros curtos, polidactilia de mãos e pés, sindactilia, irregularidades metefisárias, tronco curto, anomalias vertebrais, cardiopatia congênita, óbito neonatal.	HAR
Síndrome de Dyggve-Melchior-Clau- sen	Baixa estatura de manifestação entre 1 e 18 meses, tronco curto, oligofrenia, microcefalia, anomalias vertebrais, tórax em barril, limitações articulares. Estatura final entre 119 e 128 cm.	HAR

QUADRO I (continuação)

NOME	CARACTERÍSTICAS CLÍNICAS	ETIOLOGIA
Displasia Geleofísica	Baixa estatura de manifestação predominante mente pós-natal, atraso de fala, face arredondada, pés e mãos pequenos, contraturas articulares, espessamento de válvulas cardíacas, hepatomegalia. óbito na infância por insuficiência cardíaca.	HAR

Obs: HAR = herança autossômica recessiva; HAD = herança autossômica dominante; HRLX = herança recessiva ligada ao X; HDLX = herança dominante ligada ao X.

QUADRO II - Síndromes que cursam com estatura muito baixa sem displasia esquelética (adaptado de Jones, 1988)

NOME	CARACTERÍSTICAS CLÍNICAS	ETIOLOGIA
Síndrome de Cornélia de Lange	Baixa estatura de manifestação pré-natal, retardo da maturação óssea, deficiência mental, hipertonia muscular, microbraquicefalia, sobrancelhas hirsutas, sinofriso, cílios longos e recurvados, nariz pequeno com narinas antevertidas, lábios finos, micrognatia, hirsutismo, micromelia.	Desconhecida
Síndrome de Rubinstein-Taybi	Baixa estatura com atraso de maturação óssea, deficiência mental, microcefalia, fendas palpebrais oblíquas para baixo, hipoplasia maxilar, estrabismo, orelhas de implantação baixa e/ou malformadas, polegares e alargados. Infecções frequentes de vias respiratórias e dificuldades alimentares.	Desconhecida
Síndrome de Russel-Silver	Baixa estatura de manifestação pré-natal, atraso da maturação óssea, assimetria no comprimento dos membros, clinodactilia do quinto dedo, face pequena e triangular, comissuras bucais desviadas para baixo, tendência para sudorese excessiva e hipoglicemia de jejum. Atraso do desenvolvimento motor, porém com inteligência normal.	Desconhecida
Síndrome de Nanismo de Mulibrey	Baixa estatura de manifestação pré-natal, dolicocefalia, face triangular, pontilhado amarelo no fundo do olho, pericardite constritiva e hepatomegalia, inteligência normal.	HAR
Síndrome de Dubowitz	Baixa estatura de manifestação pré-natal, atraso da maturação óssea, inteligência limitada ou oligofrenia discreta, microcefalia discreta, ptose palpebral e blefarofimose inconstantes, lesões cutâneas eczematóides em face e dobras de flexão.	HAR
Síndrome de Bloom	Baixa estatura de manifestação pré-natal, discreta microcefalia, dolicocefalia, nariz pequeno, eritema teleangiectásico em forma de asa de borboleta na face que se desenvolve durante o primeiro ano de vida, incidência elevada de neoplasias malignas, particularmente leucemias, alta frequência de quebras cromossômicas e trocas entre cromátides irmãs. Inteligência normal; estatura final de 151 cm no sexo masculino e 144 cm no sexo feminino.	HAR

QUADRO II (continuação)

NOME	CARACTERÍSTICAS CLÍNICAS	ETIOLOGIA
Síndrome de Sanctis Cacchione	Baixa estatura de manifestação pós-natal, atraso de maturação óssea, microcefalia, oligofrenia, convulsões, xeroderma pigmentoso, hipogonadismo, sobrevida reduzida pela disfunção progressiva do sistema nervoso central e neoplasias malignas de pele.	HAR
Síndrome de Johanson-Blizzard	Baixa estatura de manifestação pré-natal, oligofrenia, microcefalia, hipoplasia das asas do nariz, anomalias dentárias, falhas do couro cabeludo, anomalias uroretais, hipotireoidismo primário, insuficiência pancreática.	HAR?
Síndrome de Seckel	Baixa estatura de manifestação pré-natal, oligofrenia, microcefalia, face pequena, nariz aquilino, ausência do lóbulo da orelha, clinodactilia do quinto dedo, 11 pares de costelas. Estatura final entre 90 e 105 cm.	HAR?
Síndrome de Hallermann-Streiff	Baixa estatura proporcionada, braquicefalia, microftalmia, catarata, nariz pequeno e fino, microstomia, anomalias dentárias, hipotricose, frequentes problemas alimentares e respiratórios. Inteligência geralmente normal.	HAD?

Obs: HAR = herança autossômica recessiva; HAD = herança autossômica dominante.

1.B.2) Aberrações Cromossômicas

As síndromes decorrentes das aberrações cromossômicas que envolvem os autossomos são caracterizadas por deficiência de crescimento intra-uterino e pós-natal, sinais dismórficos, especialmente de face, genitália e porção distal dos membros, malformações (geralmente múltiplas), e retardamento mental e neuromotor. Embora nenhuma dessas características seja obrigatória, a deficiência mental é o sinal mais constante (Schinzel, 1984).

As aberrações dos cromossomos sexuais diferem das autossômicas em vários aspectos. A deficiência de crescimento não é encontrada em muitos rearranjos contendo um cromossomo Y, e também em algumas aberrações estruturais do cromossomo X com fenótipo feminino. A estatura elevada, incomum em aberrações autossômicas, é característica dos portadores de cariótipos 47,XXY e 47,XYY. Quadros dismórficos são raros e inespecíficos nas aberrações dos cromossomos sexuais, com exceção da síndrome de Turner, e malformações "major" são muito menos comuns do que em aberrações autossômicas. Quando existem, são muito específicas, como a coarctação da aorta na síndrome de Turner e a sinostose radio-ulnar no tetra X e nas pentassomias. Quanto à deficiência mental, esta é raramente observada na síndrome de Turner, e quando ocorre no triplo X (47,XXX), na síndrome de Klinefelter (47,XXY) e no duplo Y (47,XYY), é de leve intensidade. Uma deficiência mental moderada a grave é característica das polissomias dos cromossomos sexuais, havendo na maioria dos casos uma correlação entre o grau de retardamento e o número de cromossomos X adicionais. A característica mais marcante da maioria das aberrações dos cromossomos sexuais é a esterilidade. Em indivíduos do sexo feminino, a monossomia do X e aberrações

estruturais desse cromossomo geralmente causam disgenesia gonadal. A esterilidade é uma característica quase que invariável na síndrome de Turner com cariótipo 45,X, mas menos constante em mosaicos e aberrações estruturais do cromossomo X, particularmente deficiências do braço curto desse cromossomo (Xp). A fertilidade reduzida aparentemente também é uma característica da tetra e da pentassomia do X. Em indivíduos do sexo masculino, a Síndrome de Klinefelter (47,XXY) e quadros Klinefelterianos (48,XXYY, 48,XXXY), além de aberrações estruturais de X e Y, levam a esterilidade, enquanto que a fertilidade é somente reduzida em indivíduos com cariótipo 47,XYY (Schinzel, 1984).

Entende-se por aberrações cromossômicas as alterações do genoma humano caracterizadas por perda, excesso, ou rearranjo do material genético, que podem ser visualizadas pela análise do cariótipo humano por meio da microscopia óptica (Beiguelman, 1986). Segundo Hassold (1986), estão presentes em 50% dos abortos espontâneos, 5% dos óbitos perinatais e 0,5% dos recém-nascidos. São classificadas em **numéricas**, quando ocorre um aumento ou diminuição do número cariotípico normal, e **estruturais**, quando um ou mais cromossomos apresentam alterações de sua estrutura perceptíveis ao microscópio óptico.

Por sua vez, as aberrações numéricas são classificadas em **euploidias**, quando há aumento de pelo menos um conjunto haplóide, e **aneuploidias**, quando há aumento ou diminuição de cromossomos de um ou mais pares. As euploidias são extremamente raras em recém-nascidos, porém são encontradas em cerca de 8,8% dos abortos espontâneos (Hassold, 1986). A triploidia pode surgir de fertilização dispérmica, que é seu principal mecanismo de origem (Coullin *et al.*, 1987), da ferti-

lização por um espermatozóide normal de um óvulo contendo dois conjuntos haplóides maternos (diginia), ou da fertilização de um óvulo normal por um espermatozóide contendo dois conjuntos haplóides paternos (diandria) (Beatty, 1974). A tetraploidia por sua vez, é decorrente de endoreduplicação.

Quanto às aneuploidias (monossomias, trissomias, tetrasomias e pentassomias), essas são originárias de falta de disjunção dos cromossomos durante a anáfase, que pode ser pré-zigótica, quando ocorre durante a gametogênese (na meiose I ou II), ou pós-zigótica, por erros mitóticos. Após a formação do zigoto, a aneuploidia pode surgir, ainda, por perda cromossômica. A falta de disjunção ou perda cromossômica pós-zigótica pode determinar o chamado mosaicismismo, ou seja, a existência de duas ou mais linhagens celulares cromossomicamente distintas num mesmo indivíduo, originárias de um único zigoto.

A viabilidade da aneuploidia depende do par cromossômico envolvido. Pode-se considerar, na prática, que a única monossomia viável na espécie humana é a dos cromossomos sexuais (45,X, que determina a síndrome de Turner), uma vez que, entre os autosomos, somente a monossomia do 21 é observada em recém-nascidos, e ainda assim em caráter excepcional. Quanto às trissomias autossômicas, as mais frequentemente encontradas em recém-nascidos são as dos cromossomos 8, 13, 18 e 21. Entre os cromossomos sexuais temos o triplo X (47,XXX), a síndrome de Klinefelter (47,XXY) e o duplo Y (47,XYY). Por sua vez, as tetrasomias e pentassomias podem ser consideradas restritas aos cromossomos sexuais (48,XXYY; 49,XXXXX, etc.). Raramente podem ser encontrados, ainda, indivíduos que apresentem, simultaneamente, duas trissomias autossômicas ou uma trissomia autossômica e uma aneuploidia de cromossomos sexuais, as chamadas aneuploidias duplas.

