

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO  
FACULDADE DE MEDICINA DE RIBEIRÃO PRETO

" INSTABILIDADE CROMOSSÔMICA EM DOENÇAS  
DE ENVELHECIMENTO PRECOCE "

LÚCIA MARIA DE MIRANDA ADAD

Dissertação apresentada à Faculdade de Medicina de Ri  
beirão Preto, da Universidade de São Paulo, para ob -  
tenção do grau de mestre.

ORIENTADORA: PROFa. DRa. IRIS FERRARI

RIBEIRÃO PRETO

. 1985

- Aos meus pais

Abrahão e Rita

- Aos meus irmãos

À PROFa. DRa. IRIS FERRARI ,  
minha homenagem especial e  
agradecimento, pelo apoio ,  
estímulo e incansável orien-  
tação desde o tema inicial  
deste trabalho.

## AGRADECIMENTOS

- Aos Professores: PROFa.DRa. EMILIA SIMÃO TRAD e ao PROF.DR. SALIM MOYSÉS JORGE, pelo apoio, críticas, e revisão do texto.
- Aos Professores: PROFa.DRa. CATARINA SATIE TAKAHASHI e ao PROF.DR. MOACIR ANTONIO MESTRINER, pelo exemplo, críticas e apoio, que nos ofereceram.
- A PROFa.DRa. MARIA APARECIDA PAIVA FRANCO, pela grande ajuda nos nossos resultados estatísticos.
- A Srta. SUSIE ADRIANA RIBEIRO PENHA, pelo excelente trabalho datilográfico.
- Ao Sr. EMÍLIO GARCIA e as Sras. MARIA HELENA MAMEDE DA COSTA e ROSA PEREIRA BRITTES, pelo brilhante trabalho fotográfico.
- Ao Grupo de Laboratório de Citogenética da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto: MARIA LÚCIA MACHADO, SILVIO AVELINO DOS SANTOS, VANDERCI MASSARO, LUIZ FERNANDO MAZZUCATO, MARCELO JOSÉ DOS SANTOS, MÁRCIO ROGÉRIO PENHA, MARIA APARECIDA OLIVEIRA SILVA e LUIZ ROBERTO DA COSTA JUNIOR, pela ajuda e apoio na execução deste trabalho.
- A todos os Professores, Colegas da Pós-Graduação e funcionários do DEPARTAMENTO DE GENÉTICA E MATEMÁTICA APLICADA À BIOLOGIA e do HOSPITAL DAS CLÍNICAS DA FACULDADE DE MEDICINA DE RIBEIRÃO PRETO DA UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO, pela amizade acolhida e apoio.



- A Srta. ELISABETT GIOVANI, pela ajuda incansável na xerografia.
- Aos pacientes e aos seus familiares, pela confiança depositada em nós.
- As pessoas que tão generosamente serviram de controles neste trabalho.

## Í N D I C E

	Pag:
I. INTRODUÇÃO . . . . .	01
II. OBJETIVOS . . . . .	17
III. MATERIAL E MÉTODOS . . . . .	18
3.1. MATERIAL . . . . .	18
3.2. MÉTODOS - TÉCNICAS . . . . .	19
3.2.1. PARA O ESTUDO DA DETERMINAÇÃO DA FRE - QUÊNCIA DE QUEBRA E "GAP" . . . . .	19
3.2.2. PARA O ESTUDO DA DETERMINAÇÃO E DISTRI - BUIÇÃO DAS TROCAS ENTRE CROMÁTIDES IR - MAS . . . . .	19
3.2.3. ANÁLISE CITOGENÉTICA . . . . .	23
3.2.4. ANÁLISE ESTATÍSTICA . . . . .	24
IV. RESULTADOS . . . . .	25
1 . FREQUENCIA DE TROCAS ENTRE CROMÁTIDES IRMÃS BA - SAIS NOS INDIVÍDUOS CONTROLES NORMAIS . . . . .	25
2 . DISTRIBUIÇÃO PREFERENCIAL DAS TROCAS ENTRE CRO - MÁTIDES IRMÃS POR CROMOSSOMOS OU GRUPO DE CRO - MOSSOMOS NOS INDIVÍDUOS CONTROLES NORMAIS, CON - SIDERANDO-SE + O TAMANHO RELATIVO DOS CROMOSSO - MOS METAFÁSICOS, NO LOTE DIPLÓIDE . . . . .	27

3 .	FREQÜÊNCIAS DE TROCAS ENTRE CROMÁTIDES IRMÃS DE PACIENTES COM SÍNDROME DE WERNER . . . . .	30
4 .	DISTRIBUIÇÃO PREFERENCIAL DAS TROCAS ENTRE CROMÁTIDES IRMÃS POR CROMOSSOMOS OU GRUPO DE CROMOSSOMOS NOS PACIENTES COM SÍNDROME DE WERNER, CONSIDERANDO-SE <sup>+</sup> O TAMANHO RELATIVO DOS CROMOSSOMOS METAFÁSICOS, NO LOTE DIPLÓIDE . . . . .	32
5 .	FREQÜÊNCIAS DE ABERRAÇÕES CROMOSSÔMICAS ESTRUTURAI DOS PACIENTES COM SÍNDROME DE WERNER . . . . .	34
6 .	FREQÜÊNCIAS DE TROCAS ENTRE CROMÁTIDES IRMÃS NOS PACIENTES DE PROGÉRIA . . . . .	40
7 .	DISTRIBUIÇÃO PREFERENCIAL DAS TROCAS ENTRE CROMÁTIDES IRMÃS POR CROMOSSOMOS OU GRUPO DE CROMOSSOMOS NOS PACIENTES DE PROGÉRIA, CONSIDERANDO-SE <sup>+</sup> O TAMANHO RELATIVO DOS CROMOSSOMOS METAFÁSICOS, NO LOTE DIPLÓIDE . . . . .	42
8 .	FREQÜÊNCIAS DE ABERRAÇÕES CROMOSSÔMICAS ESTRUTURAI DE PACIENTES DE PROGÉRIA . . . . .	45
9..	FREQÜÊNCIAS DE TROCAS ENTRE CROMÁTIDES IRMÃS DOS PAIS E DA IRMANDADE DE PACIENTES DE PROGÉRIA (1 e 2) . . . . .	51
10.	FREQÜÊNCIAS DE ABERRAÇÕES CROMOSSÔMICAS ESTRUTURAI DOS PAIS E DA IRMANDADE DOS PACIENTES DE PROGÉRIA (1 e 2) . . . . .	53
V.	DISCUSSÃO . . . . .	61
VI.	CONCLUSÕES . . . . .	71
VII.	SUMÁRIO . . . . .	73

VIII. SUMMARY . . . . .	74
IX. BIBLIOGRAFIA . . . . .	75
X. APÊNDICE . . . . .	87

## I. INTRODUÇÃO

Estabilidade cromossômica pode ser definida como a permanência da integridade de estrutura e função de cada cromossomo durante o ciclo celular.

Instabilidade cromossômica, foi um termo criado por HECHT e McCRAW (1977) para definir uma condição em que a estabilidade cromossômica é defeituosa associada à predisposição ao cancer.

A instabilidade cromossômica é detectada a través do estudo da frequência de "gaps" e de quebras cromossômicas ou de trocas entre cromátides irmãs, em cultura temporária de linfócitos ou de fibroblastos.

As anomalias cromossômicas não ocorrem de maneira sistemática como a que acompanha por exemplo, os retinoblastomas, em que há deleção intersticial no braço longo do cromossomo 13, mas sim qualquer cromossomo pode apresentar anormalidades e estas não se repetem de uma célula para outra.

Algumas síndromes com instabilidade cromossômica, como a Ataxia Telangiectásica, fornecem evidências para a hipótese de que tanto a taxa de mutação gênica como a quebra cromossômica estão sob controle genético. Embora não compreendido totalmente, os mecanismos de seu aparecimento incluem deficiências: na replicação do DNA, no reparo e aumento da sensibilidade aos agentes externos. (WOOLRUFF e THOMPSON, 1982).

Em microscopia óptica, os "gaps" aparecem nas metáfases como uma área não corada na qual nenhum material

cromossômico é visível, de tamanho menor que a largura da cromátide e que na anáfase indicam não haver descontinuidade verdadeira.

A quebra aparece como uma área não-corada, que excede a largura da cromátide e forma fragmentos acêntricos após a anáfase (REVELL, 1959).

Em microscopia eletrônica, existe no "gap" uma conexão da fibra de cromatina, representada por uma leve depressão na cromátide, enquanto que a quebra é caracterizada por uma completa ausência da fibra de cromatina no intervalo cromático da cromátide (MACE et alii, 1978).

As lesões que ocorrem, ao nível de DNA, os mecanismos de reparo e replicação do DNA, bem como as recombinações intra e inter cromossômicas estão relacionadas com a formação das aberrações estruturais dos cromossomos, e se exteriorizam como quebras, os "gaps" e as trocas recíprocas.

O evento primário na formação destas aberrações, é a lesão na molécula do DNA, especialmente pela quebra na cadeia de polipeptídeos que se encontram alinhados na estrutura uninêmica, que é a hélice dupla do DNA. Nesta quebra de fita simples, caso haja o reparo, ocorre a reconstituição do DNA pré-quebrado. Quando tal fato não ocorre, por defeito no reparo, a quebra de fita simples parental pode ser repassada para a outra fita durante o processo de replicação, surgindo a quebra na fita dupla. Para NOWAK e OBE (1984) esta quebra de fita dupla constitui a ocorrência principal para a formação das aberrações cromossômicas estruturais, que surgem quando ocorrem os processos de excisão da lesão, sem o necessário reparo. Se a excisão ocorrer antes da replicação, dará origem às aberrações tipo cromossômicas, atingindo as duas cromátides irmãs. Se ocorrer após a replicação, sem reparo pós-replicação, surgirão aberrações tipo cromatídicas. Desta maneira, os processos de reparo de DNA são também importantes na formação das

aberrações, como ocorrem nas doenças humanas hereditárias com deficiência de reparo como no Xeroderma Pigmentoso (NATARAJAN, 1976; NATARAJAN e OBE, 1982).

Para BROGGER (1971; 1975) a lesão acromática ou "gap" ocorre devido à desespiralização da cromatina ou à alteração na interrelação DNA-proteína e seriam estes de natureza semelhante às constricções secundárias. DIMITROV (1981) verificou a presença de dois tipos de "gaps": um devido à quebra na fita simples de DNA e outro à alteração na ligação DNA-proteína. BROGGER (1982) considerou também dois tipos de "gaps" morfologicamente indistinguíveis: tipo clastogênico (com dano no DNA) e o tipo turbagênico (sem dano no DNA) e que do ponto de vista genético e da vida celular seriam provavelmente inocentes, sendo que as classes de "gaps" que têm consequência genética direta são aquelas que se estendem além deles e que incluem as quebras verdadeiras.

Na formação das trocas ocorre a fusão ilegítima das quebras em um mesmo cromossomo (intratrocas) ou em cromossomos diferentes (intertrocas). Elas exigem a ocorrência de duas quebras de fita dupla nos locais envolvidos. As trocas entre cromátides irmãs surgem como trocas recíprocas em regiões homólogas de cromátides irmãs (LATT, 1981). EVANS (1977) admite que na fase  $G_1$  e  $G_2$  do ciclo celular, as trocas são formadas por processo recombinacional e durante a fase S as trocas ocorrem entre fragmentos Okasaki das duas novas fitas filhas.

A relação de trocas entre cromátides irmãs com os mecanismos de reparo e suas conexões com as aberrações cromossômicas tipo quebra e "gap" permanece desconhecida. Porém alguns agentes mutagênicos, que alteram o DNA como a luz ultravioleta e a mitomicina C, aumentam significativamente as taxas de trocas entre cromátides irmãs. Outros agentes como o Raio X, a Nitrosoguanidina e a 8-etoxicafeína provocam pequeno aumento

de trocas entre cromátides irmãs, enquanto mostram lesões tanto a nível de DNA como cromossômico (KATO e STICK, 1976).

As trocas entre cromátides irmãs foram demonstradas, inicialmente, pelas técnicas de autorradiografia realizadas por TAYLOR et alii, (1957) que utilizaram a timidina tritiada ( $H^3$ td) um precursor de DNA. A timidina era incorporada no DNA, demonstrando assim a distribuição semiconservativa do DNA replicado. As trocas entre cromátides irmãs eram observadas como alterações recíprocas ao longo do cromossomo. Mais recentemente, LATT (1973) substituiu a timidina tritiada ( $H^3$ td) pela bromodeoxiuridina (BrdU), um nucleosídeo halogenado, análogo da timina que a substitue incorporando-se no DNA. PERRY e WOLFF (1974) introduziram o método BrdU-Giemsa combinado ao uso de corante fluorocromo HOECHST 33258 que tem sido usado para a demonstração dos padrões de replicação de trocas entre cromátides irmãs nos cromossomos metafásicos. As técnicas de diferenciação das cromátides irmãs se baseiam no fato de que as cromátides irmãs se coram diferentemente, com os corantes HOECHST 33258 e Giemsa, após as células terem passado duas fases S subseqüentes na presença de bromodeoxiuridina (BrdU). Tal fato tem uma indicação evidente de que o DNA-BrdU substituído nas duas fitas leva à coloração contrastante das cromátides irmãs. Assim as cromátides BrdU substituídas nos dois fios de DNA, têm uma cor pálida, clara e as que apresentam um dos fios não substituído são escuras (WOLFF e PERRY, 1974; LATT, 1981).

FIGURA 1.

Os primeiros trabalhos que referem instabilidade cromossômica, de acordo com a definição de HECHT e McCAY (1977) em patologias humanas, surgiram com os estudos de SCHROEDER et alii, (1964). Estes autores observando em cultura de linfócitos de pacientes com Anemia de Fanconi, detectaram um aumento de quebras e rearranjos cromossômicos. Simultaneamente GERMAN (1964) observou que em cultura de linfócitos de



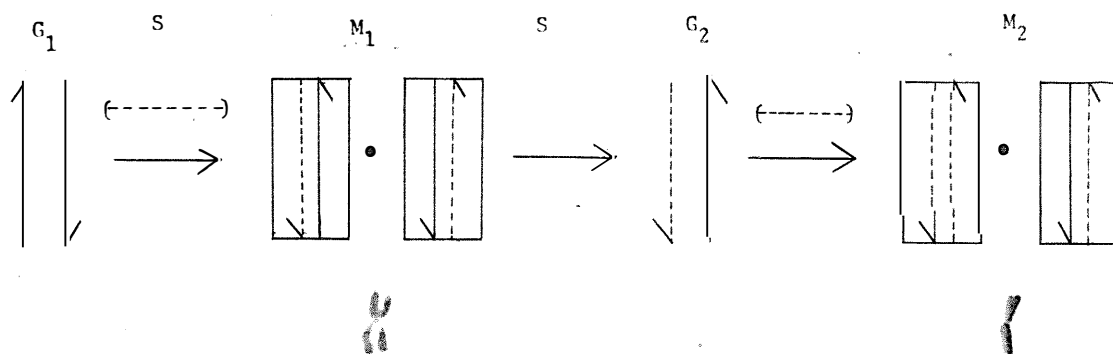


FIGURA 1 - DIFERENCIAÇÃO DAS CROMÁTIDES IRMÃS PELA TÉCNICA DE FLUORESCÊNCIA - PLUS - GIEMSA.