As **aberrações estruturais** são decorrentes de fraturas em um ou mais braços cromossômicos, com perda de fragmentos e/ou ressoldagem em posição anômala. Entre elas, temos: a **deficiência intercalar ou paracêntrica**, que é resultante da perda de um segmento cromossômico após a ocorrência de duas fraturas em um mesmo braço; o **cromossomo em anel**, decorrente de fraturas nos dois braços de um cromossomo seguidas de soldagem das extremidades; o **isocromossomo**, resultante de fratura ocorrida junto ao centrômero, pouco antes da anáfase mitótica ou da meiose II, que origina um cromossomo acêntrico, que degenera, e outro, que na metáfase seguinte se apresentará como metacêntrico, com deficiência completa de um dos braços e duplicação completa do outro; as **inversões**, que são provenientes de duas quebras em um cromossomo unifilamentoso durante a intérfase, e soldadura do segmento intercalar em posição invertida, denominadas **paracêntricas** quando se restringem a um dos braços cromossômicos e **pericêntricas** quando envolvem o centrômero; e as **translocações recíprocas**, que são decorrentes de quebras em dois cromossomos seguidas de soldadura de um segmento cromossômico à região fraturada do outro. As **translocações robertsonianas** são translocações recíprocas que envolvem cromossomos acrocêntricos, de modo que os segmentos trocados entre eles são formados por braços cromossômicos praticamente completos. Entende-se por cromossomo **marcador** (mar) aquele resultante de rearranjo estrutural cuja origem não é possível definir.

Aberrações estruturais que diminuem a viabilidade do cromossomo afetado podem determinar sua perda durante a mitose, resultando em uma célula monossômica. É o caso, por exemplo, do cromossomo X em anel, que é encontrado em mosaico juntamente com uma linhagem 45,X. As figuras 1 a 6 mostram, esquematicamente, a formação das aberrações estruturais aqui citadas.

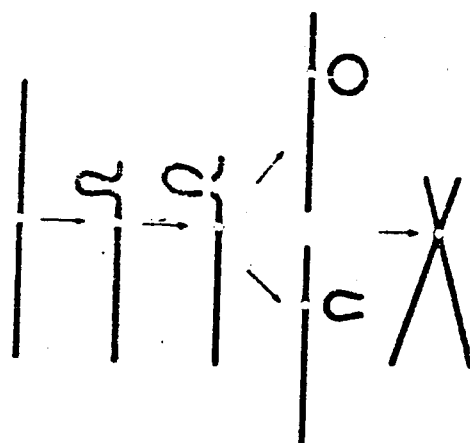


Figura 1. Esquema ilustrativo da formação da deficiência intercalar (Belguelman, 1986).

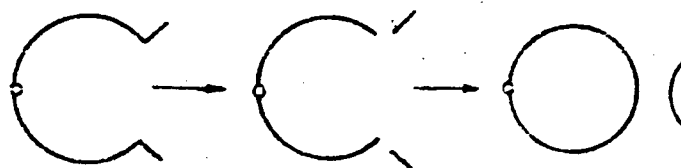


Figura 2. Esquema ilustrativo da formação do cromossomo em anel (Belguelman, 1986).

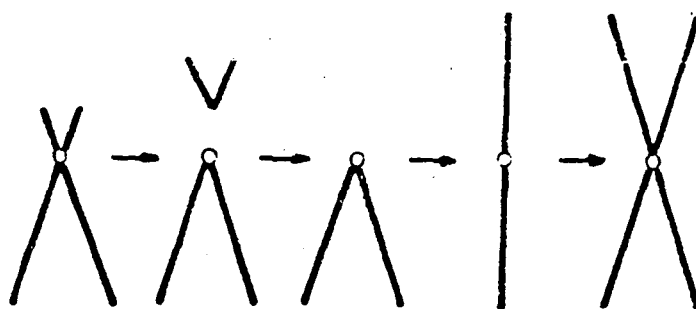


Figura 3. Esquema ilustrativo da formação do isocromossomo (Beiguelman, 1986).

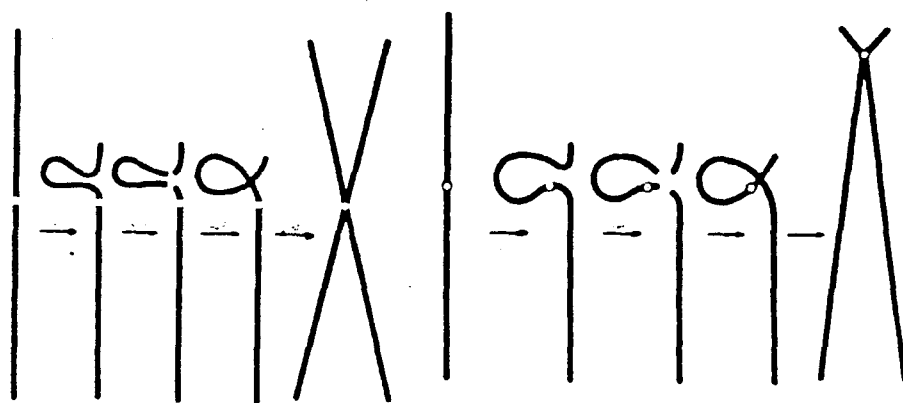


Figura 4. Esquema ilustrativo da formação da inversão paracêntrica (A) e pericêntrica (B) (Beiguelman, 1986).

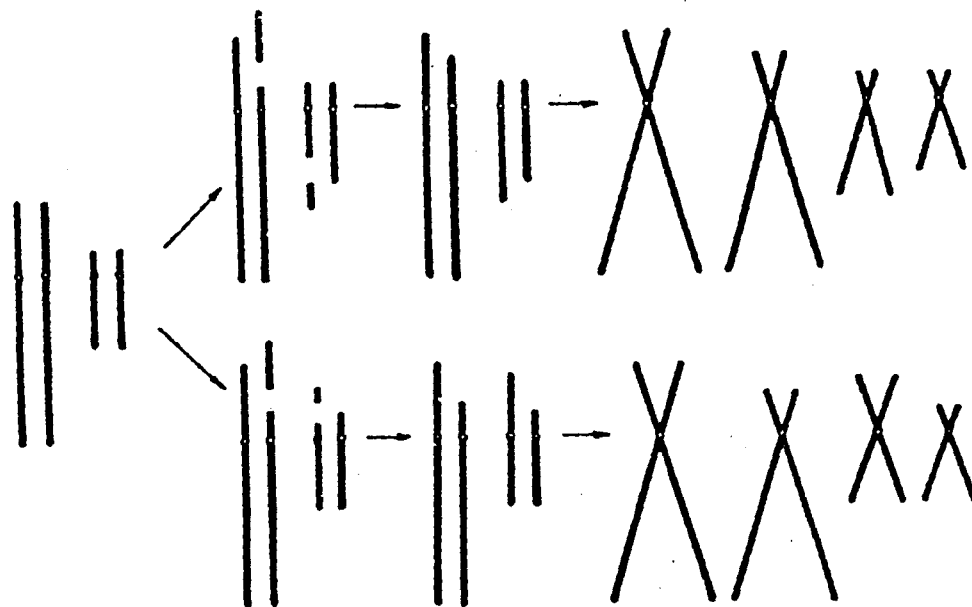


Figura 5. Esquema ilustrativo da formação da translocação recíproca entre cromossomos não homólogos (Beiguelman, 1986).

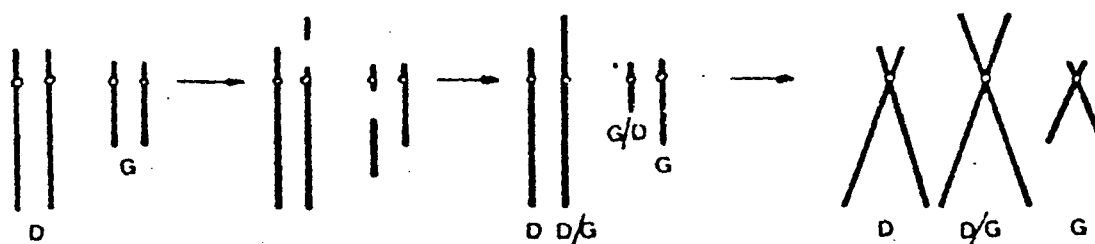


Figura 6. Esquema ilustrativo da formação da translocação robertsoniana (Beiguelman, 1986).

1.B.2) A Análise do Cariótipo Humano

Devido ao fato de, durante a metáfase, a cromatina mostrar-se muito condensada, é nessa fase do ciclo mitótico que se obtém o melhor material para detecção de alterações cromossômicas numéricas e estruturais. Somente em 1956 Tjio e Levan superaram os obstáculos existentes para o estudo do cariótipo humano, estabelecendo em 46 o número de cromossomos presentes em células diplóides. Utilizando cultura de células de pulmão de abortos humanos, esses autores conseguiram obter um acúmulo de metáfases adicionando às células em divisão um veneno mitótico, a colquicina, que impede a formação das fibras do fuso. Quanto à dispersão dos cromossomos, necessária à análise individual desses elementos, esse problema foi solucionado pelo tratamento das células com um meio hipotônico, o que provoca a passagem de líquido para o seu interior, antes de submetê-las a fixação. Finalmente, ao trabalhar com lâminas preparadas a partir de células em suspensão, Tjio e Levan (1956) conseguiram obter uma única camada celular, condição necessária para a obtenção de boas preparações citológicas. A partir desse trabalho pioneiro, logo adaptado a cultura de outros tipos celulares, inclusive a de linfócitos, o estudo dos cromossomos humanos pôde tornar-se um exame laboratorial de rotina.

O cariótipo humano normal, obtido a partir de células somáticas, é constituído por $2n=46$ cromossomos. Desses, 22 pares de homólogos são idênticos no homem e na mulher, os chamados autossomos. O último par, de cromossomos sexuais, está representado no homem por um cromossomo X e um Y, e na mulher por um par de homólogos XX.

Nos cariótipos feminino (46,XX) e masculino (46,XY) normais, os pares cromossômicos estão dispostos de acordo com seu tamanho (do maior para o menor) e com a posição do centrômero (metacêntricos, submetacêntricos e acrocêntricos). A convenção de Denver (1960) propôs a numeração desses pares de 1 a 23, e Patau (1960) sugeriu a subdivisão dos 23 pares em 7 grupos, de A a G. No grupo A estão dois pares de cromossomos metacêntricos e um de submetacêntricos grandes, e no B dois pares de submetacêntricos grandes (porém menores que os do grupo A). No grupo C estão cromossomos submetacêntricos médios, numerados de 6 a 12, além de um par de cromossomos X no sexo feminino ou de um único desses cromossomos no sexo masculino. Os grupos D e E incluem, cada um, três pares de pequenos cromossomos, sendo os primeiros acrocêntricos e os demais submetacêntricos. O grupo F é constituído por dois pares de pequenos metacêntricos e o G por outros dois de acrocêntricos muito pequenos, além do cromossomo Y nos indivíduos do sexo masculino. Além disso, ficou estabelecido que o braço superior dos cromossomos fosse designado pela letra "p" e o inferior pela letra "q". A figura 7 mostra o ideograma do cariótipo humano, com as bandas que nele podem ser evidenciadas por meio de várias técnicas.

Em 1970, Caspersson et al. verificaram que os cromossomos metafásicos humanos, tratados com mostarda de quinacrina, apresentavam uma diferenciação longitudinal em suas cromátidos, com faixas transversais de fluorescência variável. Desse modo, todos os pares cromossômicos puderam ser perfeitamente distinguidos pelas suas particularidades quanto ao número, tamanho, distribuição e intensidade de fluorescência dessas faixas, que foram denominadas bandas Q. A partir de então, apareceram outras técnicas de bandamento, como as que de-

terminam a produção de bandas C (Sumner, 1972) e G (Sanchez *et al.*, 1973), além de outras que tornaram possível não só uma definição mais precisa de aberrações numéricas, mas, principalmente, a caracterização de aberrações cromossômicas estruturais.

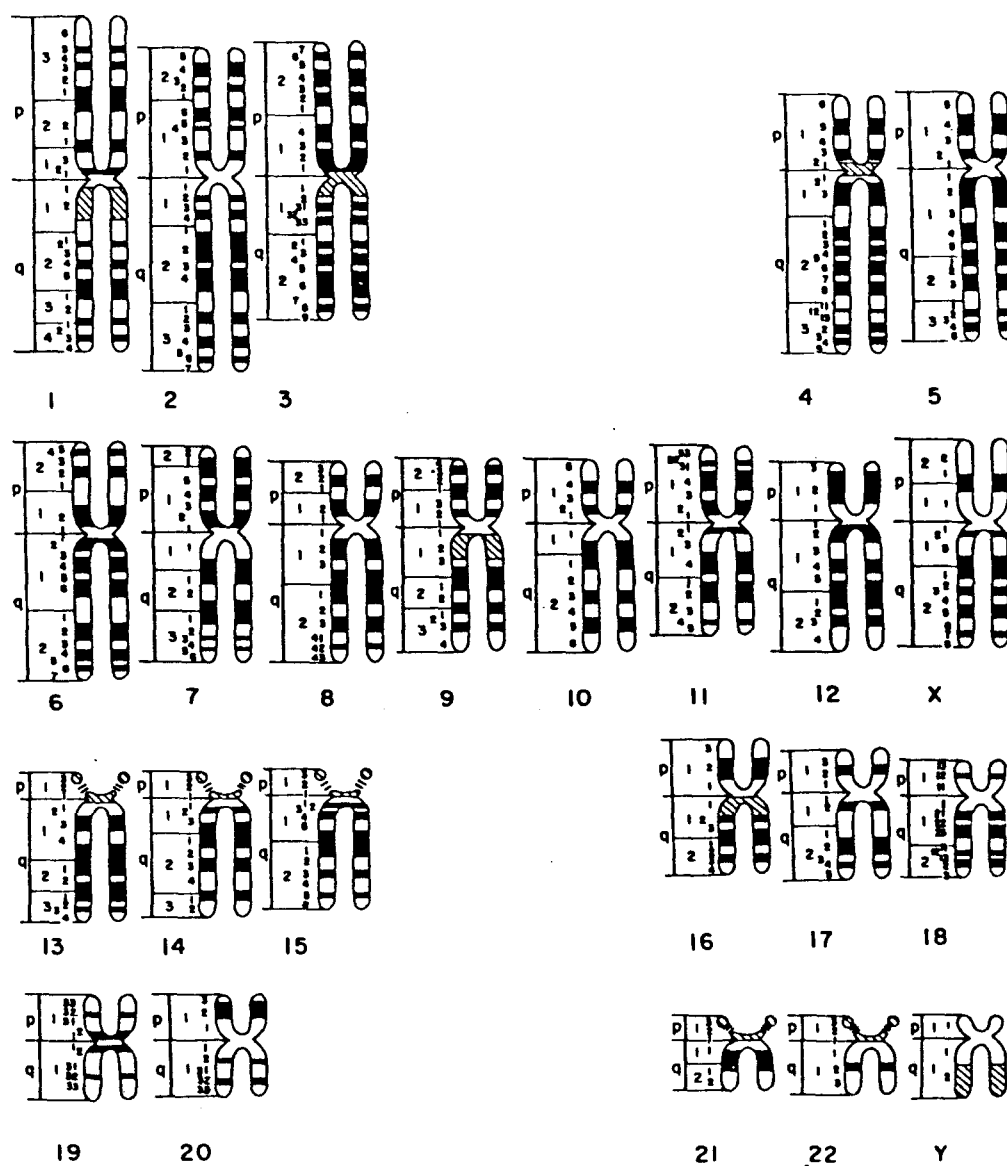


Figura 7. Ideograma do cariótipo humano (Beiguelman, 1986).

1.B.2.2) Sexo Nuclear

Uma alta proporção das células dos indivíduos normais do sexo feminino apresenta em seu núcleo um cromocentro característico, não observável nos indivíduos do sexo masculino, denominado cromatina X ou Corpúculo de Barr (Barr e Bertram, 1949). Essa formação está presente nos núcleos celulares de todos os tecidos femininos, com exceção daqueles da linhagem germinativa (Epstein, 1969; Gartler *et al.*, 1973).

A cromatina X é observada em núcleos interfásicos, e apresenta-se como um grânulo plano-convexo, encontrando-se a face plana encostada à membrana nuclear. Em mulheres normais, está presente em 15 a 55% dos núcleos não picnóticos de células epiteliais de mucosa oral, onde é investigada rotineiramente. Seu estudo pode ser feito, ainda, em células de bulbo capilar, mucosa vaginal, sedimento urinário, vilosidades coriônicas e líquido amniótico. Em leucócitos polimorfonucleares apresenta-se sob a forma de um nódulo, geralmente pedunculado, denominado baqueta (Davidson e Smith, 1954).

A hipótese de Ohno *et al.* (1959), de que o corpúculo de Barr fosse formado por um cromossomo X que se encontra mais condensado durante a intérfase foi posteriormente confirmada por meio de diversos estudos realizados nas décadas de 60 e 70 (Belguelman, 1986). Foi possível verificar, também, que células com um único cromossomo X não apresentam corpúculo de Barr, e que em células com mais de um desses cromossomos um deles nunca se apresenta condensado durante a intérfase. Assim sendo, o número máximo de cromatinas X por núcleo corresponde ao número de cromossomos X existentes na célula menos um.

A partir da descoberta do corpúculo de Barr, foi possível obter indicações de que diversas anomalias sexuais são decorrentes de

alterações do número normal de cromossomos X, o que foi posteriormente confirmado com o surgimento das técnicas de estudo do cariótipo humano.

Utilizando a mostarda de quinacrina, Caspersson *et al.* (1970 b), Pearson *et al.* (1970) e Connen *et al.* (1970) demonstraram ser possível evidenciar o cromossomo Y em núcleos interfásicos, no que passou a denominar-se cromatina Y.

A cromatina Y apresenta-se sob a forma de um corpúsculo altamente fluorescente, correspondente à região heterocromática do braço inferior desse cromossomo. Pode ser observada em 25 a 50% dos núcleos de células de mucosa oral (Pearson *et al.*, 1970), e em 80% dos núcleos de linfócitos de homens normais (Connen *et al.*, 1970), e seu número corresponde exatamente ao número de cromossomos Y existentes na célula.

Embora raramente possa substituir o estudo do cariótipo, o exame do sexo nuclear continua sendo realizado como triagem inicial em casos de ambiguidade genital, em mulheres com baixa estatura e/ou amenorréia primária, na investigação da esterilidade masculina e no diagnóstico pré-natal em gestantes com risco de transmitir uma anomalia recessiva ligada ao cromossomo X.

1.B.2.3) Síndrome de Turner

Descrita por Turner em 1938, essa síndrome caracteriza-se por um fenótipo feminino associado a baixa estatura, infantilismo sexual com amenorréia primária e esterilidade, e diversas malformações somáticas.

Em 1954, Polani *et al.* observaram a ausência do corpúsculo de Barr em certas pacientes que apresentavam agenesia ovariana. Somente em 1959, porém, Ford *et al.* observaram o cariótipo 45,X nessas pacientes, descrevendo a primeira anomalia dos cromossomos sexuais. Posteriormente, foram observadas outras anomalias cariotípicas envolvendo esses cromossomos, cujo quadro clínico é semelhante ao das pacientes 45,X, e que também estão incluídas na síndrome de Turner. Há grande variabilidade fenotípica nas portadoras dessa síndrome, em função, principalmente, da variabilidade cariotípica que apresentam.

São características básicas da síndrome de Turner o infantilismo sexual e a baixa estatura desde o nascimento, mantendo-se, em geral, mais de dois desvios padrão abaixo da média. Há uma combinação de retardo de crescimento intra-útero com um declínio gradual da velocidade de crescimento durante a infância e ausência do estirão puberal.

Ao exame físico, podem ser observadas diversas combinações de manifestações somáticas características, entre as quais face triangular, fendas palpebrais oblíquas para baixo, palato em ogiva, retrognatismo, pavilhões auriculares inclinados para trás, cabelos de implantação baixa na nuca, pescoço curto com pregas pterigonoicais (pescoço alado), tórax em escudo e com aumento de diâmetro ântero posterior, encurtamento de quarto e quinto metacarpianos e metatarsianos, atraso da maturação óssea, unhas hiperconvexas e nevos pigmentados na face, antebraços, tórax ou em qualquer parte do corpo. Na criança recém-nascida é característica a tríade baixa estatura, linfedema de mãos e pés e excesso de pele no pescoço (de Grouchy e Turleau, 1984).