A INCORPORAÇÃO DO BrdU NO DNA, DURANTE 2º CICLOS CELULARES:

(—) REPRESENTA A CADEIA DE POLINUCLEOTÍDEO ONDE NÃO HOUVE INCORPORAÇÃO DO BrdU.

(- - -) REPRESENTA A CADEIA DE POLINUCLEOTÍDEO BrdU SUBSTITUÍDO.

(MODIFICADO DE LATT, 1981).



FIGURA 2 - EXEMPLOS DE "CAPS" (↑) E QUEBRAS (↕)



FIGURA 3 - ASPECTOS DE TROCAS ENTRE CROMÁTIDES IRMÃS. A SETA SIMPLES (+) INDICA TROCA TERMINAL. AS SETAS DUPLAS (++) INDICAM TROCA INTERSTICIAL.

uma paciente com Síndrome de Bloom, havia elevada incidência de quebras cromossômicas. HECHT et alii, (1966) realizaram as primeiras observações de instabilidade cromossômica na Ataxia Telangiectásica.

Procurando um critério para classificar as síndromes com instabilidade cromossômica, HECHT e McCaw (1977), preferiram considerar a história e dividiram as doenças em dois grupos: a) as síndromes com instabilidade cromossômica clássicas, descrita antes de 1970; e b) as novas síndromes com instabilidade cromossômica, descritas desde 1970. Quatro são as síndromes com instabilidade cromossômica clássicas: a Anemia de Fanconi, a Síndrome de Bloom, o Xeroderma Pigmentoso e a Ataxia Telangiectásica. Dentre as novas síndromes com instabilidade cromossômica foram indicadas: a Poroceratose de Mibelli, a Síndrome de Carcinoma Basocelular, a Incontinência Pigmentar e a Esclerodermia.

Outras síndromes que apresentam quebras cromossômicas são: as síndromes de envelhecimento precoce (Síndrome de Werner, Progéria e Síndrome de Cockayne); e a Polipose Reto-Cólica Familiar (GERMAIN e BERNHEIN, 1983).

Em todas estas síndromes além da instabilidade cromossômica existe a predisposição ao cancer. Essa associação gera a hipótese da origem endógena da instabilidade cromossômica, de suas conexões com a mutação a nível de DNA e com o cancer. O trabalho de CLEAVER (1968) que observou deficiência de reparo no dano de DNA em células de pacientes com Xeroderma Pigmentoso, foi a primeira de uma série de pesquisas feitas nesta área. Outras doenças e vários tipos de tecidos em variadas condições de cultura, permitiram a observação da sensibilidade de células aos diferentes agentes mutagênicos físicos e químicos. Tem também servido de tentativas contínuas para se correlacionar a lesão cromossômica com a alteração do DNA e com a gênese do cancer nestas síndromes, (SCHROEDER, 1982 e

GERMAIN e BERNHEIN, 1983). Para isso, os estudos atuais estão dirigidos mais para a relação entre o modo de transmissão genética, as características das anomalias cromossômicas e os tipos de canceres que ocorrem nestas síndromes (HECHT e McCAW, 1977).

As síndromes clássicas - Xeroderma Pigmentoso, Síndrome de Bloom, Anemia de Fanconi e Ataxia Telangiectásica, são de etiologia autossômica recessiva. As novas síndromes com instabilidade cromossômica têm padrões de herança diferentes entre si e são, presumivelmente, causadas por diferentes tipos de doenças genéticas, tais como: defeito no sítio receptor ou na estrutura da proteína. Na Esclerodermia generalizada acredita-se que a instabilidade seja causada por um fator sorológico (HECHT e McCAW, 1977).

A predisposição à malignidade apresentada pelos indivíduos com síndromes com instabilidade cromossômica é distinta de outras formas de predisposição ao cancer, relacionadas com anomalias cromossômicas como a deleção do cromossomo 13 no Retinoblastoma e a deleção 11p associada ao tumor de Wilms (EVANS, 1974 e KNUDSON, 1981). Nestes casos uma anomalia cromossômica específica corresponde a um tipo particular de cancer em um tecido também específico, enquanto que, nas síndromes com instabilidade cromossômica, as anomalias cromossômicas são variadas e as alterações neoplásicas são verificadas numa grande variedade de tecidos (GERMAIN e BERNHEIN, 1983).

A Síndrome de Werner, uma das síndromes de envelhecimento precoce, foi classificada dentro das novas síndromes com instabilidade cromossômica por apresentar múltiplos rearranjos cromossômicos estáveis e em menor extensão, aumento das quebras cromossômicas (SALK, 1982 e GERMAIN e BERNHEIN, 1983). As aberrações cromossômicas somáticas ocorrem em múltiplos tecidos, provavelmente tanto "in vitro" como "in vivo". Apresenta também elevada incidência de neoplasias malignas,

(EPSTEIN et alii, 1966; BJÖRNBERRY, 1976; GOTO et alii, 1981 e KRABKO et alii, 1982).

A Síndrome de Werner foi descrita pela primeira vez por WERNER (1904) como sendo uma esclerodermia associada à catarata, observada em quatro indivíduos de uma mesma irmandade. Em 1945, THANNAUSER revendo os casos desta síndrome relatadas na literatura, descreveu doze características principais: 1) Baixa estatura com extremidades finas e tronco largo, 2) Prematuro embranquecimento dos cabelos; 3) Calvície precoce; 4) Lesões de pele, tipo "escleropoiquilodermia", particularmente na face e nos membros inferiores; 5) Úlceras tróficas nas pernas; 6) Catarata juvenil; 7) Hipogonadismo; 8) Tendência ao diabetes; 9) Calcificações nos vasos sanguíneos; 10) Osteoporose; 11) Calcificações metastáticas; e 12) Tendência para ocorrer numa mesma irmandade.

EPSTEIN et alii, (1966) observaram elevada incidência de neoplasias em pacientes com a Síndrome de Werner, (10% aproximadamente), representada por sarcomas, meningiomas, e carcinomas. GOTO et alii, (1981) encontraram incidência de 5,6% de tumores malignos nos casos revistos da literatura japonesa. Estes autores observaram que as neoplasias que ocorriam, na Síndrome de Werner eram do tipo raro, derivadas do tecido mesenquimal. Na população geral do Japão a prevalência era de cancer gástrico e pulmonar e nos pacientes idosos, de cancer pancreático e prostático. Observaram ainda elevada incidência (4,2%) de morte por cancer na irmandade dos pacientes com Síndrome de Werner, quando comparada com a incidência de morte por cancer na população geral do Japão (0,11%).

EPSTEIN et alii, (1966) na análise de 125 casos de Síndrome de Werner determinaram o padrão de herança como sendo autossômico recessivo padrão este confirmado por GOTO et alii, (1981) em análise de 42 famílias. EPSTEIN et alii, (1966) referiram que a Síndrome de Werner, representa uma "ca-

ricatura" do envelhecimento natural.

A Síndrome de Werner resulta do defeito de um único gene, mas permanece ainda não determinado, se este gene produz uma proteína, uma enzima, ou uma molécula relacionada a um gene de regulação (SALK, 1982).

O entendimento do defeito molecular básico nesta síndrome poderia levar a um melhor conhecimento do processo biológico do envelhecimento natural, particularmente em relação às doenças geriátricas específicas, como a arteriosclerose, diabetes, osteoporose e o desenvolvimento de neoplasias.

Nos achados citológicos da Síndrome de Werner descreve-se a reduzida capacidade de proliferação celular. Este fato permite estabelecer a correlação entre o fenótipo do envelhecimento, tanto "in vivo" como "in vitro". O contínuo decréscimo da viabilidade celular seria a manifestação da senescência a nível celular (EPSTEIN et alii, 1974; GOLDSTEIN, 1979; NORWOOD et alii, 1979; ASO et alii, 1980; SALK et alii, 1981a ; 1981e; SCHOMBERG et alii, 1982; SCAPPATICCI et alii, 1982). A redução do potencial do crescimento celular não foi corrigida quando foram realizados co-cultivos de células de pacientes com Síndrome de Werner e células de indivíduos normais. Este achado revela que o envelhecimento na Síndrome de Werner não é devido a um defeito enzimático que poderia ser corrigido pelos enzimas das células normais em estudos de complementariedade. Não houve também nenhum efeito inibidor do potencial de crescimento das células normais, mostrando assim que as células de Síndrome de Werner não excretam qualquer metabólito tóxico inibidor de crescimento celular (SALK et alii, 1981a).

HOEHN et alii, (1975) observaram em fibroblastos de pele de Síndrome de Werner, uma variedade de rearranjos de mosaicismo de translocação variáveis (MTV) e que eram clonais, podendo ser passados para células filhas. Estes a

chados foram encontrados também por diferentes pesquisadores (NORWOOD et alii, 1979; SALK et alii, 1981b; SCHOENBERG et alii, 1981, 1984 e SCAPPATICCI et alii, 1982). O mesmo rearranjo cromossômico estrutural foi observado em outros tecidos de pacientes com Síndrome de Werner como na linhagem de células da glia de cortex cerebral (HOEHN et alii, 1975) e nos linfócitos de sangue periférico (SCAPPATICCI et alii, 1982). Em linfoblastos de pacientes com Síndrome de Werner, a constituição cromossômica observada foi normal, porém pode-se observar alta frequência de cromossomos dicêntricos (SALK et alii, 1981c).

Este mosaicismo de translocações variadas é também encontrado em fibroblastos de indivíduos não portadores da Síndrome de Werner (HOEHN et alii, 1975; LITTLEFIELD e MAILHES, 1975; HARNDEN et alii, 1976) porém numa frequência bem inferior àquela observada na Síndrome de Werner. SALK et alii, (1981b) observaram uma frequência de MTV de 8,4% em fibroblastos de indivíduos sem Síndrome de Werner e uma frequência de 92% nos indivíduos com esta síndrome.

A despeito do que ocorre na Ataxia Telangiectásica, uma das síndromes com instabilidade clássica onde as quebras cromossômicas ocorrem em todos os cromossomos mas com locais preferenciais de quebras nos cromossomos 14, 7, 6 e X (HAYASHI e SCHMIDT, 1975; OXFORD et alii, 1975 e GERMAIN e BERNHEIN, 1983), na Síndrome de Werner as translocações, ocorrem em todos os cromossomos, aparentemente ao acaso, porém existem locais específicos de rearranjos chamados "hotspots". Estes locais foram em número de quatro e determinados nas regiões 1q12, 1q44, 5q12 e 6cen. Os pontos onde os rearranjos ocorriam com menor frequência não foram determinados. SALK, 1982 refere a importância em se observar que dentre estas regiões cromossômicas principais, onde ocorrem, freqüentemente, os rearranjos cromossômicos, a região 1q12 tem participado com



certa freqüência nos rearranjos cromossômicos de cancer de ovário e de bexiga (ATKIN e BAKER, 1978), bem como, nas células infectadas pelo adenovirus 12, nas doenças hematológicas e nas anormalidades cromossômicas próprias (ROWLEY, 1977) e a região 1q44 está frequentemente relacionadas com as quebras induzidas pelo adenovirus 12 (ROWLEY, 1977).

NODERSON (1977) pode detectar a ocorrência de diminuição das quebras cromossômicas nas células de Síndrome de Werner, quando estas eram tratadas com enzimas limpadores de radicais livres: a dismutase superóxida e a catalase. Isto sugeriu que a instabilidade cromossômica na Síndrome de Werner, fosse devido à instabilidade de suas células aos danos causados pelos radicais de oxigênio livre. Uma teoria baseada nos efeitos deletérios dos radicais de oxigênio livre nas células relacionadas com o envelhecimento e aparecimento de doenças degenerativas associadas, foi proposta por HARMAN (1956). Estes radicais livres reagem com a catalase molecular do oxigênio e as enzimas oxidativas do tecido e nos metais, ferro, cobalto e manganês. Entretanto, nem o tratamento com os enzimas limpadores e nem a redução do oxigênio atmosférico nas culturas, fizeram reduzir os rearranjos cromossômicos ou melhoraram o potencial de crescimento celular (SALK et alii, 1981c). MARKLUND et alii, (1981) observaram que a atividade dos enzimas limpadores nos eritrócitos e nos linfócitos de pacientes com Síndrome de Werner eram normais.

Os trabalhos de SALK et alii (1981b) em fibroblastos de pacientes com Síndrome de Werner, embora relatem um aumento nas quebras cromossômicas, não foram quantificadas e de SCHONBERG et alii, (1981) em culturas de linfócitos, fibroblastos e linfoblastos, quantifica as quebras cromossômicas na Síndrome de Werner, mas não compara com controles normais, embora refira que não estão aumentadas.

SCAPPATICCI et alii, (1982) observaram prematura disjunção do centrômero (PDC) no cromossomo X em células de Síndrome de Werner. O fenômeno da prematura disjunção do centrômero, bem como a perda do mesmo, tem sido associados ao envelhecimento natural (FITZGERALD, 1975 e NAKAGOME et alii, 1984).

As trocas entre cromátides irmãs espontâneas foram relatadas como normais, tanto em fibroblastos, em cultura de linfócitos de sangue periférico e linfoblastos (BARTRAM et alii, 1976; SALK et alii, 1981b; DARLINGTON et alii, 1981), sendo que mais recentemente, ELLI et alii, (1983) pode observar em cultura de linfócitos de um paciente com Síndrome de Werner aumento significativo de trocas de cromátides irmãs.

DARLINGTON et alii, (1981) observaram em estudo de 3 pacientes, que as trocas de cromátides irmãs induzidas pela mitomicina C foram mais frequentes nas células de dois casos de Síndrome de Werner do que nos seus controles normais, porém as diferenças não foram significantes.

Na Progeria, Síndrome de Hutchinson - Gilford, classificada também como Síndrome de Envelhecimento Precoce como na Síndrome de Werner, o aparecimento das manifestações clássicas é mais precoce e tem sido referida entre as síndromes com instabilidade cromossômica, muito embora não apresente a predisposição aumentada à malignidade. Talvez este fato ocorra, em razão dos indivíduos portadores desta síndrome terem óbito na primeira ou no máximo na segunda década da vida, freqüentemente por doença coronariana (DeBUSK, 1972; AYRES e MIHAN, 1974 e GERMAIN e BERNHEIN, 1983).

Descrita por HUTCHINSON (1886) como uma patologia que apresenta ausência congênita de cabelos, atrofia de pele e seus anexos, GILFORD (1904) foi o primeiro a denominá-la "PROGERIA", termo que se tornou generalizado. A Pro

gêria constitui uma patologia de tecido mesenquimal, resultando em envelhecimento precoce, que ocorre desde o primeiro ano de vida e cujas características clínicas são: 1) Baixo desenvolvimento ponderoestatural; 2) Ausência de completa maturação sexual; 3) Perda generalizada do tecido adiposo subcutâneo com pele fina, tipo "Esclerodermia"; 4) Desproporção crânio-facial; 5) Micrognatia; 6) Circulação venosa superficial proeminente; 7) Alopecia; 8) Olhos proeminentes; 9) Aparência facial de pássaro; 10) Anormalidades dentárias; 11) Displasias esqueléticas com articulações proeminentes e rígidas.

Sua etiologia não está completamente elucidada, sendo a maioria dos casos esporádicos em filhos de casais com idades avançadas, o que sugere herança autossômica dominante por mutação nova (DE BUSK, 1972). Alguns casos de famílias com consanguinidade positiva, pais primos de primeiro grau e/ou vários filhos afetados, tem sugerido herança autossômica recessiva. Heterogeneidade genética foi atribuída a esta patologia (SMITH, 1982).

Como na Síndrome de Werner, a capacidade proliferativa celular dos fibroblastos de pele de pacientes com Progéria está também diminuída em relação aos fibroblastos dos indivíduos normais. (GOLDSTEIN, 1969 e DANES, 1971).

Um decréscimo de reparo no DNA para quebras simples induzidas por irradiação gama foi observado em fibroblastos de cultura de pele de pacientes com Progéria quando comparados com culturas de controle normais (EPSTEIN et alii, 1974 e RAINBOW e HOMES, 1976). Tal fato não foi observado por REGAN e SETOW (1974) que observaram, com técnica similar, que o defeito não era inerente ao reparo da quebra de DNA induzida pela radiação, mas que poderia ter havido uma reduzida e variável habilidade de reparo após o tratamento, de rotina da cultura, com tripsina.

BROWN et alii, (1976) relataram em três ex

perimentos com células de pacientes de Progéria co-cultivadas com: 1) Células de indivíduos normais; 2) Células de hamster e 3) Células de pacientes afetados com a mesma síndrome, mas sem parentesco, que eram capazes de fazer o reparo de DNA em tempo normal, após irradiação ionizante, o que sugeria a ocorrência de complementação da habilidade de reparo das células de Progéria tanto por células de indivíduos normais, como por células de hamster e mesmo de outros casos de Progéria desde que não relacionados. A complementação ocorrida entre famílias de pacientes de Progéria sugere que haja uma heterogeneidade genética na patologia com diferentes defeitos prováveis para formas diversas da doença.

Diante desses achados, muitas vezes contróvertidos dos estudos citogenéticos nas síndromes de envelhecimento precoce foi proposto, o presente trabalho de pesquisas que tem por objetivos:

## II. OBJETIVOS

Através de cultura temporária de linfócitos, determinar-se a frequência de trocas entre cromátides irmãs, (TCI) quebras e "gaps" cromossômicos de pacientes com Síndrome de Werner e Progéria como método de detecção de possível instabilidade cromossômica nessas patologias.

Para os pacientes de Progéria com confirma da herança autossômica recessiva, verificar a frequência de TCI, quebras e "gaps" cromossômicos nos pais (heterozigotos), com o mesmo método, para se detectar, em caso de ocorrência de instabilidade cromossômica nos homozigotos, manifestação da instabilidade nos heterozigotos, pelo menos sugerida. Se este fato acontecer, estabelecer-se a detecção de heterozigotos na irmandade dos paciente de Progéria, de herança autossômica recessiva, através da detecção da instabilidade cromossômica.

### III. MATERIAL E MÉTODOS

#### 3.1. MATERIAL

O estudo citogenético foi realizado em dois pacientes de Síndrome de Werner, sem grau de parentesco e dois pacientes de Progéria de herança autossômica recessiva, pertencentes a uma mesma irmandade e um caso de Progéria esporádico. Os pacientes são provenientes dos Ambulatórios de Genética Médica e de Dermatologia do Hospital das Clínicas de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo.

Todos os pacientes foram submetidos à avaliação clínica geral e especial, com realização dos estudos genealógicos das famílias e documentação fotográfica (vide apêndice).

Nos casos de Progéria de herança autossômica recessiva, o estudo dos pais e de cinco irmãos normais também foi realizado.

Para cada paciente estudado foi selecionado um controle do mesmo sexo e idade, clinicamente normal, sem história de estar fazendo uso de drogas ou de ter sido submetido à irradiação (Raio X) nos últimos doze meses.

## MÉTODOS

### 3.2. MÉTODOS

#### TÉCNICAS

3.2.1. Para o estudo da determinação da frequência de quebra e "gap" utilizou-se:

A- Cultura temporária de linfócitos de sangue periférico com 48 horas e 72 horas de incubação.

B- Coloração com Giemsa para análise convencional.

3.2.2. Para o estudo da determinação e distribuição das trocas entre cromátides irmãs utilizou-se:

A- Cultura temporária de linfócitos de sangue periférico com 72 horas de incubação.

B- Coloração diferencial das cromátides.

C- Técnica da ação térmica e colo-

ração com Giemsa.

A- Cultura Temporária de linfócitos de sangue periférico pela técnica de macrocultura de MOORHEAD et alii, (1960), modificada no Laboratório de Citogenética Humana da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo. (FERRARI, 1968).

- Procedimento I - Semeadura.

De cada pessoa selecionada são retirados 10 ml de sangue venoso periférico, em seringa heparinizada (Liquemine - Roche 5.000U/ml) e colocados em tubo de ensaio em repouso por  $\pm$  2 horas para sedimentação das hemácias e retirada de 2 ml de plasma.

Semeia-se 1,0 ml de plasma em cada um dos dois frascos contendo 10 ml de meio de cultura composto de 70% do meio RPMI 1640 (GIBCO, GRAND ISLAND, NY), 20% de soro humano normal, 2% de fito-hemaglutinina e antibióticos: Penicilina (100U/20 ml) e Estreptomicina (0,025U/20 ml). Divide-se um dos frascos em dois frascos com 5 ml de cultura cada, para as culturas de 48 e 72 horas. Ao outro frasco com 10 ml, adiciona-se 5-Bromodeoxiuridina (5 BrdU - Sigma) na quantidade equivalente a 10  $\mu$ g/ml de meio.

Colocam-se as culturas em estufa à 37°C por 48 e 72 horas, sendo que o frasco contendo BrdU é envolvido em papel de alumínio para evitar fotólise do DNA.

Uma hora antes de completar o período de permanência na estufa, adiciona-se 1 gota de colchicina à concentração de 0,16/100 ml de água para cada 5 ml de cultura. Ho



mogeniza-se lentamente e deixa-se na estufa por mais 1 hora.

- Procedimento II - Colheita de Cultura.

Retira-se o material da estufa e transfere-se para tubos de centrífuga, quando então realiza-se a centrifugação a 800 rpm durante 10 minutos. Em seguida retira-se o sobrenadante que é então desprezado.

Realiza-se a hipotonização do material pelo tratamento com 10 ml de solução hipotônica de KCl 0,075M, previamente aquecido a 37°C, durante 10 minutos, sendo 5 minutos na estufa a 37°C e 5 minutos na centrífuga a 800 rpm, desprezando-se em seguida o sobrenadante.

Fixação do material com uma solução de metanol-ácido acético (3:1) em três etapas. Na primeira etapa colocam-se 5 ml de solução fixadora, ressuspende-se o material levemente e centrifuga-se por 5 min. a 800 rpm, retirando-se em seguida o sobrenadante. Na segunda etapa adicionam-se 3 ml da solução fixadora ao material, ressuspende-se e leva-se a centrifugação por 5 minutos. Retira-se parte do fixador, deixando-se aproximadamente 2 ml de material. Quando necessário acrescentar mais fixador, numa terceira etapa, em quantidade proporcional à concentração do material colhido.

- Procedimento III - Preparo das lâminas

Coloca-se uma gota do material em cada lâmina limpa e conservada em água destilada gelada,

Secam-se as lâminas, para análise convencional com uma ligeira flambagem em lamparina de álcool e as lâminas do material contendo BrdU são deixadas secar ao ar.

B- Coloração com Giemsa para Análise Convencional.

Coram-se as lâminas com Giemsa (1:30 em tampão fosfato de  $0,06M$  pH 6,8) por cinco minutos.

C- Coloração diferencial das cromátides - Fluorescente Plus Giemsa (PERRY e WOLFF, 1974) modificada.

Colocam-se sobre as lâminas, secas ao ar, três gotas de corante fluorocromo HOECHST 33258 ( $0,05 \mu g/ml$  de HOECHST solução de Hanks pH 6,8 - 7,0). Cobrem-se então com as lâminulas e colocam-se sob uma lampada de luz ultravioleta (General-Életric - 15W - Germicidal) numa distância de 30cm do material por cinquenta minutos.

Após este período faz-se a retirada das lâminulas imergindo as lâminas em água destilada.

Secam-se as lâminas ao ar e guardam-se na geladeira.

D- Técnica de ação térmica e coloração com Giemsa (KORENBERG e FREDLENDER, 1974) modificada.

Submetem-se lâminas secas a um prévio aquecimento com Fosfato de Sódio, monobásico, ( $NaH_2PO_4$ ),  $1M$  (pH 8,0) em temperatura de  $87^\circ C$  por período que varia de 5 segundos a 1:30 minutos. Em seguida lavam-se as lâminas com água destilada.

Coram-se as lâminas com Giemsa (1:20 em tampão fosfato  $0,06$  pH 6,8) por quatro minutos.

### 3.2.3. ANÁLISE CITOGENÉTICA

Realizada através da análise por dois observadores, independentemente, de 60 metáfases assim distribuídas: 20 para cultura de 48 horas; 20 para cultura de 72 horas em coloração uniforme para o estudo de quebras e "gaps" e 20 metáfases de cultura de 72 horas, com bromodeoxiuridina para o estudo de trocas entre cromátides irmãs. De cada indivíduo foram selecionadas metáfases cujos cromossomos estivessem bem espalhados e de fácil identificação. As metáfases foram analisadas com microscopia óptica e feito o desenho esquemático de cada uma, com identificação dos cromossomos ou grupos de cromossomos 1, 2, 3, B, C, D, E, F, G de acordo com a Conferência de Chicago (1966).

O critério para contagem das TCIs foi de que as trocas terminais foram consideradas unitárias, as trocas intersticiais contadas como duas trocas e as trocas centroméricas não foram contadas por ser difícil a sua diferenciação de cromátides irmãs cruzadas.

O critério para contagem das quebras e "gaps" foi de que as "falhas" ou descontinuidade cromossômica de tamanho maior do que a largura da cromátide foram consideradas como quebras e as menores que esta, consideradas como "gaps". As quebras e "gaps" cromatídicos e isocromatídicos e os fragmentos acêntricos foram considerados como unitário. As células com metáfases pulverizadas não foram incluídas na análise.

As aberrações cromossômicas consideradas foram quebras e "gaps".

### 3.2.4. ANÁLISE ESTATÍSTICA

A fim de verificar se existem pontos preferenciais de TCI na distribuição de trocas entre cromátides irmãs, nos cromossomos ou grupos de cromossomos, quanto ao comprimento relativo na metáfase, foi feita uma análise, empregando-se o teste de  $\chi^2$  (qui-quadrado).

O teste t de Student foi usado para análise de frequência de trocas entre cromátides irmãs (TCI) basais.

Para a análise de aberrações cromossômicas estruturais (quebras e "gaps") foi usado um teste para comparação de duas populações com distribuição Poisson independentes (BROWNLEE, 1965).

#### IV. RESULTADOS

##### 1. FREQUÊNCIA DE TROCAS ENTRE CROMÁTIDES IRMÃS (TCI) BASAIS NOS INDIVÍDUOS CONTROLES NORMAIS.

A frequência média e o desvio padrão das TCI basais de cada um dos 11 indivíduos controles normais são apresentados na Tabela 1.

A frequência média ( $\bar{X}$ ) e o desvio padrão(s) das TCI de todos os controles são  $\bar{X}=7,64$  e  $s=1,24$ .

As idades dos indivíduos controles vão de 9 meses a 63 anos, sendo 6 indivíduos do sexo masculino e 5 do sexo feminino.

TABELA 1 - FREQUENCIA DE TROCAS ENTRE CROMÁTIDES IRMÃS (TCI) BASEAIS NOS INDIVÍDUOS CONTROLES NORMAIS .

INDIVÍDUO	IDADE	SEXO	NÚMERO DE METÁFASES ANALISADAS	NÚMERO TCI	MÉDIA	DESVIO PADRÃO	MÍNIMO DE TCI	MÁXIMO DE TCI	
1	9m	F	20	132	6,60	2,99	2	12	
2	5a	M	20	157	7,85	2,49	3	11	
3	7a	M	20	113	5,65	2,41	2	9	
4	9a	M	20	184	9,20	2,56	6	16	
5	13a	M	20	187	9,35	3,60	4	17	
6	14a	M	20	154	7,70	2,96	3	14	
7	24a	F	20	172	8,60	2,52	3	15	
8	25a	F	20	129	6,45	2,87	2	11	
9	45a	F	20	156	7,80	2,35	4	10	
10	46a	F	20	167	8,35	3,53	3	16	
11	63a	F	20	131	6,55	2,07	4	11	
					$\bar{X}=7,64$	$\pm 1,24$			

a=anos; m=meses;  $\bar{X}$ =média

2. DISTRIBUIÇÃO PREFERENCIAL DAS TROCAS ENTRE CROMÁTIDES IRMÃS POR CROMOSSOMOS OU GRUPO DE CROMOSSOMOS NOS INDIVÍDUOS CONTROLES NORMAIS, CONSIDERANDO-SE O TAMANHO RELATIVO DOS CROMOSSOMOS METAFÁSICOS, NO LOTE DIPLÓIDE.

As tabelas 2 e 3 apresentam a distribuição preferencial das TCI nos cromossomos ou grupo de cromossomos dos indivíduos controles normais.

A Tabela 2 apresenta os dados dos indivíduos do sexo masculino, onde se observa um aumento significativo de TCI nos cromossomos 2 ( $X^2=21,90$ ) e nos cromossomos do grupo B ( $X^2=9,75$ ). Os cromossomos dos grupos E, F e G com valores de  $X^2=7,93$ ;  $X^2=38,67$  e  $X^2=4,29$  respectivamente, apresentam diminuição significativa de TCI, para  $X^2$  crítico 3,84 com nível de significância de 5%.

A Tabela 3 apresenta os dados dos indivíduos do sexo feminino, sendo observado um aumento significativo de TCI nos cromossomos 2 ( $X^2=12,43$ ) e nos cromossomos do grupo B ( $X^2=4,89$ ). Os grupos cromossômicos D, E, F e G, apresentam frequência de TCI significativamente menor que o esperado com  $X^2=11,60$  ;  $X^2=18,05$  ;  $X^2=13,79$  e  $X^2=6,42$  respectivamente. O nível de significância foi de 5% para  $X^2$  crítico de 3,84.

Nos dois grupos controles os cromossomos 2 e os cromossomos do grupo B tiveram as frequências de TCI significativamente maior que o esperado. Já os cromossomos dos grupos E, F, G tiveram suas frequências de TCI significativamente menores que o esperado.

TABELA 22 - DISTRIBUIÇÃO PREFERENCIAL DAS TCI<sub>2</sub> BASAIS NOS INDIVÍDUOS CONTROLES NORMAIS, EM RELAÇÃO AO TAMANHO DOS CROMOSSOMOS METAFÁSICOS, SEXO MASCULINO.

CROMOSSOMOS OU GRUPOS DE CROMOSSOMOS	* COMPRIMENTO RELATIVO DOS CROMOSSOMOS	TCI OBSERVADAS	TCI ESPERADAS	X <sup>2</sup>	
				TCI OBSERVADAS	CALCULADO
I	16,88	84	83,48		0,00
2	16,04	121	79,32		21,90*
3	13,66	59	67,55		1,08
B	24,76	157	122,45		9,74*
C + X	74,82	376	370,03		0,09
D	21,52	119	106,43		1,48
E	19,08	67	94,36		7,93*
F	10,46	7	51,73		38,67*
G + Y	10,03	35	49,60		4,29*
TOTAL					

\* De acordo com Lubs e cols. (1971), Conferência de Paris, 1971; X<sup>2</sup> crítico 3,84; P= 0,05

TCI Esperada =  $\frac{\text{Número de TCI Observada} \times \text{Tamanho Relativo dos Cromossomos ou Grupo Cromossômico}}{\text{Tamanho Relativo Total de Lote Diploide}}$



TABELA 3 - DISTRIBUIÇÃO PREFERENCIAL DAS TCIs BASAIS NOS INDIVÍDUOS CONTROLES NORMAIS, EM RELAÇÃO AO TAMANHO DOS CROMOSSOMOS METAFÁSICOS, SEXO FEMININO.