São frequentes as malformações cardiovasculares (20% daquelas cujo cariótipo é 45,X), sendo a coarctação da aorta a anomalia mais comum. Ainda mais frequentes são as anomalias renais e/ou do sistema urinário coletor (40 a 60% dos casos). São comuns ainda o estrabismo, a miopia acentuada e a hipoacusia neurosensorial. Há um aumento da incidência de doenças auto-imunes, em particular tiroidites, que acabam por determinar hipotireoidismo primário (Pal *et al.*, 1977). O hipogonadismo apresentado pelas portadoras de síndrome de Turner é de origem gonadal, acompanhando-se portanto, de níveis elevados de gonadotrofinas hipofisárias. Os ovários são substituídos por tecido fibroso (gônadas em fita), com ausência de elementos da linhagem germinativa. A inteligência, via de regra, é normal (de Grouchy e Turleau, 1984).

O tratamento dessas pacientes consiste na administração de estrógenos e progestágenos para induzir o surgimento de caracteres sexuais secundários e de ciclos menstruais. Há uma tendência, atualmente, a postergar essa terapia de substituição, a fim de procurar estimular a velocidade de crescimento com o uso de hormônio do crescimento, oxandrolona, ou estrógenos em dose muito baixa (Ross *et al.*, 1986; Rosenfeld, 1989).

Nas pacientes com cariótipo 45,X, assim como naquelas que apresentam cromossomo Y em sua constituição cromossômica, não se observa corpúsculo de Barr (cromatina X) em núcleos interfásicos da mucosa oral, o que indica, de imediato, a existência de aberração dos cromossomos sexuais. Nos casos de mosaicismos e de alterações estruturais que coexistem com linhagens 45,X, essa indicação é dada pela frequência de cromatina X abaixo do normal (<15%), e também, em alguns

casos, pela presença de cromatinas duplas. Existem, porém, alterações estruturais em que se observa cromatina X única e com frequência normal. Assim sendo, embora a cromatina X seja um exame de triagem extremamente útil, ela não detecta a totalidade dos casos de alterações do cromossomo X, como pode ser verificado no Quadro III, extraído de de Grouchy e Turleau (1984).

O que torna obrigatório o estudo citogenético nas pacientes com suspeita clínica de síndrome de Turner é a necessidade de se identificar aquelas com cariótipo contendo um ou mais cromossomo Y, integros ou não, em virtude desses indivíduos possuírem um alto risco de desenvolver tumores gonadais malignos (Vaughan *et al.*, 1979).

É interessante observar que Kalousek *et al.* (1979), estudando diversos casos de deficiência parcial do cromossomo X, verificaram que a baixa estatura era um sinal constante nessas pacientes, mas que a presença de outros estigmas da síndrome de Turner, incluindo a disfunção ovariana, parece depender da localização da deficiência. Observaram, ainda, que esse tipo de aberração era mais frequente do que se supunha.

O cariótipo 45,X é o mais frequente entre abortos espontâneos, estando presente em quase 9% deles (Hassold *et al.*, 1986). Apesar do alto índice de seleção intra-uterina contra esses conceitos (98 a 99% dessas gestações terminam em aborto espontâneo), a incidência de síndrome de Turner entre recém-nascidos é de 1:2500 (Ferguson-Smith, 1965; Kajii *et al.*, 1980).

O diagnóstico de síndrome de Turner é feito em cerca de um terço dos casos no período neonatal, um terço no decorrer da infância, e o terço restante na adolescência (Hall *et al.*, 1982). Além da grande

Quadro III - Cariótipos Observados na Síndrome de Turner:

CARIÓTIPOS	CORPÚSCULO DE BARR	FREQUÊNCIA (%)
Monossomia X		
45,X	0	55
Mosaicismo		
46,XX/45,X	1	
47,XXX/45,X	2	10
47,XXX/46,XX/45,X	2	
Isocromossomo X		
46,X,i(Xq)	1	
46,X,i(Xq)/45,X	1	
47,X,i(Xq),i(Xq)/		
46,X,i(Xq)/45,X	2	20
46,X,i(Xp)	1	
46,X,i(Xp)/45,X	1	
Deficiências do cromossomo X		
46,X,del(Xp)	1	
46,X,del(Xq)	1	5
46,X,del(Xp)/45,X	1	
46,X,del(Xq)/45,X	1	
Cromossomo X em anel		
46,X,r(X)/45,X	1	5
Presença de cromossomo Y		
46,XY	0	
46,XY/45,X	0	
47,XYY/45,X	0	5
46,X,del(Yq)/45,X	0	
46,X,i(Yq)	0	
46,X,dic(Y)	0	
Cariótipo Normal		
46,XX	1	exceção

variabilidade fenotípica e da dificuldade do não especialista em reconhecer os sinais dismórficos presentes nessa síndrome, a escassez de serviços de Genética Clínica e Citogenética Médica em nosso país faz com que, entre nós, um número maior de pacientes seja diagnosticado tardiamente.

1.C) DIAGNÓSTICO DIFERENCIAL

O diagnóstico diferencial de baixa estatura na infância passa por uma anamnese e um exame físico rigorosos, seguidos de alguns exames subsidiários que permitem, na maioria dos casos, que se elabore uma hipótese diagnóstica.

1.C.1) Anamnese

1.C.1.1) Antecedentes gestacionais e dados do recém-nascido

Devem ser formuladas diversas questões relativas às condições sócio-econômicas e enfermidades crônicas maternas, intercorrências gestacionais, ocorrência de quadros infecciosos agudos, exposição a radiações ionizantes, uso de medicamentos, álcool e fumo durante a gravidez. Também são dados importantes a duração da gestação, se esta foi única ou múltipla, e a época de início e a intensidade dos movimentos fetais, além do ganho do peso materno no decorrer da gravidez.

A fim de determinar se o atraso de crescimento é de origem pré ou pós-natal, é essencial que se obtenha o comprimento da criança ao nascer. É importante, ainda, obter dados acerca da existência ou não de anomalias congênitas.

1.C.1.2) Antecedentes Pessoais

Deve-se procurar identificar sintomas de disfunção de um ou mais sistemas do organismo que possam ser causa de desaceleração do crescimento. É importante, ainda, uma avaliação nutricional, além da investigação sobre a dinâmica familiar, que, quando desequilibrada, pode ser causa do chamado nanismo psicossocial. O achado de retardamento do desenvolvimento neuropsicomotor, por sua vez, indica que a baixa estatura seja parte de algum quadro sindrômico (genético ou não).

Sempre que possível, devem ser obtidos valores de estatura e peso anteriores, a fim de verificar a velocidade de crescimento e a época de início de sua desaceleração.

1.C.1.3) Antecedentes Familiares

A estatura dos pais e dos irmãos deve ser obtida, como também sua época de maturação, que é sugerida pela idade ao início da adolescência. No sexo feminino, toma-se como referência a idade quando da menarca; no sexo masculino, questiona-se acerca da época de surgimento de caracteres sexuais secundários. É importante, ainda, inquirir sobre a existência de consanguinidade entre os genitores e de casos semelhantes de baixa estatura na família, especificando seu grau de parentesco com o propósito.

1.C.2) Exame Físico

Uma vez constatada a baixa estatura, o exame físico deve incluir a obtenção das proporções da criança, a fim de reconhecer aquelas com tronco ou membros curtos, seu grau de nutrição, e a presença de anomalias "minor" e "major" que possam fazer parte de um quadro

sindrômico. Além disso, é importante a avaliação do desenvolvimento puberal e o reconhecimento dos sinais clínicos associados a patologias crônicas dos diversos sistemas do organismo. Quando o paciente se apresenta com múltiplas malformações, é útil consultar os compêndios sobre síndromes dismórficas acompanhadas de baixa estatura (Jones, 1988).

A medição da estatura deve ser feita cuidadosamente e com técnica adequada (Marshall, 1977), e seu valor colocado em gráficos apropriados, como o de Tanner e Whitehouse (1976), o do NCHS - National Center for Health Statistics (1976), e o de Marques *et al.* (1982). O valor esperado da estatura final do indivíduo pode ser obtido a partir da estatura dos pais, adicionando 12,6 cm à estatura da mãe no caso dos meninos ou subtraindo 12,6 cm da estatura do pai no caso das meninas antes de calcular a média da estatura de ambos. 95% das crianças normais têm uma estatura final 9 cm em torno desse valor (Falkner e Tanner, 1986). Uma segunda medida nos meses subsequentes permitirá o cálculo da velocidade de crescimento, que também pode ser comparada com os valores existentes em gráficos específicas.

1.C.3) Exames Subsidiários

As hipóteses diagnósticas elaboradas a partir de dados anamnésticos e de exame físico permitem direcionar a realização dos exames subsidiários. Radiografias de mão e punho esquerdos permitem a avaliação da idade óssea do indivíduo. De um modo geral, exames de avaliação das funções hepática, renal e tireoidiana, testes de má absorção intestinal, dosagens de cálcio, fósforo e fosfatase alcalina, e hemograma completo com velocidade de hemossedimentação permitem detec-

tar quadros infecciosos, distúrbios renais, hepáticos ou do trato gastrointestinal, hipotireoidismo e raquitismo. Nos casos que continuam sem diagnóstico, estão indicados a dosagem do hormônio de crescimento e o estudo citogenético.

1.D). FREQUENCIA RELATIVA DAS DIVERSAS CAUSAS GENÉTICAS DE BAIXA ESTATURA

Em um estudo sobre nanismo feito por Phadke *et al.* (1978), com especial referência à citogenética, observou-se que em 241 casos de baixa estatura 41,5% apresentavam aberrações cromossômicas. Além disso, 40,88% eram portadores de problemas esqueléticos, em 10,7% o nanismo era de causa endócrina, 4,19% dos casos eram de baixa estatura familiar e 2% não foram classificados. Dentre os 101 portadores de aberrações cromossômicas, 68 (28,2%) eram portadores de síndrome de Down, 29 (11,44%) apresentavam aberrações dos cromossomos sexuais, 1 a síndrome de Edwards, 1 a síndrome de Patau, 1 uma deleção do braço longo do cromossomo 22 e 1 uma deleção do braço curto do cromossomo 18. Assim, pode se supor que, numa amostra de pacientes do sexo feminino com bom desenvolvimento neuropsicomotor, somente estariam incluídas as aberrações dos cromossomos sexuais. Não se encontra na literatura, porém, trabalhos acerca da incidência de aberrações cromossômicas nesse grupo de pacientes.