CROMOSSOMOS OU GRUPOS DE CROMOSSOMOS	* COMPRIMENTO RELATIVO DOS CROMOSSOMOS	TCI OBSERVADS	TCI ESPERADAS	$\chi^2$ CALCULADO
1	16,88	49	46,81	0,10
2	16,04	68	44,48	12,43*
3	13,66	36	37,88	0,09
B	24,76	87	68,66	4,89*
C + X	79,94	216	221,69	0,14
D	21,52	86	59,68	11,60*
E	19,08	22	52,91	18,05
F	10,46	9	29,00	13,79*
G Y	7,88	10	21,85	6,42*
TOTAL	210,22	583		

+De acordo com Lubs e cols. (1971). Conferência de Paris, 1971;  $\chi^2$  crítico 3,84; P = 0,05

## SÍNDROME DE WERNER

### 3. FREQUÊNCIAS DAS TROCAS ENTRE CROMÁTIDES IRMÃS DE PACIENTES COM SÍNDROME DE WERNER.

Na análise da frequência de TCI basais de dois pacientes com Síndrome de Werner e de seus controles normais do mesmo sexo e idade observa-se uma pequena diminuição na taxa de TCI nos pacientes, porém esta diferença não é significativa, para um t crítico de 1,68 com 5% de nível de significância, conforme está apresentado na Tabela 4.

TABELA 4 - FREQUÊNCIAS DE TCIS. BASAIS DE DOIS PACIENTES COM SÍNDROME DE WERNER.

INDIVIDUO	Nº DE METAFASES ANALISADAS	MÉDIA DE TCI/CÉLULA	t CALCULADO
Paciente com Síndrome de Werner 1 (25a)	20	5,55	
Controle	20	6,45	-1,07
Paciente com Síndrome de Werner 2 (45a)	20	6,85	
Controle	20	7,80	-1,26

a=anos

t crítico=1,68

P=0,05

G1=38

4. DISTRIBUIÇÃO PREFERENCIAL DAS TROCAS ENTRE CROMÁTIDES IRMÃS POR CROMOSSOMOS OU GRUPO DE CROMOSSOMOS NOS PACIENTES COM SÍNDROME DE WERNER, CONSIDERANDO O TAMANHO RELATIVO DOS CROMOSSOMOS METAFÁSICOS, NO LOTE DIPLÓIDE.

A Tabela 5 apresenta a distribuição preferencial por cromossomos ou grupo de cromossomos nas duas pacientes com Síndrome de Werner, sendo observada maior frequência de TCI nos cromossomos 2 com  $X^2=13,66$ , sendo significativo este achado ( $X^2$  crítico=3,84 com 5% de nível de significância). Observa-se também uma significativa diminuição de frequência de TCI nos cromossomos do grupo F ( $X^2=5,62$ ).

TABELA 5 - DISTRIBUIÇÃO DAS TCI BASAIS EM DOIS PACIENTES COM SÍNDROME DE WERNER, EM RELAÇÃO AO TAMANHO DOS CROMOSSOMOS METAFÁSICOS.

CROMOSSOMOS OU GRUPO DE CROMOSSOMOS	* COMPRIMENTO RELATIVO DOS DOS CROMOSSOMOS (SEX. FEM.)	TCI ORSERVADAS	TCI ESPERADAS	X <sup>2</sup>	
				TCI	CALCULADO
1	16,88	15	19,91	1,21	
2	16,04	35	18,92	13,66*	
3	13,66	10	16,11	2,31	
B	24,76	36	29,20	1,58	
C + X	79,94	103	94,30	0,80	
D	21,52	25	25,38	0,00	
E	19,08	16	25,50	3,53	
F	10,46	4	12,33	5,62*	
G - Y	7,88	4	9,29	3,01	
TOTAL	210,22	248			

\*De acordo com Lules e cols. (1971) Conferência de Paris; X<sup>2</sup> crítico=3,84 ; p= 0,05

## 5. FREQUÊNCIAS DE ABERRAÇÕES CROMOSSÔMICAS ESTRUTURAIS DOS PACIENTES COM SÍNDROME DE WERNER.

As Tabelas 6, 7, 8 e 9 apresentam frequências de aberrações cromossômicas estruturais das duas pacientes com Síndrome de Werner e dos seus controles normais, do mesmo sexo e idade, bem como o valor estatístico para comparação de duas distribuições de Poisson independentes. (BROWNLEE, 1965). A hipótese  $H_0$ , neste caso, estabelece que a taxa de aberrações cromossômicas para o paciente com Síndrome de Werner é igual ao seu controle, e a hipótese  $H_1$  afirma que a taxa de aberrações cromossômicas é maior para pacientes com Síndrome de Werner.

### CULTURAS DE 48 HORAS

Na Tabela 6, os "gaps" foram incluídos para análise e observa-se um aumento da taxa de aberração nas duas pacientes com Síndrome de Werner, porém esta diferença é não-significante ( $Z=1,06$  e  $Z=1,21$  para um  $Z$  crítico= $1,68$ ).

Na Tabela 7, os "gaps" foram excluídos para a análise e observa-se um aumento na frequência de aberrações nas duas pacientes com Síndrome de Werner, em relação aos seus controles normais, embora somente a paciente de Síndrome de Werner 2 (45 anos) apresente diferença significativa ( $Z=1,76$  para  $Z$  crítico= $1,68$ ).

TABELA 6 - FREQUÊNCIAS DE ABERRAÇÕES CROMOSSÔMICAS ESTRUTURAIS, INCLUINDO "GAPS", DE DOIS PACIENTES COM SÍNDROME DE WERNER, EM CULTURA DE 48 HORAS.

INDIVÍDUO	IDADE (ANOS)	SEXO	Nº DE METÁFASES ANALISADAS	Nº DE ABERRAÇÕES OBSERVADAS	Z CALCULADO
Paciente com Síndrome de Werner 1					
	25	F	20	6	
Controle					
	25	F	20	2	1,06
Paciente com Síndrome de Werner 2					
	45	F	20	8	
Controle					
	45	F	20	3	1,21

F=feminino

Z crítico = 1,68

P = 0,05

TABELA 7 - FREQUÊNCIAS DE ABERRAÇÕES CROMOSSÔMICAS ESTRUTURAIS, EXCLUINDO "CAPS", DE DOIS PACIENTES COM SÍNDROME DE WERNER, EM CULTURA DE 48 HORAS.

INDIVÍDUO	IDADE (ANOS)	SEXO	Nº DE METÁFASES ANALISADAS	Nº DE ABERRAÇÕES OBSERVADAS	Z CALCULADO
<b>Paciente com Síndrome de Werner 1</b>					
	25	F	20	2	
Controle	25	F	20	1	0,00
<b>Paciente com Síndrome de Werner 2</b>					
	45	F	20	7	
Controle	45	F	20	1	1,76*

F=feminino

Z crítico= 1,68

P= 0,005



#### CULTURA DE 72 HORAS

Na Tabela 8, os "gaps", estão incluídos na análise onde se observa uma aumento de frequência de aberrações cromossômicas estruturais tipo quebras e "gaps" nas duas pacientes com Síndrome de Werner em relação aos seus controles normais, embora na primeira paciente (25 anos) esta diferença não tenha sido significativa ( $Z=1,33$  para um  $Z$  crítico= $1,68$ ).

Na Tabela 9, os "gaps", estão excluídos da análise e pode-se observar que no paciente de Síndrome de Werner 1 (25 anos) não houve diferença na frequência de aberrações cromossômicas estruturais tipo quebras e "gaps", em relação ao seu controle. No paciente de Síndrome de Werner 2 com idade cronológica maior (45 anos), observa-se uma diferença significativa de aberrações cromossômicas estruturais tipo quebras e "gaps" ( $Z=3,18$  para um  $Z$  crítico de  $1,68$ ), sendo que seu controle, de mesmo sexo e idade, não apresentou nenhuma aberração nas 20 metáfases analisadas.

TABELA 8 - FREQUÊNCIAS DE ABERRAÇÕES CROMOSSÔMICAS ESTRUTURAIS, INCLUINDO "GAPS", DE DOIS PACIENTES COM SÍNDROME DE WERNER, EM CULTURA DE 72 HORAS.

INDIVÍDUO	IDADE (ANOS)	SEXO	Nº DE METÁFASES ANALISADAS	Nº DE ABERRAÇÕES OBSERVADAS	Z CALCULADO
Paciente com Síndrome de Werner 1	25	F	20	7	
Controle	25	F	20	2	1,33
Paciente com Síndrome de Werner 2	45	F	20	18	
Controle	45	F	20	0	4,00*

F=feminino

Z crítico = 1,68

P = 0,05

TABELA 9 .- FREQUÊNCIAS DE ABERRAÇÕES CROMOSSÔMICAS ESTRUTURAIS, EXCLUINDO "GAPS", DE DOIS PACIENTES COM SÍNDROME DE WERNER, EM CULTURA DE 72 HORAS.

INDIVÍDUO	IDADE (ANOS)	SEXO	Nº DE METÁFASES ANALISADAS	Nº DE ABERRAÇÕES OBSERVADAS	Z CALCULADO
Paciente com Síndrome de Werner 1					
	25	F	20	1	
Controle	25	F	20	1	-0,71
Paciente com Síndrome de Werner 2					
	45	F	20	12	
Controle	45	F	20	0	3,18*

F=feminino

Z crítico = 1,68

P = 0,05

## PROGÉRIA

6. FREQUÊNCIAS DE TROCAS ENTRE CROMÁTIDES  
IRMÃS NOS PACIENTES DE PROGÉRIA.

A Tabela 10 apresenta a frequência média de TCI basais nos três pacientes de Progéria e nos seus controles normais de mesmo sexo e idade.

Observou-se que a frequência de TCI basais do paciente de Progéria 1, foi mais elevada que a do seu con-trole normal; que a frequência de TCI basais do paciente de Progéria 2, foi ligeiramente mais elevada do que a do seu contro-le normal e que a frequência de TCI basais do paciente de Progéria 3, foi menor que a do seu controle. No entanto, ao ser testada a hipótese  $H_0$  de que a média de TCI no paciente de Progéria fosse igual ao do seu controle, contra a hipótese  $H_1$  de que aquelas médias fossem diferentes. Nos casos 1 e 3 foi regei-tada a hipótese  $H_0$ , porém no caso 2 foi aceito a hipótese  $H_0$ .

TABELA 10 - FREQUÊNCIAS DE TCI DE TRÊS PACIENTES DE PROGÉRIA.

INDIVÍDUO	Nº DE METÁFASES ANALISADAS	MÉDIA DE TCI/CÉLULA	t CALCULADO
Paciente Progéria 1 (14a)	20	17,45	
Controle (14a)	20	7,71	17,70*
Paciente Progéria 2 (9m)	20	7,05	
Controle (9m)	20	6,60	0,52
Paciente Progéria 3 (9a)	20	4,95	
Controle (9a)	20	9,20	-5,18*

a=anos; m=meses

t crítico  $\pm$  2,02P<sub>r</sub> 0,05

G1=38

7. DISTRIBUIÇÃO PREFERENCIAL DAS TROCAS ENTRE CROMÁTIDES IRMÃS POR CROMOSSOMOS OU GRUPOS DE CROMOSSOMOS NOS PACIENTES DE PROGÉRIA, CONSIDERANDO-SE O TAMANHO RELATIVO DOS CROMOSSOMOS METAFÁSICOS, NO LOTE DIPLÓIDE.

As Tabelas 11 e 12 apresentam a distribuição preferencial das TCI nos cromossomos ou grupos de cromossomos nos três pacientes de Progéria.

A Tabela 11 apresenta os dados dos pacientes do sexo masculino, tendo sido observada maior frequência de TCI nos cromossomos do grupo B ( $X^2=12,47$ ) e do grupo D ( $X^2=4,63$ ) que são significantes para um  $X^2$  crítico = 3,84 com 5% de nível de significância. Observa-se também frequência significativamente menor nos cromossomos do grupo E e F com  $X^2=20,35$  e  $X^2=14,45$  respectivamente.

A Tabela 12 apresenta a distribuição preferencial das TCI da paciente de Progéria do sexo feminino, onde se observa um aumento ligeiramente significativo nos cromossomos 1 ( $X^2=3,94$ ) e um aumento significativo nos cromossomos do grupo B e D com  $X^2=12,46$  e  $X^2=6,34$  respectivamente, para um  $X^2$  crítico = 3,84. Menor frequência de TCI é observada nos cromossomos do grupo E ( $X^2=7,49$ ).

Como se pode observar nos três pacientes de Progéria, os cromossomos do grupo B e D tiveram uma taxa de TCI elevada, enquanto que os cromossomos do grupo E tiveram diminuída.

TABELA 11 - DISTRIBUIÇÃO PREFERENCIAL DAS TCI BÁSICAS EM DOIS PACIENTES DO SEXO MASCULINO DE PROGÉRIA, EM RELAÇÃO AO TAMANHO DOS CROMOSSOMOS METAFÁSICOS.

CROMOSSOMOS OU GRUPOS DE CROMOSSOMOS	+ COMPRIMENTO RELATIVO DOS CROMOSSOMOS	TCI OBSERVADAS	TCI ESPERADAS	$\chi^2$ CALCULADO
1	16,88	55	47,97	1,03
2	16,04	50	45,58	0,43
3	13,66	42	38,82	0,26
B	24,76	100	70,37	12,47*
C + X	74,82	213	212,63	0,00
D	21,52	78	61,16	4,63*
E	19,08	21	54,22	20,35*
E	10,46	9	29,73	14,45*
G + Y	10,03	21	28,46	1,95
TOTAL	207,25	589		

+ De acordo com Lubs e cols. (1971), Conferência de Paris, 1971;  $\chi^2$  crítico 3,84; P= 0,05

TABELA 12 - DISTRIBUIÇÃO PREFERENCIAL DAS TCI<sup>3</sup> BASAIS EM UM PACIENTE DE PROGERIA, EM RELAÇÃO AO TAMANHO DOS CROMOSSOMOS METAFÁSICOS, SEXO FEMININO.

CROMOSSOMOS OU GRUPOS DE CROMOSSOMOS	+ COMPRIMENTO RELATIVO DOS CROMOSSOMOS	TCI OBSERVADAS	TCI ESPERADAS	$\chi^2$ CALCULADO
1	16,88	188	11,32	3,94*
2	16,04	9	10,76	0,29
3	13,66	5	9,16	1,89
B	24,76	31	16,61	12,46*
C + X	79,94	46	53,62	1,08
D	21,52	24	14,43	6,34*
E	19,08	3	12,79	7,49*
F	10,46	3	7,01	2,29
G	7,88	2	5,28	2,04
TOTAL	210,22	141		

\* De acordo com Lubs e cols. (1971). Conferência de Paris, 1971 ;  $\chi^2$  crítico 3,84; P= 0,05



## 8. FREQUÊNCIAS DE ABERRAÇÕES CROMOSSÔMICAS ESTRUTURAIS DE PACIENTES DE PROGÉRIA.

As Tabelas 13, 14, 15 e 16 apresentam as frequências de aberrações cromossômicas estruturais de três pacientes de Progéria e de seus controles normais do mesmo sexo e idade. Foi testada a hipótese de  $H_0$  de que a média de aberrações cromossômicas estruturais no paciente de Progéria fosse igual à do seu controle, contra a hipótese  $H_1$  de que aquelas médias fossem diferentes.

### CULTURAS DE 48 HORAS

Na Tabela 13, os "gaps" estão incluídos na análise, observa-se um ligeiro aumento, com diferença não significativa nos três pacientes de Progéria, sendo que os indivíduos controles dos pacientes 2 e 3 (9 meses e 9 anos de idade) não apresentam aberrações cromossômicas estruturais nas 20 metáfases analisadas ( $Z=1,33$ ;  $Z=0,00$  e  $Z=1,50$  respectivamente)

Na Tabela 14, os "gaps" estão excluídos e observa-se um aumento com diferença não-significante de aberrações no paciente de Progéria 1 ( $Z=1,06$  para um  $Z$  crítico  $\pm 2,02$ ). O controle do paciente Progéria 2 (9 meses) não apresenta aberrações cromossômicas nas 20 metáfases analisadas e a frequência de aberrações do paciente de Progéria 2, não apresenta diferença significativa ( $Z=0,00$ ). O paciente de Progéria 3 (9 anos) não apresenta aberrações cromossômicas nas 20 metáfases analisadas.

TABELA 13- FREQUÊNCIAS DE ABERRAÇÕES CROMOSSÔMICAS ESTRUTURAIS, INCLUINDO "GAPS", DE TRÊS PACIENTES DE PROGÉRIA, EM CULTURA DE 48 HORAS.

INDIVÍDUO	IDADE	SEXO	Nº DE METÁFASES ANALISADAS	Nº DE ABERRAÇÕES OBSERVADAS	Z CALCULADO
Paciente Progéria 1	14a	M	20	7	
Controle	14a	M	20	2	1,33
Paciente Progéria 2	9m	F	20	1	
Controle	9m	F	20	0	0,00
Paciente Progéria 3	9a	M	20	4	
Controle	9a	M	20	0	1,50

a=anos; m=meses; M=masculino; F=feminino

Z crítico  $\pm$  2,02

P= 0,05

TABELA 14- FREQUÊNCIAS DE ABERRAÇÕES CROMOSSÔMICAS ESTRUTURAIS, EXCLUINDO "GAPS", DE TRÊS PACIENTES DE PROGÉRIA, EM CULTURA DE 48 HORAS.

INDIVÍDUO	IDADE	SEXO	Nº DE METAFASES ANALISADAS	Nº DE ABERRAÇÕES OBSERVADAS	Z CALCULADO
Paciente Progéria 1	14a	M	20	6	
Controle	14a	M	20	2	1,06
Paciente Progéria 2	9m	F	20	1	
Controle	9m	F	20	0	0,00
Paciente Progéria 3	9a	M	20	0	
Controle	9a	M	20	0	-

a=anos; m=meses; M=masculino; F=feminino

Z crítico  $\pm$  2,02

P= 0,05

### CULTURAS DE 72 HORAS

Na Tabela 15, os "gaps" estão incluídos na análise e observa-se um aumento das aberrações cromossômicas em todos os três pacientes, em relação aos seus controles normais. Esta diferença porém só é significativa nos pacientes Progéria 1 e 3 ( $Z=4,58$  e  $Z=4,00$  respectivamente) em  $Z$  crítico  $\pm 2,02$  para 5% de nível de significância.

Na Tabela 16, os "gaps" estão excluídos na análise e observa-se um aumento de aberrações cromossômicas estruturais nos pacientes Progéria 1 e 3 (14 e 9 anos de idade), porém, a diferença só está significativa no Paciente Progéria 1 com  $Z=2,77$  para um  $Z$  crítico de  $\pm 2,02$ . No paciente Progéria 3,  $Z=1,22$ . O paciente Progéria 2 (9 meses) não apresenta diferença na frequência de aberrações, em relação ao seu controle normal de mesma idade e sexo.

TABELA 15 - FREQUÊNCIAS DE ABERRAÇÕES CROMOSSÔMICAS ESTRUTURAIS, INCLUINDO "GAPS", DE TRÊS PACIENTES DE PROGERIA, EM CULTURA DE 72 HORAS.

INDIVÍDUO	IDADE	SEXO	Nº DE METÁFASES ANALISADAS	Nº DE ABERRAÇÕES OBSERVADAS	Z CALCULADO
Paciente Progéria 1	14a	M	20	35	
Controle	14a	M	20	5	4,58*
Paciente Progéria 2	9m	F	20	12	
Controle	9m	F	20	4	1,75
Paciente Progéria 3	9a	M	20	23	
Controle	9a	M	20	2	4,00*

a=anos; m=meses; M=masculino; F=feminino

Z crítico  $\pm$  2,02

P= 0,05

TABELA 16- FREQUÊNCIAS DE ABERRAÇÕES CROMOSSÔMICAS ESTRUTURAIS, EXCLUINDO "GAPS", DE TRÊS PACIENTES DE PROGÉRIA, EM CULTURA DE 72 HORAS.

INDIVÍDUO	IDADE	SEXO	Nº DE METÁFASES ANALISADAS	Nº DE ABERRAÇÕES OBSERVADAS	Z CALCULADO
Paciente Progéria 1	14a	M	20	18	
Controle	14a	M	20	4	2,77*
Paciente Progéria 2	9m	F	20	2	
Controle	9m	F	20	2	-0,50
Paciente Progéria 3	9a	M	20	5	
Controle	9a	M	20	1	1,22

a=anos; m=meses; M=masculino; F=feminino

Z crítico  $\pm$  2,02

P= 0,05

## PAIS E IRMANDADE DOS PACIENTES DE PROGÉRIA (1 e 2)

9. FREQUÊNCIAS DE TROCAS ENTRE CROMÁTIDES  
IRMÃS DOS PAIS E DA IRMANDADE DOS PACI-  
ENTES DE PROGÉRIA (1 e 2).

A Tabela 17 apresenta a análise das frequências de TCI basais dos pais e da irmandade dos pacientes de Progéria (1 e 2). Foi testada a hipótese  $H_0$  de que a média de TCI nos pacientes de Progéria fosse igual à de seu controle, contra a hipótese de que aquelas médias fossem diferentes ( $H_1$ ).

Observa-se que as taxas de TCI dos pais dos pacientes, estão ligeiramente aumentadas em relação às de seus controles do mesmo sexo e idade, porém esta diferença não é significativa com  $t=1,80$  (pai) e  $t=0,13$  (mãe) para um  $t$  crítico de  $\pm 2,02$ , com 5% de nível de significância.

A taxa de TCI da irmã (24 anos) está ligeiramente diminuída em relação ao seu controle, porém esta diferença não é significativa ( $t=0,53$  para  $t$  crítico de  $\pm 2,02$ ).

O irmão 1 (13 anos) apresenta um ligeiro aumento de TCI com diferença significativa ( $t=2,06$ ) em relação ao seu controle, enquanto que os outros três irmãos (9, 7 e 5 anos de idade) apresentam um aumento nas taxas de TCI basais com diferença significativa em relação aos seus controles, do mesmo sexo e idade ( $t=7,06$ ;  $t=4,61$  e  $t=7,66$  respectivamente).

TABELA 17 - FREQUÊNCIAS DE TCIs DOS PAIS E DA IRMANDADE DE DOIS PACIENTES DE PROGERIA (1 e 2).

INDIVIDUO	Nº DE METÁFASES ANALISADAS	MÉDIA DE TCI/CÉLULA	t CALCULADO
Pai (63a)	20	7,90	
Controle (63a)	20	6,55	1,80
Mãe (46a)	20	8,50	
Controle (46a)	20	8,35	0,13
Irmã (24a)	20	8,10	
Controle (24a)	20	8,60	0,53
Irmão 1 (13a)	20	11,75	
Controle (13a)	20	9,35	2,06*
Irmão 2 (9a)	20	17,25	
Controle (9a)	20	9,20	7,06*
Irmão 3 (7a)	20	8,75	
Controle (7a)	20	5,56	4,61*
Irmão 4 (5a)	20	15,90	
Controle (5a)	20	7,85	7,66*

A= anos t crítico = 2,02 ; P = 0,05; G1=38



10. FREQUÊNCIAS DE ABERRAÇÕES CROMOSSÔMICAS ESTRUTURAIS DOS PAIS E DA IRMANDADE DOS PACIENTE DE PROGÉRIA (1 e 2).

As Tabelas 18, 19, 20 e 21 apresentam as frequências de aberrações cromossômicas dos pais e da irmandade dos paciente de Progéria (1 e 2) e de seus controles normais do mesmo sexo e idade. Foi testada a hipótese  $H_0$  de que a média das aberrações cromossômicas estruturais nos pacientes de Progéria fosse igual ao do seu controle, contra a hipótese de que aquelas médias fossem diferentes ( $H_1$ ).

CULTURAS DE 48 HORAS

Na Tabela 18, os "gaps", estão incluídos na análise. Observa-se que o pai dos pacientes (63 anos) apresenta aberrações cromossômicas estruturais, porém seu controle, da mesma idade, não apresenta aberrações nas 20 metáfases analisadas. A diferença de frequência das aberrações cromossômicas no pai e seu controle é ligeiramente significativa, ( $t=2,04$  para um  $z$  crítico de  $\pm 2,02$  com 5% de nível de significância). A mãe (46 anos) apresenta frequência de aberrações significativamente diferente em relação ao seu controle ( $Z=2,75$ ).

A irmãs (24 anos) apresenta um aumento de aberrações em relação ao seu controle do mesmo sexo e idade, porém esta diferença não é significativa ( $Z=1,76$  para um  $Z$  crítico de  $\pm 2,02$ ).

Os controles de três irmãos dos pacientes

TABELA 18 - FREQUÊNCIAS DE ABERRAÇÕES CROMOSSÔMICAS ESTRUTURAIS, INCLUINDO "GAPS" DOS PAIS E DA IRMANDADE DOS PACIENTES DE PROGÉRIA (1 e 2), EM CULTURA DE 48 HORAS.

INDIVÍDUO	IDADE (ANOS)	SEXO	Nº DE METÁFASES ANALISADAS	Nº DE ABERRAÇÕES OBSERVADAS	Z CALCULADO
Pai	63	M	20	6	
Controle	63	M	20	0	2,04*
Mãe	46	F	20	14	
Controle	46	F	20	2	2,75*
Irmã	24	F	20	7	
Controle	24	F	20	1	1,76
Irmão 1	13	M	20	3	
Controle	13	M	20	0	1,41
Irmão 2	9	M	20	5	
Controle	9	M	20	0	1,79
Irmão 3	7	M	20	4	
Controle	7	M	20	0	1,50
Irmão 4	5	M	20	0	
Controle	5	M	20	4	-2,50*

M=masculino; F=feminino; Zcrítico  $\pm$  2,02; P= 0,05

TABELA 19 - FREQUÊNCIAS DE ABERRAÇÕES CROMOSSÔMICAS ESTRUTURAIS, EXCLUINDO "GAPS", DOS PAIS E DA IRMANDADE DOS PACIENTES DE PROGÉRIA (1 e 2), EM CULTURA DE 48 HORAS.

INDIVÍDUO	IDADE (ANOS)	SEXO	Nº DE METÁFASES ANALISADAS	Nº DE ABERRAÇÕES OBSERVADAS	Z CALCULADO
Pai	63	M	20	5	
Controle	63	M	20	0	1,79
Mãe	46	F	20	4	
Controle	46	F	20	1	0,89
Irmã	24	F	20	4	
Controle	24	F	20	0	1,50
Irmão 1	13	M	20	2	
Controle	13	M	20	0	0,71
Irmão 2	9	M	20	0	
Controle	9	M	20	0	-
Irmão 3	7	M	20	0	
Controle	7	M	20	0	-
Irmão 4	5	M	20	0	
Controle	5	M	20	1	-2,00

M=masculino; F=feminino; Z crítico  $\pm$  2,02; P= 0,05

de 13, 9 e 7 anos de idade, não apresentam aberrações cromossômicas estruturais nas 20 metáfases analisadas e a diferença de frequência de aberrações destes irmãos e seus controles são não-significantes.

O irmão 4 (5 anos) dos paciente de Progéria (1 e 2) não apresenta aberrações cromossômicas estruturais nas 20 metáfases analisadas, porém seu controle de mesmo sexo e idade apresenta aberrações. A frequência de aberrações cromossômicas estruturais no controle está significamente diferente ( $Z=2,50$  para um  $Z$  crítico de  $\pm 2,02$ ).

Na Tabela 19, Os "gaps", estão excluídos da análise. Observa-se que o pai dos pacientes (63 anos) apresenta aberrações cromossômicas estruturais, enquanto seu controle do mesmo sexo e idade, não apresenta aberrações nas 20 metáfases analisadas. Ainda assim a diferença na frequência de aberrações cromossômicas do pai, não é significativa ( $Z=1,79$  para um  $Z$  crítico de  $\pm 2,02$ ).

A mãe (46 anos) apresenta um ligeiro aumento de aberrações em relação, ao seu controle, embora a diferença seja não significativa ( $Z=0,89$  para um  $Z$  crítico de  $\pm 2,02$ ).

Os indivíduos controles da irmã (24 anos) e do irmão (13 anos) não apresentam aberrações cromossômicas, em suas 20 metáfases analisadas. As frequências de aberrações na irmã e no irmão 1, apresentam diferença não significativa ( $Z=1,50$  e  $Z=0,71$  respectivamente, para um  $Z$  crítico de  $\pm 2,02$ ).

O irmão 2 (9 anos) e 3 (7 anos) bem como seus controles do mesmo sexo e idade não apresentam aberrações cromossômicas estruturais, nas 20 metáfases analisadas.

O irmão 4 (5 anos) não apresenta aberrações cromossômicas nas suas 20 metáfases analisadas, entretanto, seu controle apresenta, e a diferença de aberrações cromossômicas estruturais do controle não é significativa com  $Z=2,00$  para

um Z crítico de  $\pm 2,02$  com 5% de nível de significância.

#### CULTURAS DE 72 HORAS

Na Tabela 20, os "gaps" estão incluídos. Observa-se que o pai não apresenta diferença em relação ao seu controle. A mãe apresenta um ligeiro aumento com diferença não-significante da freqüência de aberrações em relação ao seu controle ( $Z=0,00$  para um Z crítico de  $\pm 2,02$ ).

Os indivíduos controles do mesmo sexo e idade da irmã (24 anos) e do irmão-1 (13 anos) não apresentam aberrações cromossômicas estruturais nas 20 metáfases analisadas. A freqüência de aberrações cromossômicas da irmã é significativamente diferente à do seu controle (para  $Z=3,18$  com um Z crítico de  $\pm 2,02$ ). No irmão 1, esta diferença é não-significante, ( $Z=1,50$  para um Z crítico de  $\pm 2,02$ ).

Os irmão 2 e 3 (9 e 7 anos de idade respectivamente) apresentam um ligeiro aumento de aberrações cromossômicas, com diferença não-significante em relação aos seus controles ( $Z=0,75$  e  $Z=0,05$ ).

O irmão 4 (5 anos) apresenta menor freqüência de aberrações cromossômicas estruturais, com diferença não-significante em relação ao seu controle ( $Z=1,15$  para um Z crítico de  $\pm 2,02$ ).