II- OBJETIVOS

Tendo em vista que são poucos os serviços de citogenética médica em nosso país, e que é alto o custo do exame de cariótipo; que o estudo cromossômico, em casos de baixa estatura, acaba sendo indicado, principalmente, para detecção das portadoras de síndrome de Turner; que entre as pacientes do sexo feminino com baixa estatura proporcionada e bom desenvolvimento neuropsicomotor deve-se encontrar uma determinada fração de portadoras de aberrações dos cromossomos sexuais; que a cromatina X, embora não seja exame laboratorial de rotina em nosso país, é de realização relativamente simples e de baixo custo; e que grande parte das aberrações dos cromossomos sexuais em pacientes do sexo feminino podem ser detectadas pela cromatina X, o presente trabalho teve por objetivos determinar a incidência de aberrações dos cromossomos sexuais nessas pacientes e verificar a proporção desses casos que poderiam ser diagnosticados somente com estudo da cromatina X.

III- CASUÍSTICA E METODOS

A casuística utilizada constituiu-se de 38 pacientes do sexo feminino, com baixa estatura proporcionada e bom desenvolvimento neuropsicomotor, com idades variando de 1 a 16 anos, sendo 21 acompanhadas pelos ambulatórios de Pediatria Clínica e de Crescimento e Desenvolvimento, 2 pelo ambulatório de Endócrino-pediatria e 6 pelo de Genética do Hospital de Clínicas da UNICAMP, e 9 pelo ambulatório de Pediatria do Centro de Saúde Escola de Paulínia. Os docentes que indicaram a coleta dos exames estavam cientes da necessidade de incluir na amostra todas as pacientes com estas características, e não somente aquelas com sinais clínicos que lhes sugerissem a síndrome de Turner. A curva utilizada para caracterizar a baixa estatura foi a do NCHS, (1976), incluindo-se na casuística as pacientes cuja estatura se encontrasse abaixo do 2º desvio padrão.

Em todas as pacientes foram realizados o exame de cromatina X, por meio de esfregaço de células da mucosa bucal, e o estudo do cariótipo em cultura de linfócitos de sangue periférico, no laboratório de Citogenética do Departamento de Genética Médica da Faculdade de Ciências Médicas da Universidade Estadual de Campinas.

A determinação da proporção de células com cromatina X, que precedeu o estudo do cariótipo, foi realizada independentemente pela autora deste trabalho e por um técnico do laboratório de Citogenética, Sr. Henry Norberto Ciolfi. Em cada uma das contagens foram observados 100 núcleos, sendo o resultado final obtido pela média das duas análises. Considerou-se como dentro da normalidade os valores acima de 15% e, sempre que possível, nos casos em que a porcentagem encontrada

estava pouco abaixo desse limite, o exame foi repetido utilizando novo material.

As preparações cromossômicas foram analisadas por meio das técnicas de bandamento G e Q. Foram analisadas, no mínimo, 50 metáfases de cada paciente, sendo a maior parte das análises feita diretamente ao microscópio, nas lâminas coradas por meio da técnica de bandas G. Algumas metáfases com bandamento G e Q foram fotomicrografadas e ampliadas, procedendo-se, então, ao emparelhamento dos cromossomos. Com a análise de 50 células, foi possível afastar com cerca de 92,3% de certeza um mosaicismismo com, no mínimo, 5% de células anômalas (estimativa obtida a partir de quadro preparado pelo Prof.Dr. Paulo Alberto Otto, do Instituto de Biociências da Universidade de São Paulo, encontrado em Beiguelman, 1986). As técnicas de exame da cromatina sexual, de cultura de células e de bandamento cromossômico foram aquelas empregadas rotineiramente no Laboratório de Citogenética da FCM - UNICAMP e compiladas em apostila do Serviço pela Profa. Dra. Christine Hackel, descritas a seguir.

Quando necessária, a comparação entre proporções foi feita por meio do teste exato de Fisher (Beiguelman, 1988).

A sensibilidade e a especificidade do exame de cromatina X foram estimadas, respectivamente pelo cálculo da proporção de portadoras de aberrações de cromossomos sexuais, cuja frequência de corpúsculo de Barr era anômala e da proporção de pacientes com cariótipo normal, cuja frequência de cromatina X era também normal.

O cálculo do afastamento da estatura das pacientes com relação a média foi feito por meio do cálculo de Z-score, utilizando o programa do NCHS.

III.A) TÉCNICA DE OBTENÇÃO DE METAFASES A PARTIR DO CULTIVO DE LINFÓCITOS DE SANGUE PERIFÉRICO (modificada de MOOREHEAD *et al.*, 1960).

a) Colheita

Foram colhidos 3 a 5ml de sangue por meio de punção venosa com agulha e seringa descartáveis previamente heparinizadas (0,1ml de heparina), após assepsia local com álcool iodado ou 70%.

b) Cultura de Linfócitos

Foram adicionadas 15 gotas de sangue total heparinizado e 2 gotas de fitohemaglutinina a frascos contendo 5ml de meio de cultura (HAM F-10 ou RPMI 1690) contendo 20% de soro fetal bovino (CULTILAB). Toda a operação foi efetuada em câmara asséptica ou fluxo laminar, próximo a um bico de Bunsen, com material estéril. Os frascos de cultura foram colocados em estufa a 37°C por 72 horas. 30 a 45 minutos antes do fim desse período, acrescentou-se 0,1ml de colquicina $4 \times 10^{-5}M$ ao meio de cultura. Ao final do período de incubação, os frascos foram retirados da estufa, agitados lentamente e seu conteúdo transferido para tubos cônicos. Após centrifugação por 5 minutos a 900 rpm, retirou-se o sobrenadante.

c) Hipotonia Progressiva (Pinto Jr., 1988, comunicação pessoal)

Utilizou-se solução hipotônica de KCl 0,075M aquecida a 37°C. Acrescentou-se a cada tubo 1ml dessa solução, por 5 vezes, com intervalos de 10 minutos. A cada acréscimo, ressuspendeu-se delicadamente o sedimento com pipeta Pasteur. Após 50 minutos, a hipotonia foi interrompida acrescentando 0,5ml de fixador (metanol-ácido acético 3:1) recém-preparado.

d) Fixação

O material foi centrifugado por 5 minutos a 900 rpm. Após retirar o sobrenadante, o sedimento foi ressuspensionado e aspirado com pipeta Pasteur. Após colocar 4ml de fixador em cada tubo, gotejou-se delicadamente o conteúdo de cada pipeta. O material foi ressuspensionado e centrifugado a 900 rpm por 5 minutos. O sobrenadante foi retirado e o procedimento repetido por mais três vezes. Após a última lavagem com fixador, deixou-se uma quantidade de sobrenadante proporcional ao sedimento.

e) Preparação das lâminas

As lâminas limpas foram passadas em álcool-éter e enxugadas com papel absorvente. Pingou-se 3 a 4 gotas do material ressuspensionado sobre a lâmina levemente inclinada, deixando secar à temperatura ambiente.

III.B) TÉCNICA DE OBTENÇÃO DE BANDAS G (SANCHEZ *et al.*, 1973).

Variações utilizadas no Departamento de Genética Médica:

1. Lâminas novas (até 3 dias de idade) foram incubadas em tampão fosfato 0,06M pH = 6,8 por, no mínimo, uma hora. Após serem retiradas do tampão fosfato e escorridas, foram coradas com o corante Wright diluído em tampão fosfato na proporção de 1:3 (1ml do corante mais 3ml do tampão para cada lâmina) por 2 a 4 minutos, após o que foram lavadas com água desionizada. Caso não houvesse marcação, eram descoradas novamente em tampão fosfato e recoradas, conforme já descrito. Caso fosse necessário, o procedimento era repetido mais de uma vez.

2. Lâminas feitas no dia ou com um dia de idade foram incubadas em estufa a 60°C por 1 hora. Após retirá-las da estufa e aguardar que as lâminas voltassem a atingir a temperatura ambiente, foram incubadas em tampão fosfato por no mínimo 1 hora e no máximo 2 horas. Para coloração, utilizou-se o corante Wright/tampão fosfato 1:3, cobrindo a lâmina com 4ml desta solução, durante 2 a 4 minutos. Caso não houvesse marcação, as lâminas eram descoradas em tampão fosfato por 30 minutos e coradas novamente como descrito acima.

3. Lâminas novas foram coradas diretamente com Wright/tampão fosfato 1:3 durante 2 a 4 minutos. Caso não houvesse marcação, as lâminas eram descoradas em tampão fosfato por no mínimo 1 hora e coradas novamente, repetindo-se esse procedimento ainda uma vez caso fosse necessário.

Obs.: Corante Wright

Colocou-se 0,5g de corante (pó) em 200ml de metanol sem acetona deixando em agitador magnético durante 1 hora. O material foi filtrado e guardado em frasco escuro, envelhecendo pelo menos 1 mês antes do uso.

III.C) TÉCNICA DE OBTENÇÃO DE BANDAS Q (CASPERSSON, 1970).

As lâminas foram inicialmente hidratadas em uma série de alcoóis: Alcool absoluto (2 minutos), Alcool 70°GL (2 minutos), Alcool 50°GL (2 minutos) e Alcool 20°GL (5 minutos). Foram então incubadas em tampão MacIlvaine (ph 4,5 a 5,0), a 37°C durante 5 minutos. A coloração foi feita em solução de dihidroclorato de quinacrina a 37°C por duas horas ou em mostarda de quinacrina (Sigma) por uma hora a 37°C. As lâminas foram então lavadas em três banhos de tampão MacIlvaine a

37°C por aproximadamente 15 segundos cada, agitando-as delicadamente. A montagem foi feita com lamínula em tampão MacIlvaine, sendo vedadas as bordas com esmalte de unha. Depois de montadas, as lâminas foram guardadas em geladeira.

Obs.: Solução de Quinacrina (0,5%)

Foram dissolvidos 0,5g de dihidrocloreto de quinacrina em 100 ml de tampão MacIlvaine. Essa solução permaneceu guardada em geladeira, sendo utilizada várias vezes.

III.D) TÉCNICA DE ANÁLISE DA CROMATINA X.