Na Tabela 21, os "gaps" estão excluídos. Observa-se que o controle do pai (63 anos) não apresenta aberrações cromossômicas estruturais nas 20 metáfases analisadas. A diferença na freqüência de aberrações cromossômicas do pai é não-significante em relação ao seu controle ( $Z=0,00$  para um Z crítico de  $\pm 2,02$ ).

A mãe (46 anos) e o irmão (7 anos) apresentam um ligeiro aumento com diferença de aberrações cromossômi-

cas não-significante em relação ao seu controle ( $Z=0,00$  para um  $Z$  crítico de  $\pm 2,02$ ).

Os indivíduos controles do mesmo sexo e idade da irmã (24 anos) e do irmão 1 (13 anos) não apresentam aberrações cromossômicas estruturais nas 20 metáfases analisadas. A frequência de aberrações da irmã foi ligeiramente elevada com diferença significativa em relação ao seu controle ( $Z=2,04$  para um  $Z$  crítico de  $\pm 2,02$ ).

O irmão 2 (9 anos) não apresenta diferença na frequência de aberrações em relação ao seu controle do mesmo sexo e idade.

O irmão 4 (5 anos) e seu controle não apresentam aberrações cromossômicas estruturais nas 20 metáfases analisadas, em culturas de 72 horas.

TABELA 20 - FREQUÊNCIAS DE ABERRAÇÕES CROMOSSÔMICAS ESTRUTURAIS, INCLUINDO "GAPS", DOS PAIS E DA IRMANDADE DE DOIS PACIENTES DE PROGÉRIA (1 e 2), EM CULTURA DE 72 HORAS.

INDIVÍDUO	IDADE (ANOS)	SEXO	Nº DE METÁFASES ANALISADAS	Nº DE ABERRAÇÕES OBSERVADAS	Z CALCULADO
Pai	63	M	20	1	
Controle	63	M	20	1	0,71
Mãe	46	F	20	3	
Controle	46	F	20	2	0,00
Irmã	24	F	20	12	
Controle	24	F	20	0	3,18*
Irmão 1	13	M	20	4	
Controle	13	M	20	0	1,50
Irmão 2	9	M	20	5	
Controle	9	M	20	2	0,75
Irmão 3	7	M	20	7	
Controle	7	M	20	3	0,05
Irmão 4	5	M	20	1	
Controle	5	M	20	2	1,15

M=masculino; F=feminino; z crítico ± 2,02; P= 0,05

TABELA 21 - FREQUÊNCIAS DE ABERRAÇÕES CROMOSSÔMICAS ESTRUTURAIS, EXCLUINDO "GAPS", DOS PAIS E DA IRMANDADE DE DOIS PACIENTES DE PROGÉRIA (1 e 2), EM CULTURA DÊ 72 HORAS.

INDIVÍDUO	IDADE (ANOS)	SEXO	Nº DE METÁFASES ANALISADAS	Nº DE ABERRAÇÕES OBSERVADAS	Z CALCULADO
Pai	63	M	20	1	
Controle	63	M	20	0	0,00
Mãe	46	F	20	2	
Controle	46	F	20	1	0,00
Irmã	24	F	20	6	
Controle	24	F	20	0	2,04*
Irmão 1	13	M	20	1	
Controle	13	M	20	0	0,00
Irmão 2	9	M	20	1	
Controle	9	M	20	1	0,71
Irmão 3	7	M	20	2	
Controle	7	M	20	1	0,00
Irmão 4	5	M	20	0	
Controle	5	M	20	0	-

M=masculino; F=feminino; Z crítico  $\pm$  2,02; P= 0,05



## V. DISCUSSÃO

A instabilidade cromossômica, seja ela representada por um aumento de quebras e/ou de trocas entre cromátides irmãs (TCI), é um sinal presente em algumas doenças genéticas e entre elas estariam as síndromes de envelhecimento precoce (GERMAIN e BERNHEIN, 1983). O seu estudo poderia contribuir para um melhor conhecimento do significado das anormalidades que ocorrem a nível de DNA no material cromossômico e o que representariam na evolução de determinadas patologias.

O fato de que as trocas entre cromátides irmãs têm sido amplamente usadas na investigação de uma série de processos biológicos como a proliferação celular, estrutura cromossômica, replicação, nas neoplasias e no envelhecimento (COHEN et alii, 1982) e que estes processos estão comprometidos na Síndrome de Werner e algumas na Progéria, sugere que futuras pesquisas dirigidas a estas doenças poderiam fornecer a base biológica das trocas entre cromátides irmãs que permanecem até agora desconhecidas.

No presente trabalho as frequências de trocas entre cromátides irmãs basais em linfócitos periféricos de duas pacientes com Síndrome de Werner (L.J.M. 25a e D.T.T. 45a) foram observadas como normais (Tabela 4). Estes resultados foram consistentes com os estudos prévios realizados por BARTRAM et alii, (1976); SALK et alii, (1981b); DARLINGTON et alii, (1981) SCHONBERG et alii, (1981 e 1984), nos quais as trocas entre cromátides irmãs são relatadas como normais em fibroblastos, linfócitos periféricos e linfoblastos de pacientes com

Síndrome de Werner. Entretanto um relato contraditório foi feito por ELLI et alii, (1983) que referem estarem as trocas entre cromátides irmãs aumentadas em linfócitos periféricos de um paciente com Síndrome de Werner por eles estudados.

O conhecimento de que os mecanismos de replicação estão relacionados de alguma maneira com as aberrações cromossômicas tipo troca e que existe na Síndrome de Werner uma anormalidade de replicação do DNA relatada por FUJIWARA et alii, (1977), esta anormalidade parece não estar refletida nas trocas entre cromátides irmãs das duas pacientes com Síndrome de Werner, por nós estudadas. Ao contrário do que ocorre na Síndrome de Bloom que apresenta também atraso na replicação de DNA (HAND e GERMAN, 1975) e cujas frequências de TCI basais estão elevadas (CHAGANTI et alii, 1974; GERMAN et alii, 1977 e SHIRAIISHI et alii, 1982 e 1983) nos dois pacientes de Síndrome de Werner, isto não ocorreu.

A distribuição das trocas entre cromátides irmãs nos cromossomos das duas pacientes com Síndrome de Werner desmostrou que os cromossomos 2 tiveram mais TCI que o esperado (Tabela 5), enquanto que os cromossomos do grupo E apresentaram menor número de TCI que o esperado. Nos onze indivíduos controles normais do presente trabalho, foi observado que os cromossomos 2 e os do grupo B apresentaram maior número de trocas entre cromátides irmãs que o esperado e os cromossomos dos grupos E e G apresentaram menos trocas entre cromátides irmãs que o esperado (Tabelas 2 e 3). Se a trocas entre cromátides irmãs ocorressem ao acaso, deveriam estar aumentadas de acordo com o tamanho dos braços dos cromossomos, porém já tem sido observado que existem alguns cromossomos que apresentam excesso de trocas entre cromátides irmãs, que são os cromossomos 1, 2 e do grupo B, enquanto que outros apresentam poucas trocas entre trocas de cromátides irmãs, que são os pequenos cromossomos do grupo E, F e G. O excesso de trocas entre cromá

tides irmãs nos cromossomos 1, 2 e do grupo B pode refletir diferenças na composição das bases ao longo desses cromossomos (CROSSEN et alii, 1977) enquanto que a menor frequência de trocas entre cromátides irmãs nos pequenos cromossomos seria devido a que neles os centrômeros representam a maior parte do seu tamanho. As regiões centroméricas são reconhecidas como de incidência baixa de trocas entre cromátides irmãs (CHAGANTI et alii, 1974; LATT, 1974; GALLOWAY e EVANS, 1975 e MORGAN e CROSSEN, 1977).

As frequências de aberrações cromossômicas, tipo quebra e "gaps" estão aumentadas nas duas pacientes com Síndrome de Werner, como podem ser observadas na Tabelas 6, 7, 8 e 9, e são consistentes com os relatos de outros autores (NODERSON, 1977; SALK et alii, 1981b e c; SCAPPATICCI et alii, 1982 e ELII et alii, 1983). Diferem porém dos achados de NORWOOD et alii, (1979) que não observaram diferenças nas frequências de aberrações cromossômicas de dois pacientes com Síndrome de Werner em relação às de trinta e cinco controles que se encontravam em análise citogenética de rotina. Maior frequência de aberrações cromossômicas foi observada na paciente com maior idade cronológica (D.T.T., 45 anos) única com diferença significativa em relação ao seu controle. Este fato de aumento de frequência de aberrações com o aumento da idade em pacientes com Síndrome de Werner foi também observado por SCAPPATICCI et alii, (1982) o que eles definiram como sendo um dos sinais de "envelhecimento" a nível cromossômico na Síndrome de Werner. NODERSON (1977) observou menor frequência no paciente com Síndrome de Werner de menor idade cronológica em quatro pacientes por ele estudados, embora as aberrações estivessem também aumentadas em relação aos controles.

O fato de que nas culturas de 48 horas, da segunda paciente (D.T.T., 45 anos) e seu controle, as frequências de aberrações cromossômicas, quebras e "gaps", (Tabelas 6

e 7), s $\tilde{o}$  terem apresentado diferen $\tilde{c}$ a significativa quando os "gaps" foram exclu $\tilde{i}$ dos da an $\tilde{a}$ lise e que na cultura de 72 horas (Tabelas 8 e 9), o controle n $\tilde{a}$ o tenha apresentado aberra $\tilde{c}$ oes cromoss $\tilde{o}$ micas, sugere que os "gaps" encontrados no paciente e no controle poderiam representar apenas uma desespiraliza $\tilde{c}$ ao da cromatina, provavelmente sem dano no DNA.

Os resultados obtidos das trocas entre crom $\tilde{a}$ tides irm $\tilde{a}$ s nos dois pacientes de Prog $\tilde{e}$ ria autoss $\tilde{o}$ mica recessiva, (paciente Prog $\tilde{e}$ ria 1 - J.L.F., 14 anos e paciente Prog $\tilde{e}$ ria 2 - E.G.P., 9 meses) em que o paciente Prog $\tilde{e}$ ria 1, apresentou frequ $\tilde{e}$ ncia de trocas entre crom $\tilde{a}$ tides irm $\tilde{a}$ s bem mais elevada que sua irm $\tilde{a}$  de menor idade cronol $\tilde{o}$ gica, paciente de Prog $\tilde{e}$ ria 2, poderia representar tamb $\tilde{e}$ m um dos sinais de "envelhecimento" na Prog $\tilde{e}$ ria.

Resultados contradit $\tilde{o}$ rios foram observados nas c $\tilde{e}$ lulas dos pacientes Prog $\tilde{e}$ ria (1 e 2) (J.L.F. e E.G.P.) em rela $\tilde{c}$ ao ao paciente Prog $\tilde{e}$ ria 3 (L.A.S.). Os pacientes Prog $\tilde{e}$ ria (1 e 2) apresentaram aumento na frequ $\tilde{e}$ ncia de trocas entre crom $\tilde{a}$ tides irm $\tilde{a}$ s, com diferen $\tilde{c}$ a significativa em rela $\tilde{c}$ ao ao seu controle normal no paciente Prog $\tilde{e}$ ria 1, enquanto que o paciente Prog $\tilde{e}$ ria 3 apresentou uma baixa frequ $\tilde{e}$ ncia de trocas entre crom $\tilde{a}$ tides irm $\tilde{a}$ s com diferen $\tilde{c}$ a significativa em rela $\tilde{c}$ ao ao seu controle. Essas diferen $\tilde{c}$ as poderiam representar manifesta $\tilde{c}$ oes citol $\tilde{o}$ gicas das trocas entre crom $\tilde{a}$ tides irm $\tilde{a}$ s serem atribuidas  $\tilde{a}$  heterogeneidade gen $\tilde{e}$ tica desta patologia, j $\tilde{a}$  que os pacientes apresentam padr $\tilde{o}$ es de heran $\tilde{c}$ a diferentes: os pacientes Prog $\tilde{e}$ ria (1 e 2) tem comprovada heran $\tilde{c}$ a autoss $\tilde{o}$ mica recessiva, com pais consangu $\tilde{i}$ neos, casos semelhantes na irmandade e ocorr $\tilde{e}$ ncia da patologia nos afetados sem prefer $\tilde{e}$ ncia de sexo, e o paciente Prog $\tilde{e}$ ria 3 tem prov $\tilde{a}$ vel heran $\tilde{c}$ a dominante por muta $\tilde{c}$ ao nova, sendo um caso espor $\tilde{a}$ dico na fam $\tilde{i}$ lia. N $\tilde{a}$ o se pode descartar, entretanto, a possibilidade da ocorr $\tilde{e}$ ncia de sele $\tilde{c}$ ao celular neste paciente Prog $\tilde{e}$ ria 3 no qual s $\tilde{o}$ mente as c $\tilde{e}$ lulas com menor ta-

ta de trocas entre cromátides irmãs teriam condições de multiplicação "in vitro".

Quanto à distribuição preferencial de trocas entre cromátides irmãs nos três pacientes de Progéria (Tabela 11 e 12) tanto a autossômica recessiva como a esporádica, apresentaram um excesso de trocas entre cromátides irmãs nos cromossomos dos grupos B e D e menor frequência no Grupo-E. Uma distribuição preferencial das trocas entre cromátides irmãs no cromossomos de indivíduos normais, tem sido observado por diferentes pesquisadores no Laboratório de Citogenética da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo. FORTES (1979) relata um excesso de trocas entre cromátides irmãs nos cromossomos de grupo B e uma deficiência de trocas entre cromátides irmãs nos cromossomos dos grupos E, F e G. PINA NETO e FERRARI (1981) referem um excesso de trocas entre cromátides irmãs nos cromossomos do grupo B, C+X e D, com deficiência de trocas entre cromátides irmãs nos cromossomos dos grupos E, F e G+Y. DELLA ROSA (1984) refere um aumento significante de trocas entre cromátides irmãs nos cromossomos 1, 2 e do grupo B e menor frequência nos cromossomos dos grupos E, F e G+Y nos indivíduos do sexo masculino, sendo referido um excesso de trocas entre cromátides irmãs nos cromossomos 1, 2, 3 e dos grupos B e C+XX e menor frequência nos cromossomos dos grupos E, F e G, nos indivíduos do sexo feminino.

Nos indivíduos controles normais estudados no presente trabalho a distribuição preferencial de TCI ocorreu com frequência aumentada nos cromossomos 2 e do grupo B, tendo menor frequência nos cromossomos dos grupos E, F e G. Nos pacientes com Síndrome de Werner esta distribuição preferencial de TCI ocorreu com excesso nos cromossomos 2 e frequência diminuída nos cromossomos do grupo F.

Nos pacientes de Progéria a frequência de TCI estava aumentada nos cromossomos do grupo B e D, tendo a

frequência de TCI diminuída nos cromossomos do grupo E.

Estes resultados acrescido das observações dos autores referidos anteriormente, sugerem que a distribuição preferencial de TCI nos cromossomos não é um achado específico nas patologias estudadas.

As aberrações cromossômicas estruturais tipo quebras e "gaps" nos três pacientes de Progéria estão aumentadas em culturas de 48 horas porém não diferiram significativamente das dos seus controles. Nas culturas de 72 horas as aberrações cromossômicas estruturais estavam aumentadas nos três pacientes de Progéria, porém apenas significativamente nos pacientes de faixa etária maior (9 e 14 anos) quando incluído os "gaps".

Tanto nas culturas de 48 horas como nas culturas de 72 horas quando se excluem os "gaps" as aberrações cromossômicas estruturais estão presentes e aumentadas nos três pacientes, mas significativamente diferente das do controle somente no paciente Progéria 1. Se se considerar que os "gaps" representariam apenas desespiralização e não dano no DNA, o paciente Progéria 3 não apresentaria instabilidade cromossômica. No entanto o "gap" pode representar quebra em uma fita do DNA e se exteriorizar como quebra, se não for reparada, no ciclo celular seguinte. Não se pode mais uma vez excluir a hipótese de seleção celular que ficaria bastante comprometida quando se considera o quadro clínico de Progéria autossômica recessiva com a herança autossômica dominante no presente estudo. Refletindo o achado clínico, o estudo "in vitro" revela aberrações cromossômicas mais frequentes na Progéria de herança autossômica recessiva encontrada no paciente de maior idade. Talvez este encontro associado a outros desconhecidos representem sinal de envelhecimento. No paciente Progéria 2, de idade menor, ainda não estariam manifestados estes sinais em sua totalidade.

Estudos em culturas de fibroblastos nos pacientes de Progéria autossômica recessiva como no de autossômica dominante seriam necessários para informações mais conclusivas a este respeito.

Nossos resultados mostram que as frequências de trocas entre cromátides irmãs basais nos pais dos pacientes de Progéria de etiologia autossômica recessiva, (indivíduos heterozigotos) embora ligeiramente elevadas não apresentaram diferenças significantes em relação aos seus controles normais, enquanto que vários irmãos dos mesmos pacientes (prováveis heterozigotos) apresentaram aumento significativo de TCI. Estas observações podem refletir um dos seguintes fatores:

- 1) Na manifestação citológica das TCI existe um mecanismo de interação gênica que justificaria a variabilidade de frequência de TCI nos indivíduos heterozigotos de Progéria autossômica recessiva; 2) A frequência de trocas entre cromátides irmãs nos pais estariam somente ligeiramente aumentadas em relação aos seus controles, devido ao decréscimo de reparo observado no envelhecimento "in vivo" (GENSLER e BERNSTEIN, 1981) que levaria à menor formação de trocas entre cromátides irmãs em favor do surgimento de quebras. Tal fato parece ter ocorrido já que se pode observar um aumento de aberrações cromossômicas estruturais nos pais nas culturas de 48 horas; 3) Ocorreu nos pais uma seleção de células com TCI (processo seletivo da replicação) a favor das células com poucas TCI; 4) Embora as frequências de TCI nos irmãos dos pacientes de Progéria autossômica recessiva estejam aumentadas em relação aos seus controles, elas estariam ainda incluídas numa faixa de normalidade, já que existe ampla variação da frequência de TCI mesmo em indivíduos normais, e que foram encontradas por LEZANA et alii, (1977) frequência média de TCI variando de 9,40 - 17,70 nos indivíduos estudados. Estes autores também encontraram diferenças significantes nas frequências de um mesmo indi-

víduo em diferentes culturas, embora a característica de ter alta ou baixa freqüência de TCI tenha se mostrado constante.

Na análise de relatos da literatura observa-se que para uma mesma concentração de BrdU (10  $\mu\text{g/ml}$ ) as freqüências médias de TCI variam amplamente de 6,87 - 15,81 TCI/célula, em indivíduos normais, e mesmo dentro de um mesmo laboratório, com o emprego de uma técnica similar e da mesma concentração de BrdU, observou-se existir nos indivíduos normais uma faixa de variação de 7,64 - 13,21 TCI/célula, conforme (Tabela 22).

Entretanto, para se afirmar que estes irmãos que apresentaram taxas de TCI significativamente elevadas em relação aos seus controles estejam dentro da faixa de normalidade, seria necessário o estabelecimento de uma curva padrão de freqüência de TCI, nas idades e sexos correspondentes deste indivíduos. Tal curva padrão, de TCI, não foi ainda estabelecida no nosso laboratório e nos diversos trabalhos da literatura.

Nossas observações de que as freqüências de aberrações cromossômicas nos pais (heterozigotos) e em um dos controles estejam aumentadas significativamente somente nas culturas de 48 horas e somente quando os "gaps" foram computados na análise e que nas culturas de 72 horas estas freqüências estavam normais, sugerem serem estes "gaps" desespiralização na cromátide. Provavelmente não serão repassados durante o processo de replicação. Outra hipótese é de que tenha ocorrido um processo de seleção de células que apresentavam lesão cromossômica de tal natureza que não teriam condições de se multiplicar "in vitro".

Nas doenças que apresentam heterogeneidade genética, como a Progéria, o estudo dos indivíduos (pais e irmandade) naqueles casos de herança autossômica recessiva, para se encontrar um método ideal de detecção de heterozigoto



tem relevância no aconselhamento genético, uma vez que o risco para a futura progênie de ser afetado seria 1:4. Ao contrário, baseado na etiologia de mutação nova dominante poderia ser extremamente baixo no portador como  $10^{-6}$  (JONES et alii, 1975; GOLDSTEIN e MOERMAN, 1978). No presente trabalho os métodos de observação das freqüências de trocas entre cromátides irmãs e de aberrações cromossômicas estruturais, tipo quebras e "gaps" não foram sensíveis na detecção dos heterozigotos, necessitando-se de futuras investigações talvez com técnicas mais aprimoradas, como com o uso de um agente como a Bleomicina que mostre a maior sensibilidade cromossômica desses indivíduos através do aumento de aberrações estruturais (NATARAJAN e OBE, 1982). A observação de sensibilidade de agentes indutores de aberrações cromossômicas para a detecção de heterozigotos nas síndromes com instabilidade cromossômica foi realizada no estudo de fibroblastos de heterozigotos de Anemia de Fanconi expostas ao agente alquilante bifuncional, Diepoxibutano, um ativo mutagênico e carcinogênico que permite a distinção com células de indivíduos normais, havendo um aumento significativo de quebras nos heterozigotos e este método foi estabelecido como útil para a detecção de portadores (SHROEDER, 1982).

TABELA 22 - FREQUÊNCIA DE TROCAS ENTRE CROMÁTIDES IRMÃS NAS CULTURAS TEMPORÁRIAS DE LINFÓCITOS HUMANOS, EM INDIVÍDUOS, COM UMA CONCENTRAÇÃO DE BRDU DE 10 µg/ml DE MEIO DE CULTURA.

		NÚMERO DE CÉLULAS ANALISADAS	FREQUÊNCIA DE TCI/CÉLULA
CROSSEN et al	(1977)	400	6,37
MORGAN e CROSSEN	(1977 a)	1000	7,90
MORGAN e CROSSEN	(1976 b)	500	9,84
CROSSEN	(1979)	560	9,96
ME DONALD e FITSGERALD	(1979)	200	10,03
*FORTES	(1979)	220	15,81
MORGAN e CROSSEN	(1981)	2000	10,98
*PINA NETO e FERRARI	(1981)	196	12,44
*DELLA ROSA	(1984)	600	13,21
*JORGE	(1984)	200	10,76
*ESTE ESTUDO	(1985)	220	7,64

\* Estudos realizados no Laboratório de Citogenética da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo.

## VI. CONCLUSÕES

A instabilidade cromossômica nas duas pacientes com Síndrome de Werner estaria representada por um aumento das aberrações cromossômicas, tipo quebra e "gaps", que no entanto sô foi significativamente diferente do controle na paciente de maior idade cronológica (45 anos), talvez pelo fato de ser este o sinal de "envelhecimento" desta síndrome. As trocas entre cromátides irmãs não diferiram significativamente dos controles normais.

A instabilidade cromossômica nos dois pacientes de Progéria de etiologia autossômica recessiva, se manifestou com aumento de quebras cromossômicas e de trocas entre cromátides irmãs. Entretanto, somente no paciente de idade cronológica maior (14 anos) teve diferença significativa em relação ao seu controle. Talvez isso tenha sido observado porque a instabilidade cromossômica na Progéria autossômica recessiva só se manifestaria numa idade mais avançada que a apresentada pela segunda paciente (9 meses).

A instabilidade cromossômica no paciente de Progéria caso esporádico se manifestou com aumento de "gaps" cromossômicos em relação ao seu controle normal. A frequência de quebras foi normal não deferindo da do controle. Ainda as trocas entre cromátides irmãs se apresentaram em frequência diminuída quando comparado com o controle normal, sugestiva de heterogeneidade genética ou seleção "in vitro" de células com grande número de trocas entre cromátides irmãs.

Os métodos de análise das frequências de a

berrações cromossômicas, tipo quebras e "gaps" e de trocas entre cromátides irmãs espontâneas não são sensíveis para permitir a detecção de heterozigotos de Progéria, de etiologia autossômica recessiva.

## VII. SUMÁRIO

A análise de instabilidade cromossômica nas doenças de envelhecimento precoce foi realizada pelas observações das frequências de trocas entre cromátides irmãs e aberrações cromossômicas estruturais tipo quebras e "gaps" em cultura de linfócitos periféricos de duas pacientes com Síndrome de Werner, dois pacientes de Progéria de etiologia autossômica recessiva, de um paciente de Progéria, caso esporádico e dos pais e irmandade dos dois pacientes de Progéria autossômica recessiva.

Esta análise demonstrou que: 1) Na Síndrome de Werner a instabilidade cromossômica foi manifestada pelo aumento de aberrações cromossômicas estruturais observado nas duas pacientes, sendo significativa na paciente de maior idade cronológica. As trocas entre cromátides irmãs (TCI) não tiveram diferença significativa entre as duas pacientes e seus controles; 2) Na Progéria, a instabilidade cromossômica se manifestou diferentemente nas duas formas da doença, sendo que na de etiologia autossômica recessiva ela foi representada pelo aumento de trocas entre cromátides irmãs (TCI) e aumento de quebras cromossômicas, enquanto que na forma de Progéria caso esporádico, ela se manifestou com um aumento de "gaps" cromossômicos somente ; 3) As técnicas utilizadas não se mostram suficientemente sensíveis para serem usadas como diagnóstico de heterozigose na Progéria autossômica recessiva.

## VIII. SUMMARY

Chromosomal instability in diseases involving premature aging was analyzed by determining the frequency of sister chromatid exchanges and structural chromosomal aberrations such as gaps and breaks in cultures of peripheral lymphocytes from two patients with Werner Syndrome, two patients with Progeria of recessive autosomal etiology, one patient with Progeria (a sporadic case), and from the parents and sibship of the patients with recessive autosomal Progeria.

The analysis demonstrated that: 1- in Werner Syndrome, chromosomal instability manifested itself as an increase in structural chromosomal aberrations observed in both patients, with significance for the patients of older chronological age. No significant difference in sister chromatid exchange (SCE)

frequency was observed between the two patients and the control. 2- in Progeria, chromosome instability manifested itself differently in the two forms of the disease, i.e. as an increase in SCE and an increase in chromosome breaks in the cases of recessive autosomal etiology, and only as an increase in chromosome gaps in the sporadic case; 3- the techniques used did not prove to be sufficiently sensitive for use in the diagnosis of heterozygosity in recessive autosomal Progeria.

## IX. BIBLIOGRAFIA

- ASO, K.; KONDO, S.; AMANO, M. (1980). A case of Werner's Syndrome in which lowered activity of a platelet - dependent serum factor for cell growth and reduced growth potential of fibroblasts and epidermal cells were demonstrated. Nippon Hifuka Gakkai Zasshi; 90:929-934.
- ATKIN, N.B. & BAKER, M.C. (1978). Abnormal chromosomes and number 1 heterochromatin variants revealed in C-banded preparations from 13 bladder carcinomas. Cytobios, 18:101-109.
- AYRES, S. & MIHAN, R. (1974). Progeria: A possible therapeutic approach. JAMA; 227(12):1381-1382.
- BARTRAM, C.R.; KOSKE-WESTPHAL, T.; PASSARGE, E. (1976) Chromatid exchanges in ataxia telangiectasia, Bloom Syndrome, Werner Syndrome, and Xeroderma Pigmentosum. Ann. Hum. Genet. 40:79-86.
- BJÖRNBERG, A. (1976). Werner's Syndrome and malignancy. Acta Derm. Venereol., 56:149-150.
- BROGGER, A. (1971). Apparently spontaneous chromosome damage in human leucocytes and the nature chromatid gaps. HUmangenetik, 13:1-14.

- BROGGER, A. (1975). Is the chromatid gap a folding defect due to protein change? Evidence from mercaptoethanol treatment of human lymphocyte chromosomes. Hereditas, 80:131-136.
- BROGGER, A. (1982). The chromatid gap-a useful parameter in genotoxicology? Cytogenet. Cell Genet., 33:14-19.
- BROWN, W.T. ; EPSTEIN, J. LITTLE, J.B. (1976). Progeria cells are stimulated to repair DNA by co-cultivation with normal cells. Exp. Cell. Res., 97:291-296.
- CHAGANTI, R.S.K.; SCHONBERG, S.; GERMAN, J. (1974). A manyfold increase in sister chromatid exchanges in Bloom's Syndrome lymphocytes. Proc. Natl. Acad., Sci. Usa, 71:4508-4512.
- CLEAVER, J.E. (1968). Defective repair replication of DNA in Xeroderma Pigmentosum. Nature, 218:652-656.
- COHEN, M.M.; MARTIN, A.O.; OBER, C. e SIMPSON, S.J. (1982). A family study of spontaneous sister chromatid exchange frequency. Am. J. Hum. Genet., 34:294-306.
- CROSSEN, P.E. (1979). The effect of acridine compounds on sister chromatid exchange formation in cultured human lymphocytes. Mutat. Res., 68:295.
- CROSSEN, P.E.; DRETS, M.E.; ARRIGHI, F.E.; JOHNSTON, D.A. (1977). Analysis of the frequency and distribution of sister chromatid exchanges in cultured human lymphocytes. Hum. Genet., 35: 345-352.
- DANES, B.S. (1971). Progeria: a cell culture study on aging. J. Clin. Inv., 50:2000-2003.



- DARLINGTON, G.J.; DUTKOWSKI, R.; BROWN, W.T. (1981). Sister chromatid exchange frequencies in Progeria and Werner syndrome, patients. Am. J. Hum. Genet., 33:762-766.
- DELLA ROSA, V.A. (1984). Frequências de trocas entre cromátides irmãs (TCIs), na Síndrome de Down, em comparação com normais do mesmo grupo etário. Dissertação de Mestrado apresentada à Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto - USP.
- De BUSK, F. (1972). The Hutchinson - Gilford Progeria syndromes. J. Pediatr., 80(4):697-724.
- DIMITROV, B. (1981). Nature of chromosome gaps induced by alkylating agents and Y-rays as revealed by caffeine treatment. Mutat. Res., 80:289-295.
- ELLI, R.; PETRINELLI, P.; CAPOROSI, D.; NICOLETTI, B.; ANTONELLI, A. (1983). Cytogenetic investigations in Werner's syndrome Acrogeria and Keratosis palmo-plantaris. J. Genet. Hum., 31(3):211-221.
- EPSTEIN, J.; WILIAMS, J.R. ; LITTLE, J.B. (1974). Rate of DNA repair in progeric and normal human fibroblasts. Biochem. Biophys. Res. Commun., 59:850-857.
- EPSTEIN, C.J.; MARTIN, G.M.; SCHULTZ, A.L.; MOTULKY, A.G. (1966). Werner's syndrome: a review of its symptomatology, natural history, pathologic features, genetics and relationship to the natural aging process. Medicine (Baltimore) 45:177-221.
- EVANS, H.J. (1974). Effects of ionizing radiations on mamalian chromosomes and cancer. (GERMAN, J., ed.) JOHN WILEY & SONS, Chichester:191-237.