As paredes internas das bochechas foram raspadas com uma espátula de madeira (abaixador de língua), mergulhando-se a espátula após cada raspagem em frasco com solução salina (NaCl 0,9%). O conteúdo do frasco foi transferido para um tubo cônico e centrifugado a 2000 rpm por 5 minutos. Após retirar o sobrenadante, acrescentou-se 5ml de solução salina e o material foi ressuspenso e centrifugado novamente. A lavagem em salina foi repetida por mais duas vezes, ou até que o material ficasse limpo. Depois de retirado o sobrenadante, acrescentou-se 5ml de fixador (metanol-ácido acético 3:1). Após ser homogeneizado, o material foi guardado na geladeira por, no mínimo, 30 minutos, e então centrifugado novamente. Em seguida, o sobrenadante foi removido e adicionou-se algumas gotas de fixador ao tubo com o intuito de diluir o material, que foi então gotejado sobre as lâminas. Após secarem em temperatura ambiente, as lâminas foram colocadas em cuba com HCl 5N, por 10 minutos, e em seguida lavada em água corrente. Após a lavagem, foram coradas com cresil-violeta a 1% em água bidestilada (1g

de cresil-violeta para 100ml de água) por 15 minutos. Finalmente, as lâminas foram passadas em álcool 95°GL por 2 vezes e em álcool absoluto, também por duas vezes.

IV - RESULTADOS

O Quadro IV mostra as porcentagens de cromatinas X positivas e os cariótipos das 38 pacientes estudadas. 7 delas (18,4%) eram portadoras de aberrações de cromossomos sexuais, sendo 2 com cariótipo 45,X, 2 mosaicos 45,X/46,XX, 2 isocromossomos de braço longo do cromossomo X (46,X,1(Xq)) e 1 cariótipo 45,X/46,X,+mar. Nesse último caso, não se detectou sequências de DNA de cromossomo Y em hibridizações realizadas com as sondas pDP1007, pDP105 e pDP97, assinaladas nos intervalos (1), (3 e 6) e (4), respectivamente, intervalos estes definidos segundo mapa de deleção de Vergnaud *et al.*, (1986). Este exame foi realizado no Laboratório de DNA recombinante do Departamento de Genética Médica da Faculdade de Ciências Médicas da UNICAMP, pela pós-graduanda Janete Maria Cerutti.

Uma das pacientes apresentava, ainda, uma translocação robertsoniana entre os cromossomos 13 e 14. O não comparecimento a convocações posteriores impediu que se definisse, pelo cariótipo dos pais, se a translocação havia sido herdada ou não.

O Quadro V mostra a distribuição das portadoras de cariótipos com e sem aberrações de cromossomos sexuais segundo sua procedência. Das 6 pacientes triadas a partir do Ambulatório de Genética, 3 eram portadoras de síndrome de Turner. Comparando-se a amostra desse ambulatório com o conjunto das pacientes encaminhadas de outros serviços, (4 portadoras de aberrações sexuais em 32 casos), não se observa diferença significativa ao nível de 5% ($P = 0,06$). Subtraindo-se os casos encaminhados do Ambulatório de Genética, a incidência de síndrome de Turner passa a ser de 12,5% (4/32).

Em três das portadoras de anomalias dos cromossomos sexuais (45,X e 45,X/46,X,+mar), a cromatina X estava ausente, e em outras 2 (45,X/46,XX) encontrava-se abaixo de 15% (5% e 7-12%). Nas duas pacientes com cariótipo 46,X,1(Xq) a porcentagem de cromatina X positiva encontrava-se dentro da faixa da normalidade.

Em 14 casos a cromatina estava presente em menos de 15% das células analisadas (8 das quais abaixo de 10%), e o resultado do cariótipo foi normal com relação aos cromossomos sexuais.

Como pode ser observado no Quadro VI, das 7 portadoras da síndrome de Turner 5 encontravam-se abaixo do terceiro desvio padrão quanto à estatura ao utilizar-se a curva do NCHS, (1976). Entre as 31 não portadoras de aberrações de cromossomos sexuais, 18 estavam entre o segundo e o terceiro desvio padrão e 13 abaixo do terceiro. Não há, portanto, associação significativa entre a magnitude da baixa estatura e o encontro de anomalias dos cromossomos sexuais ($P=0,16$).

A sensibilidade e a especificidade do exame de cromatina X foram estimados em 71,4% e 53,3%, respectivamente.

QUADRO IV- Resultado do estudo citogenético de 40 portadoras de baixa estatura proporcionada e bom desenvolvimento neuropsicomotor.

Número	Procedência	Idade	Estatura (cm)	Cromatina (X)	Número de metáfases analisadas		Cariótipo
					45	46 total	
01	APHC	6a 08m	102,6*	22		50	46,XX
02	APHC	5a 10m	98,0*	5		50	46,XX
03	APHC	5a 06m	100,9*	- (1)		50	46,XX
04	CSEP	7a 03m	110,2	8		50	46,XX
05	CSEP	7a 04m	108,1	18		50	46,X,1(Xq)
06	APHC	12a 06m	136,1	19		50	46,XX
07	APHC	7a 09m	109,4	19		50	46,XX
08	APHC	10a 02m	118,4*	7		50	46,XX
09	AGHC	6a 08m	103,1	27		50	46,XX
10	APHC	6a 02m	104,0	14		50	46,XX
11	APHC	5a 03m	96,0*	16		50	46,XX
12	APHC	3a 11m	91,9	15		50	46,XX
13	APHC	3a 11m	91,0	8,9 (2)		50	46,XX
14	CSEP	6a 03m	106,0	18		50	46,XX
15	APHC	9a 08m	117,3	8		50	46,XX
16	AEPHC	14a	141,0	5	3	47	45,X/46,XX
17	AEPHC	4a 10m	85,7*	10		50	46,XX
18	APHC	13a 11m	136,5*	9		50	46,XX
19	AGHC	1a 07m	72,8	12		50	46,XX
20	CSEP	7a 09m	110,0	19		50	46,XX
21	CSEP	5a 06m	95,2*	20		50	46,XX
22	APHC	2a 03m	72,8*	21		50	46,XX
23	APHC	9a 04m	119,7	21		50	46,XX
24	AGHC	10a 10m	117,0*	13		50	46,XX
25	APHC	13a 08m	134,4*	0	49	26	45,X/46,X, +mar
26	AGHC	15a 07m	136,0*	0	50	50	45,X
27	APHC	7a 07m	104,3*	25		50	46,XX
28	CSEP	13a 09m	138,4*	9		50	46,XX,t(13,14)
29	CSEP	12a 01m	136,7	21		50	46,XX
30	CSEP	6a 7m	105,5	21		50	46,XX
31	CSEP	7a 01m	106,1	15		50	46,XX
32	APHC	12a 02m	133,5	20		50	46,XX
33	APHC	9a 09m	109,6*	7,12 (2)	4	46	45,X/46,XX
34	APHC	7a 05m	110,5	9		50	46,XX
35	APHC	10a	121,0	10		50	46,XX
36	APHC	7a 04m	95,2*	13,12 (2)		50	46,XX
37	AGHC	5a 05m	85,0*	0	50	50	45,X
38	AGHC	15a 05m	122,0*	26		50	46,X,1(Xq)

CSEP= Centro de Saúde Escola de Paulínia, APHC= Ambulatório de Pediatria do Hospital de Clínicas da UNICAMP, AEPHC= Ambulatório de Endócrino-Pediatria do Hospital de Clínicas da UNICAMP e AGHC= Ambulatório de Genética do Hospital de Clínicas da UNICAMP.

(1) material insuficiente para análise da cromatina X; não compareceu aos retornos marcados.

(2) repetição da análise da cromatina X após nova coleta de material.

* estatura < 3σ DP (NCHS, 1976).

QUADRO V - Distribuição das pacientes estudadas segundo sua procedência e o resultado do cariótipo

Procedência	Aberrações de Cromossomos Sexuais		Total
	+	-	
CSEP	1	8	9
APHC	2	19	21
AEPHC	1	1	2
AGHC	3	3	6
Total	7	31	38

CSEP= Centro de Saúde Escola de Paulínia, APHC= Ambulatório de Pediatria do Hospital de Clínicas da UNICAMP, AEPHC= Ambulatório de Endócrino-Pediatria do Hospital de Clínicas da UNICAMP e AGHC= Ambulatório de Genética do Hospital de Clínicas da UNICAMP.

QUADRO VI - Distribuição das pacientes estudadas segundo sua posição na curva de crescimento.

Posição na curva de crescimento (NCHS, 1976)	Aberrações de Cromossomos Sexuais		Total
	+	-	
2º a 3º DP	2	18	20
< 3º DP	5	13	18
Total	7	31	38

V- DISCUSSÃO

Os resultados obtidos neste trabalho indicam que as aberrações dos cromossomos sexuais são responsáveis por uma parcela significativa dos casos de baixa estatura proporcionada em indivíduos do sexo feminino com bom desenvolvimento neuropsicomotor. No total da amostra, cerca de 1 em cada 5 meninas é portadora de síndrome de Turner. Se não forem considerados os casos do Ambulatório de Genética Médica, ainda assim temos uma anomalia de cromossomos sexuais em cada 8 pacientes.

Embora os casos encaminhados do Ambulatório de Genética tenham sido os que deram entrada naquele serviço com queixa exclusivamente de baixa estatura, o mais provável é que o encaminhamento tenha sido feito por profissionais a quem as demais características clínicas dessas crianças tenham chamado particularmente a atenção. De fato, as duas pacientes com cariótipo homogêneo 45,X e um dos casos de isocromossomo de braço longo do cromossomo X, nos quais espera-se encontrar um fenótipo exuberante, provêm desse ambulatório. E mesmo não havendo diferença significativa ao nível de 5% na proporção de portadoras de anomalias dos cromossomos sexuais nesse ambulatório quando comparado aos demais serviços, ($P = 0,06$), parece mais prudente considerar a existência de uma distorção de averiguação.

O encontro de uma translocação robertsoniana equilibrada entre os cromossomos 13 e 14 em uma das pacientes deve ser fortuito. Esse tipo de translocação ocorre em 0,069% dos indivíduos (Jacobs, 1981), e, via de regra, não tem expressão fenotípica (Schinzel, 1984).

Chama a atenção um cariótipo incomum entre os casos de sín-

drome de Turner: 45,X/46,X,+mar. Esse cromossomo marcador é mais provavelmente originário de aberração estrutural envolvendo o cromossomo X, uma vez que não se detectou sequências de DNA do cromossomo Y, em hibridizações feitas com as sondas pDP1007, pDP105 e pDP97. Na dúvida, porém, tendo em vista a possibilidade de malignização gonadal em presença de fragmentos de Y, está indicada a gonadectomia nessa paciente.

Ao deixar de levar em conta, propositadamente, na obtenção da casuística, a existência ou não de sinais dismórficos que sugerissem a síndrome de Turner, foi possível reproduzir a situação dos médicos não-especialistas em dismorfologia, particularmente aqueles que atuam fora do meio universitário, para quem a grande variabilidade fenotípica das portadoras dessa síndrome é um fator que dificulta consideravelmente a suspeita diagnóstica.

A detecção das portadoras de síndrome de Turner a partir de um de seus sinais clínicos mais constantes, que é a baixa estatura, reveste-se, portanto, de grande importância clínica. Determina não só a indicação de gonadectomia profilática quando há comprovação ou suspeita de presença de cromossomo Y no cariótipo, como no caso acima, como também diversas investigações clínicas e laboratoriais adicionais.

De fato, frente a uma portadora de síndrome de Turner, é essencial a pesquisa de cardiopatias congênitas, de malformações de rins e/ou vias urinárias associadas, de hipoacusia e anomalias oculares, bem como um acompanhamento clínico rigoroso visando a detecção precoce de hipotireoidismo primário adquirido por tireoidite autoimune. Essas pacientes podem se beneficiar, ainda, de tratamento hormonal que propicie um aumento da estatura final, e necessitarão, no futuro, de te-

rapia de substituição com estrógenos e progestágenos para que possam desenvolver caracteres sexuais secundários e menstruar regularmente. Finalmente, o prognóstico praticamente fechado quanto a esterilidade torna aconselhável um acompanhamento psicológico.

A incidência elevada de hipotireoidismo nas portadoras de síndrome de Turner faz com que o diagnóstico laboratorial de deficiência primária adquirida de hormônios tireoidianos não seja suficiente para encerrar uma investigação acerca da etiologia da baixa estatura em uma determinada paciente. Pelo contrário, deve reforçar a indicação do estudo cromossômico.

Embora seja conhecida a impossibilidade de detecção de alterações estruturais do cromossomo X sem mosaicismo pela frequência do corpúsculo de Barr, a proporção desses casos entre as portadoras de síndrome de Turner deve variar conforme a averiguação se faça por meio da baixa estatura, da amenorréia primária ou da presença de distúrbios sugestivos dessa síndrome. Isso se deve, como já foi dito anteriormente, à grande variabilidade fenotípica que acompanha a variabilidade cariotípica.

Neste trabalho, a triagem por meio do exame da cromatina X teria deixado de detectar 2 das 7 pacientes, as portadoras de isocromossomo de braço longo do cromossomo X sem linhagem 45,X em mosaico. Nesses casos, como também nos de deficiência parcial desse cromossomo, a não realização sistemática do cariótipo implicaria em detecção somente a partir do atraso puberal acompanhado de níveis elevados de gonadotrofinas hipofisárias, que indicariam a existência de um hipogonadismo primário associado.

Um maior número de casos (5/7), porém, teria sido detectado pelo estudo da cromatina. Por ser um exame relativamente fácil de ser realizado, e de custo bastante inferior ao do cariótipo, poderia ser utilizado como método rotineiro de triagem dessas pacientes. Embora sua sensibilidade não possa ser considerada plenamente satisfatória (71,4%), o fato de que todos os rearranjos cromossômicos que envolvem o Y poderiam ser detectados pela ausência do corpúsculo de Barr já justificaria, juntamente com a detecção de um número significativo de casos, sua inclusão nos protocolos de investigação de baixa estatura.

Neste trabalho observou-se, ainda, que é baixa a especificidade do exame de cromatina X (53,3%). Dentre 14 casos com cromatina abaixo do limite inferior e cariótipo normal, 8 encontravam-se abaixo de 10%. É possível que algumas dessas pacientes sejam portadoras de criptomosaicismo, visto que a análise de 50 células deixa ainda em aberto uma probabilidade de cerca de 7,7% de que não se detecte um mosaicismo com 5% ou menos de células anômalas. O aumento do número de células analisadas poderia, em alguns casos, permitir a detecção de células 45,X. Nos casos em que isso não ocorresse, estaria indicado o estudo do cariótipo de fibroblastos obtidos a partir de cultura de pele dessas pacientes. É possível que a realização sistemática desses estudos complementares venha a mostrar que a análise da frequência de cromatina X tem uma especificidade maior que aquela sugerida inicialmente.

O limite inferior de 15% mostrou-se eficaz, porém, na detecção dos 2 casos de mosaicismo 45,X/46,XX, um dos quais teve porcentagem de cromatina X bem próxima desse valor (12%). Portanto, mesmo que um estudo exaustivo do cariótipo em outros tecidos dessas 14 pacientes

excluisse, com grande probabilidade, um criptomosaicismo, ainda assim seria necessária a manutenção desse limite como indicativo de estudo cromossômico.

Finalmente, quando comparadas às demais pacientes, as portadoras de síndrome de Turner não apresentaram estatura significativamente mais baixa (menor que o terceiro desvio padrão). Assim sendo, a magnitude da baixa estatura não chega a ser indicativa de estudo cromossômico visando à detecção de anomalias estruturais do cromossomo X, nos casos em que a frequência da cromatina X for normal. De fato, dentre os 6 casos com estatura abaixo do terceiro desvio padrão e cromatina acima de 15%, 1 apresentava um isocromossomo de braço longo do cromossomo X. Quando a estatura estava acima desse limite, encontrou-se 1 portadora de isocromossomo entre 12 pacientes com cromatina X dentro da normalidade ($P = 0,90$).

Atualmente, o estudo citogenético humano faz parte da rotina de exames realizados em laboratórios do primeiro mundo, e tende a ser suplantado, num futuro próximo, pelas técnicas de estudo do DNA. Em nosso meio, porém, a análise do cariótipo é de custo elevado e realizada por pouquíssimos laboratórios especializados. Paralelamente à tentativa de ampliar o número desses laboratórios, e embora sabendo que a situação ideal é a realização sistemática do cariótipo, a realidade brasileira exige que se dê um passo atrás, fazendo uso do estudo do sexo nuclear como método eficiente e de baixo custo para triagem de grande parte das portadoras de síndrome de Turner a partir de um de seus sinais mais constantes, que é a baixa estatura. Os casos confirmados, posteriormente, pelo estudo cromossômico, poderão então ser conduzidos da maneira mais adequada.

VI- CONCLUSÕES

1. É elevada a incidência de aberrações dos cromossomos sexuais entre as portadoras de baixa estatura proporcionada e bom desenvolvimento neuropsicomotor (no mínimo, 1 em cada 8 pacientes).

2. Grande número dessas pacientes poderiam ser detectadas pelo estudo da frequência da cromatina X, que não é eficaz, porém, no diagnóstico de aberrações estruturais do cromossomo X não acompanhadas de linhagem 45,X.

3. A existência de diversos casos com frequência de cromatina X abaixo de 15% porém com cariótipo normal não permite uma flexibilização desse limite, sob pena de não serem diagnosticados mosaicos 45,X/46,XX. Alguns desses casos, na verdade, podem ser devidos a criptomosaicismo com linhagens 45,X.

4. A estatura das portadoras de Síndrome de Turner neste trabalho não foi significativamente mais baixa que a das demais pacientes, o que não permite que a magnitude da baixa estatura seja levada em consideração para indicação de estudo cromossômico nos casos em que a frequência da cromatina X for normal.

5. Embora o estudo cromossômico sistemático seja o ideal na investigação de casos de baixa estatura no sexo feminino, o alto custo do cariótipo e a carência de serviços aptos a realizá-lo em nosso meio tornam a cromatina X um exame de triagem relativamente simples e eficaz para detecção de portadoras da síndrome de Turner a partir do diagnóstico da deficiência de crescimento.

VII- RESUMO

As aberrações dos cromossomos sexuais são um importante fator etiológico a ser investigado na avaliação de crianças do sexo feminino com baixa estatura proporcionada e bom desenvolvimento neuropsicomotor. O estudo citogenético de 38 dessas pacientes mostrou que, no mínimo, 1 em cada 8 são portadoras da síndrome de Turner. Grande parte desses casos teriam sido detectados pela pesquisa da frequência de cromatina X, que não é eficaz, porém, no diagnóstico de aberrações estruturais do cromossomo X não acompanhadas de linhagem 45,X. Entre os casos que se situaram abaixo do limite de 15% de cromatinas X positivas, porém com cariótipo normal, alguns podem ser decorrentes de criptomosaicismo. Na amostra utilizada, portadoras de síndrome de Turner não eram de estatura significativamente mais baixa que as demais pacientes. O baixo custo e a relativa facilidade do estudo da cromatina X indicam que, em nosso meio, esse exame seja incluído nos protocolos de investigação de baixa estatura no sexo feminino como triagem prévia ao estudo do cariótipo.

VIII- SUMMARY

Sex chromosome aberrations are important etiologic factors to be investigated in cases of proportionate short stature in girls with normal psychoneuromotor development. A cytogenetic study of 38 of such patients revealed that at least 1:8 have Turner syndrome. Many of these cases would have been detected by an abnormal frequency of Barr bodies, whereas this technique would fail to detect structural aberrations of the X chromosome not associated to a 45,X cell line. Some of the cases with less than 15% Barr bodies in the buccal smear and a normal karyotype might be due to cryptomosaicism. In this sample, girls with Turner syndrome did not have a significantly shorter stature. The analysis of the frequency of Barr bodies is a simple and nonexpensive screening technique to be included among laboratory examinations of girls with short stature in our country.

IX- REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BARR, M.L. e BERTRAN, E.G.: A morphological distinction between neurones of the male and female, and the behaviour of the nuclear satellite during accelerated nucleoprotein synthesis. Nature 163: 676-677, 1949.
- BEATTY, R.A.: Genetic aspects of spermatozoa. Em: COUTINHO, E.M. e FUCHS, F., (Eds.) - Physiology and genetics of reproduction, Part A, pp.183-196, Plenum Press, N. Yorque, 1974.
- BEIGUELMAN, B.: Genética Médica vol.2: Dinâmica dos genes nas famílias e nas populações, 2ª edição, EDART, São Paulo, 1981.
- BEIGUELMAN, B.: Citogenética Humana, Ed. Guanabara Koogan S.A., Rio de Janeiro, 1986.
- BEIGUELMAN; B.: Curso prático de Bioestatística, Ed. Revista Brasileira de Genética, Ribeirão Preto, 1988.
- CARTER, C.O. e MARSHALL, W.A.: The Genetics of Adult Stature Em: FALKNER, F. e TANNER, J.M. (Eds.) Collection Human Growth - Principles and Prenatal Growth vol.1, pp. 299-305, Plenum Press, Nova Iorque e Londres, 1978.
- CASPERSSON, T.; ZECH, L.; JOHANSSON, C. e MODEST, R.J.: Identification of human chromosomes by DNA-binding fluorescent agents. Chromosoma 30: 215-228, 1970.
- CASPERSSON, T.; ZECH, L.; JOHANSSON, C.; LINDSTEN, J. e HULTÉN, M.: Fluorescent staining of heteropycnotic chromosome regions in human interphase nuclei. Exp. Cell Res. 61: 472-474, 1970b.
- CONNEN, P.E.; LEWIN, P. e VAKIL, D.: Rapid Y chromosome identification in blood smears. Am. J. Hum. Genet. 22: 22a-23b, 1970.

- COUILLIN, P.; RAVISE, N.; AFOUTOU, J.M.; CHAIBI, R.; AZOULAY, M.,
HORS, J.; OURY, J.F.; BOUÉ, J. e BOUÉ, A.: HLA et grossesses
molaires (triploidies, mûles hidatiformes, choriocarcinome). (Etude
étiologique et épidémiologique). Ann. Genet. 30: 197-208, 1987.
- CZEIZEL, E.: Multifactorial aetiology of common congenital malfor-
mations. Em: SZABÓ, G. e PAPP, Z. (Eds.). Medical Genetics
(Proceedings of the Symposium at Debrecen-Hajdúszoboszc, Hungary)
Excerpta Médica, pp. 411-429, Amsterdam-Oxford, 1977.
- DAVIDSON, R.G. e SMITH, D.R.: A sex difference in the polymorphonuclear
neutrophil leucocytes. Brit. Med. J. 2: 6-7, 1954.
- EPSTEIN, C.J.: Mamalian oocytes: X chromosome activity. Science 163:
1078-1079, 1969.
- FALKNER, F. e TANNER, J.M.(eds.): The use and abuse of growth charts.
Human Growth vol.3, pp.95-112, Nova Iorque, Plenun, 1986.
- FERGUSON-SMITH, M.: Karyotype-phenotype correlations in gonadal
dysgenesis and their bearing on the pathogenesis of malforma-
tions. J. Med. Genet 2: 142-154, 1965.
- FORD, C.E.; JONES, K.W.; POLANI, P.E.; ALMEIDA, J.C.C. e BRIGGS, J.H.:
(Turner's Syndrome) A sex chromosome anomaly in a case of gonadal
disgenesis. Lancet 1: 711-713, 1959.
- GARTLER, S.M.; LISKAY, R.M. e GAUT, N.: Two functional X chromosomes
in human fetal oocytes. Exp. Cell Res. 82: 464-466, 1973.
- GROUCHY, J. de e TURLEAU, C.: Clinical Atlas of Human Chromosomes.
John Wiley & Sons, Nova Iorque, 1984.
- HALL, B.D.: A diagnostic Approach to Genetic Causes of Short Stature.
Ala. J. Med. Sci. 22(4): 431-435, 1985.
- HASSOLD, T.J.: Chromosome abnormalities in human reproductive wastage
Trends Genet. 2: 105-110, 1986.

- JACOBS, P.A.: Mutation rates of structural chromosome rearrangements in man. Am. J. Hum. Genet. 33: 44-54, 1981.
- JONES, K.L.: Smith's Recognizable Patterns of Human Malformation. 4ª edição, W.B. Saunders Company, 1988.
- KAJII, T.; FERRIER, A.; NIKAWA, N.; TAKAHARA, H.; OHAMA, K. e AVIRACHAN, S.: Anatomic and chromosomal anomalies in 639 spontaneous abortuses. Hum. Genet. 55(1): 87-98, 1980.
- KALOUSEK, D.; SCHIFFRIN, A.; BERGUER, A.; SPIER, P.; GUYDA, H. e COLLE, E.: Partial short arm deletions of the X chromosome and spontaneous pubertal development in girls with short stature. J. Pediatr. 94: 891-894, 1979.
- MAHONEY, C.P.: Avaliação da criança com baixa estatura. Clin. Ped. Am. Norte 4: 869-895, 1987.
- MARCONDES, E.: Anomalias não endócrinas do crescimento em geral. Em: SETIAN, N. (Ed.). Endocrinologia Pediátrica, pp. 101-107, Sarvier, São Paulo, 1989.
- MARQUES, R.M.; MARCONDES, E.; BERQUÓ, E.; PRANDI, R. e YUNES, J.: Crescimento e Desenvolvimento Pubertário em Crianças e Adolescentes Brasileiros. II. Altura e Peso, Ed. Brasileira de Ciências, São paulo, 1982.
- MARSHAL, W.A.: Human Growth and its disorders. Academic Press, Londres, 1977.
- MOOREHEAD, P.S.; NOWEL, P.C.; MELLMAN, W.J.; BATTIPS, D.M. e HUNGERFORD, A.: Chromosome preparations of leucocytes cultured from human peripheral blood. Exp. Cell Res. 20: 613-616, 1960.
- NATIONAL CENTER FOR HEALTH STATISTICS (USA) - Monthly Vital Statistics Report, 25(3), p.1, 1976.

- OHNO, S.; KAPLAN, W.D. e KINOSITA, R.: Formation of the sex chromatin by a single X chromosome in liver cells of *Rattus Norvegicus*. Exp. Cell Res. 18: 415-418, 1959.
- PAI, G.S.; LEACH, D.C. e WEISS, L.: Thyroid abnormalities in 20 children with Turner Syndrome. J. Pediatr. 91: 267-9, 1977.
- PARKIN, J.M.: The short child. Em: BROOK, C.G.D. (Ed.) - Clinical Paediatric Endocrinology, 2ª edição, pp. 96-117, Blackwell, 1989.
- PATAU, K.: The identification of individual chromosomes, especially in man. Am. J. Hum. Genet. 12: 250-276, 1960.
- PEARSON, P.L.; BOBROW, M.; e VOSA, C.G.: Technique for identifying Y chromosomes in human interphase nuclei. Nature 226: 78-80, 1970.
- PHADKE, M.A.; MUTALIK, G.S.; SAINANI, G.S.; PHADKE, M.V.; KATE, S.L. e KHEDKAR, V.A. : A study of dwarfism with special reference to chromosomal aberrations. Indian.Pediatr. 15(5): 409-12, 1978.
- POLANI, P.E.; HUNTER, W.F e LENOX, B.: Chromosomal sex in Turner's Syndrome. Lancet 2: 120, 1954.
- PREECE, M.: Growth delay. Acta Paediatr. Belgica 32: 7-15, 1979.
- RIMON, D.L. e HORTON, W.A.: Short stature Part I. J. Pediatr. 92: 523, 1978.
- RIMON, D.L. e HORTON, W.A.: Short stature Part II J. Pediatr. 92: 697, 1978a.
- RIMON, D.L.; BOROCHOWITZ, Z. e HORTON, W.A.: Short stature-physiology. West. J. Med. 144: 710, 1986.
- ROSENFELD, R.G.: Update on growth hormone therapy for Turner's Syndrome. Acta Paediatr. Scand. 356(Supl.): 103-108, 1989.
- ROSS, J.L.; LONG, L.M.; SKERDA, M.; CASSORIA, F.; KURTZ, D.; LORIAUX, L. e CUTLER, G.B.: Effect of low doses of estradiol on 6 month

- rates and predicted height in patients with Turner Syndrome. J. Pediatr. 109: 950-953, 1986.
- RUDMAN, D.; KUTNER, M.H.; BLACKSTON, R.D.; JANSEN, R.D. e PATTERSON, J.H.: Normal variant short stature: Subclassification based on responses to exogenous human growth hormone. J. Clin. Endocrinol. Metab. 49: 92, 1979.
- SANCHEZ, O.; ESCOBAR, J.J. e YUNIS, J.J.: A simple G-banding technique. Lancet 2: 269, 1973.
- SCHAFF-BLASS, E.; BERSTEIN, S.; ROSENFELD, R.L.: Advances in diagnosis and treatment of short stature with special reference to the the role of growth hormone. J. Pediatr. 104: 801, 1984.
- SCHINZEL, A.: Catalogue of Unbalanced Chromosome Aberrations in Man. de Gruyter, Berlin, Nova Iorque, 1984.
- SMITH; D.W.: Growth and its Disorders: Basics and Standards, Approach and Classifications, Growth Deficiency Disorders, Obesity. vol.XV, W.B. Saunders Company, Filadélfia, Londres, Toronto, 1977.
- HUNNER, A.T.: A simple technique for demonstrating centromeric heterocromatin. Exp. Cell Res. 75: 304-306, 1972.
- TANNER, J.M.; HEALY, M.J.R.; LOCKHART, R.D.; MACKENZIE, J.D. e WHITEHOUSE, R.H.: Prediction of adult body measurements from measurements taken each year from birth to 5 years. Arch. Dis. Child 31: 372-381, 1956.
- TANNER, J.M. e WHITEHOUSE, R.H.: Clinical longitudinal standards for height, weight, height velocity, weight velocity, and stages of puberty. Arch. Dis. Child. 51: 170-179, 1976.
- TIJO, J.H. e LEVAN, A.: The chromosome number of man. Hereditas 42: 1-6, 1956.

TURNER, H.H.: A syndrome of infantilism, congenital webbed neck, and cubitus valgus. Endocrinology 23: 566-574, 1938.

VAUGHAN, V.C.; MACKAY, R.J.; BEHRMAN, R.E.: Distúrbios Pré-Natais. Trad: LIMA, E.S.; COSENDEY, E.B. e SILVA JR., E.F., Nelson: tratado de pediatria vol.1, pp.323-361, 11ª edição, Ed. Interamericana, Rio de Janeiro, 1983.

VERGNAUD, G.; PAGE, D.C.; SIMMLER, M.C.; BROWN, L.; ROUYER, F.; NOEL, B.; BOTSTEIN, D.; de la CHAPELLE, A. e WEISSENBAACH, J.: A deletion map of the human Y chromosome based on DNA hybridization. Am. J. Hum. Genet. 38: 109-124, 1986.