- EVANS, H.J. (1977). Molecular mechanisms in induction of chromosomes aberrations. In: SCOTT, D.; BRIDGES, B.A.; SOBELS, F.H. (eds). Progress in Genetic Toxicology. Elsevier /North Holland, Amsterdam, pp 57-74.
- FERRARI, I. (1968). Estudo de alterações cromossômicas em pacientes portadores de anomalias físicas múltiplas e retardo mental. Tese de Doutorado apresentada à Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto - USP.
- FITZGERALD, P.H. (1975). A mechanism of X chromosome aneuploidy in lymphocytes of aging women. Hum. Genet., 28:153-158.
- FORTES, T.G.O. (1979). Estudo de trocas entre cromátides irmãs (TCI) em recém-nascidos normais. Dissertação de Mestrado apresentada à Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto - USP.
- FUJIWARA, Y.; HIGASHIKAWA, T.; TATSUMI, M. (1971). A retarded rate of DNA replication and normal level of DNA repair in Werner's syndrome fibroblasts in culture. J. Cell. Physiol., 92:365-374.
- GALLOWAY, S.M. & EVANS, H.J. (1975). Sister chromatid exchange in human chromosome from normal individuals and patients with ataxia telangiectasia. Cytogenet. Cell. Genet., 15:17-29.
- GENSLER, H.L. & BERNSTEIN, H. (1981). DNA damage as the primary cause of aging. Quart. Rev. Bio., 5:279-303.
- GERMAIN, D. & BERHEIN, A. (1983). Les syndromes d'instabilité chromosomique. Sem. Hôp. (Paris) 59:3065-3079.
- GERMAN, J. (1964). Cytological evidence for crossing-over in vitro in human lymphoid cells. Science, 144:298-301.

- GERMAN, J.; SCHOMBERG, S.; LOUIE, L.; CHAGANTI, R.S.K. (1977).  
Bloom's syndrome. IV. sister chromatid exchanges in lymphocytes  
Am. J. Hum. Genet., 29:248-255.
- GILFORD, H. (1904). Progeria: A form of semilism. Practitioner,  
73:188.
- GOLDSTEIN, S. (1969). Lifespan of cultured cells in progeria.  
Lancet., 1:424.
- GOLDSTEIN, S. (1979). Studies on age-related diseases in cultured  
skin fibroblasts. J. Invest. Dermatol., 73:19-23.
- GOLDSTEIN, S. & MOERMAN, E.J. (1975). Heat-labile enzymes in  
Werner's syndrome fibroblasts. Nature, 255:159.
- GOTO, M.; TAMIMOTO, K.; HORIUCHI, V.; SASAZUJI, T. (1981). Family  
analysis of Werner's syndrome. A survey of 42 Japanese families  
with a review of the literature. Clin. Genet., 19:8-15.
- HAND, R. & GERMAN, J. (1975). A retarded rate of DNA chain  
growth in Bloom's syndrome. Proc. Natl. Acad. Sci., USA, 72:  
758-762.
- HARMAN, D. (1956). Aging: a theory based on free radical and  
radiation chemistry. J. Gerontol., 11:298-299.
- HARDEN, D.G.; BENN, P.A.; OXFORD, J.M.; TAYLOR, A.M.R.; WEBB, T.P.  
(1976). Cytogenetically marked clones in human fibroblasts  
cultured from normal subjects. Somatic Cell Genet., 2:55-62.
- HAYASHI, K. & SCHMID, W. (1975). The rate of sister chromatid  
exchanges parallel to spontaneous chromosome breakage in  
Fanconi's Anemia and to Treminon-induced aberrations in human  
lymphocytes and fibroblasts. Humangenetik, 29:201.

- HECHT, F.; KOLER, R.D.; RIGAS, D.A.; DAHNKE, G.S.; CASE, M.P.; TISDALE, V.; MILLER, R.W. (1966). Leukaemia and lymphocytes in Ataxia Telangiectasia. Lancet, (2):1193.
- HECHT, F. & McCAW, B.K. (1977). Chromosomes instability syndromes. In: Genetics of human cancer, ed. J.J. MULVIHILL, R.W.; MILLER and J.F. FRAUMENI, JR. Raven Press, New York, 105-123.
- HOEHN, H.; BRYANT, E.M.; AU, K.; NORWOOD, T.H.; BOMAN, H.; MARTIN, G.M. (1975). Variegated translocation mosaicism in human skin fibroblast cultures. Cytogenet. Cell. Genet., 15: 282-298.
- HUTCHINSON, J. (1886). Congenital absence of hair and mammary glands with atrophic condition of the skin and its appendages in a boy whose mother had been almost totally bald from alopecia areata from the age of six. Med. Chirurg. Trans., 69:36.
- JONES, K.L.; SMITH, D.W.; HARLEY, M.A.; HALL, B.D.; QUAN, L. (1975). Older paternal age and fresh gene mutation: data on additional disorders. J. Pediatr., 86:84-88.
- JORGE, S.M. (1984). Trocas entre cromátides irmãs (TCI), quebras e "gaps" cromatídicos e cromossômicos em linfócitos de recém-nascidos antes e após fototerapia intermitente com luz fluorescente azul. Tese para Concurso de Livre-Docência apresentada à Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto - USP.
- KATO, H. & STICH, H.F. (1976). Sister chromatid exchange in ageing and repair-deficient human fibroblasts. Nature, 260: 447-448.

- KNUDSON, A.A.Jr. (1981). Human cancer genes. In: Genes chromosomes and neoplasia (ARRIGHI, F.E.; RAO, P.N.; STUBBLEFIELD, E. ed.). Raven Press, New York, 511-527.
- KORENBERG, J.R. & FREEDLENDER, E.F. (1974). Giemsa technique for the detection of sister chromatid exchanges. Chromosoma, 48: 355-360.
- KRABKO, R.P.; MILGROM, H. & SCHWARTZ, A. (1982). Werner's syndrome with associated malignant neoplasms. Arch. Dermatol., 118: 106-108.
- LATT, S.A. (1973). Microfluorometric detection of deoxyribonucleic acid replication in human metaphase chromosome. Proc. Natl. Acad. Sci., 70:3395-3399.
- LATT, S.A. (1975). Localization of sister chromatid exchanges in human chromosomes. Science, 185:74-76.
- LATT, S.A. (1981). Sister chromatid exchanges. Ann. Rev. Genet., 15:11-55.
- LEZANA, E.A.; BIANCHI, N.O.; BIANCHI, M.S.; ZABALA-SUAREZ, J.E. (1977). Sister chromatid exchanges in Down syndrome and normal human beings. Mut. Res., 45:85-90.
- LITTLEFIELD, L.G. & MAILHES, J.B. (1975). Observations of the novel clones of cytogenetically aberrant cells in primary fibroblast cell strain from phenotypically normal women. Am. J. Hum. Genet., 27:190-197.
- MACE, M.L.; DASKAL, Y.; WRAY, W. (1978). Scanning - electron microscopy of chromosome aberrations. Mut. Res., 52:199-206.

- MARKLUND, S.; NORDENSSON, I.; BACK, O. (1981). Normal CuZn superoxide dismutase, catalase and glutathione peroxidase in Werner's syndrome. J. Gerontol., 36:405-409.
- Mc DONALD, M.A. & FITZGERALD, P.H. (1979). Sister chromatid exchanges and cell cycle progression in cultured lymphocytes from patients with chronic lymphatic leukemia. J. Natl. Cancer Inst., 62:1169.
- MOORHEAD, P.S.; NOWELL, P.C.; MELLMAN, W.J.; BATTIPS, D.M. e HUNGERFORD, A.D. (1960). Chromosome preparation of leucocytes cultured from human peripheral blood. Exp. Cell. Res., 20:613.
- MORGAN, W.F. & CROSSEN, P.E. (1977). The incidence of sister chromatid exchanges in cultured human lymphocytes. Mut. Res., 42:305-312.
- MORGAN, W.E. & CROSSEN, P.E. (1977). The frequency and distribution of sister chromatid exchanges in human chromosomes. Hum. Genet. 38:271-278.
- MORGAN, W.F. & CROSSEN, P.E. (1981). Factors influencing sister chromatid exchange rate in cultured human lymphocytes. Mut. Res., 81:395.
- NAKAGONE, Y.; ABE, T.; MISAWA, S.; TEKESHITA, T. e INUMA, K. (1984). The "loss" of centromeres from chromosomes of aged women. Am. J. Hum. Genet., 36:398-404.
- NATARAJAN, A.T. (1976). Molecular aspects of the origin of chromosome structural changes. Biol. Zbl., 95:139-156.
- NATARAJAN, A.T. & OBE, G. (1982). Mutagenicity testing with cultured mammalian cells: Cytogenetic assays. In: HEDDLE, J.A.

- (ed). Mutagenicity new horizons in genetic. Toxicology  
Academic Press, New York, pp 1-213.
- NORDERSSON, I. (1974). Chromosome breaks in Werner's syndrome  
and their prevention in vitro by radical-scavenging enzymes.  
Hereditas, 87:151-154.
- NORWOOD, T.H. (1979). Cellular aging in Werner's syndrome: A unique  
phenotype? J. Inv. Derm., 73:92-96.
- NOWAK, C. & OBE, G. (1984). On the origin of chromosomal  
aberrations in human peripheral lymphocytes in vitro. I.  
Experiments with neurospora endonuclease and polyethylene  
glycol. Hum. Genet., 66:335-343.
- OXFORD, J.M.; HARNDEN, D.G.; PARRINGTON, J.M.; DELLANTY, J.D.A.  
(1975). Specific chromosome aberrations in Ataxia Telangiectasia:  
J. Med. Genet., 12:251-254.
- PERRY, P. & WOLFF, S. (1974). New Giemsa method for the differential  
staining of sister chromatids. Nature, 251:156-158.
- PINA NETO, J.M. & FERRARI, I. (1981). Frequency and distribution  
of sister chromatid exchanges in normal individuals. Rev. Bras  
Genet., 1:65-73.
- RAINBOW, A.J. & HOWES, M. (1977). Decreased of gamma ray damaged  
DNA in Progeria. Bioche. Biophys. Comm., 74(2):719-9.
- REGAN, J.D. & SETLOW, R.B. (1974). DNA repair in human progeroid  
cells. Biochem. Biophys. Res. Comm., 59:858-864.
- REVELL, S.H. (1958). A new hypothesis for the interpretation of  
chromatid aberrations and its relevance to theory for the mode

of action of chemical agents. Ann. Ny. Acad. Sci., 68:802-810.

ROWLEY, J.D. (1977). Nourandom chromosomal changes in human malignant cells. In: SPARKES, R.S.; COMINGS, D.E.; FOX, C.F. (eds). Molecular human cytogenetics. Academic Press, New York, pp 457-472.

SALK, D. (1982). Werner's syndrome: review of recent research with analysis of corrective tissue metabolism, growth control of cultured cells, and chromosomal aberrations. Hum. Genet., 62:1-13.

SALK, D.; BRYANT, E.; AUK,; HOEHN, H.; MARTIN, G.M. (1981 a). Systematic growth studies, cultivation, and cell hybridization studies of Werner syndromes cultured skin fibroblasts. Hum., Genet., 58:310-316.

SALK, D.; AUK; HOEHN, H.; MARTIN, G.M. (1981 b). Cytogenetics of Werner syndrome cultured skin fibroblasts: variegated translocation mosaicism. Cytogenet. Cell Genet., 30:92-107.

SALK, A.; AUK; HOEHN, H.; MARTIN. G.M. (1981 c). Effects of radical scavenging enzymes and reduced oxygen exposure on growth and chromosome abnormalities of Werner syndrome cultured skin fibroblasts. Hum. Genet., 57:269-275.

SALK, D.; MAXWELL, C. AUK; HOEHN, H.; MARTIN, G.M. (1981d). Evolution and clonality of stable chromosome rearrangements in Bloom and Werner syndromes. Am. J. Hum. Genet., 33:119.

SALK, D.; CARLSON, C.; MARTIN, G.M. (1981 e). Nuclear morphology of senescint and serum starved normal and Werner syndrome cultured skin fibroblasts. Gerontologisl., 21:89.



- SCAPPATICCI, S.; CERINELE, D.; FRACCARO, M. (1982). Clonal structural chromosomal rearrangements in primary fibroblast cultures and in lymphocytes of patients with Werner's syndrome. Hum. Genet., 62:16-24.
- SCHONBERG, S.A.; HENDERSON, E.; NIERMEYER, M.F.; GERMAN, J. (1981). Werner's syndrome preferential proliferation of clones with translocations. Am. J. Hum. Genet., 33:120 a.
- SCHONBERG, S.; NIERMEYER, M.F.; BOOTSMA, D.; HENDERSON, E.; GERMAN, J. (1984). Werner's syndrome: Proliferations "in vitro" of clones of cells bearing chromosome translocations. Am. J. Hum. Genet., 36:387-397.
- SCHROEDER, T.M. (1982). Genetically determined chromosome instability syndromes. Cytogenet. Cell. Genet., 33:119-132.
- SCHROEDER, T.M.; ANSECHUTZ, F.; KNOPP, A. (1964). Spontane chromosomeaberrationen bei familiärer pannylopathie. Humangenetik, 1:194-196.
- SHIRAISHI, Y.; YOSIDA, T.H.; SANDBERG, A.A. (1982). Analysis of single and twin sister chromatid exchanges in endoreduplicate normal and Bloom syndrome B-lymphoid cells. Chromosoma, 87: 1-8.
- SHINAISHI, Y.; YOSIDA, T.H.; SANDBERG, A.A. (1983). Analysis of bromodeoxyuridine associated sister chromatid exchanges (SCE<sub>s</sub>) in Bloom syndrome based on cell fusion: single and twin SCEs in endoreduplication. Proc. Natl. Acad. Sci., USA, 80:4369-4373.
- SMITH, D.W. (1982). Reconizable patterns of human malformation in major problems in clinical pediatrics, V. VII. Philadelphia.

W.B. Sanders Company, pp. 112-113.

TAYLOR, J.H.; WOODS, P.S.; HUGHES, W.L. (1957). The organization and duplication of chromosomes as revealed by autoradiographic studies using tritium-labeled thymidine. Proc. Natl. Acad. Sci., Usa., 43:122-128.

THANNHANSER, M.H. (1945). Werner's syndrome (Progeria of the adult) and rothmund's syndrome: two types of closely related hereditary familial atrophic dermatosis with juvenile cataracts and endocrine features. A critical study with five new cases. Ann. Intern. Med., 23:559.

"  
WERNER, O. (1904). Über kataraky in Verbindung mit sklerodermie (Doctorat dissertation, Kiel University) Schmidt and Klauning, Kiel.

WOODRUFF, R.C. & THOMPSON, J.N.JR. Genetic factors that affect rates of spontaneous mutation and chromosome aberrations in *Drosophila Melanogaster*. Cytogenet. Cell. Genet., 33:152-159.

## X. APÊNDICE

### I. CARACTERÍSTICAS DAS PATOLOGIAS ESTUDADAS

#### SÍNDROME DE WERNER

##### FAMÍLIA A.

L.J.M. 050658 pertence a uma família de pais consangüíneos cuja idade paterna é 48 anos e materna 46 anos. Referem 15 gestações sendo que quatro terminaram em abortos, um natimorto com circular de cordão e um prematuro falecido ao nascer. São três afetados na irmandade, dois do sexo masculino e um do sexo feminino (vide herodograma - Família A).

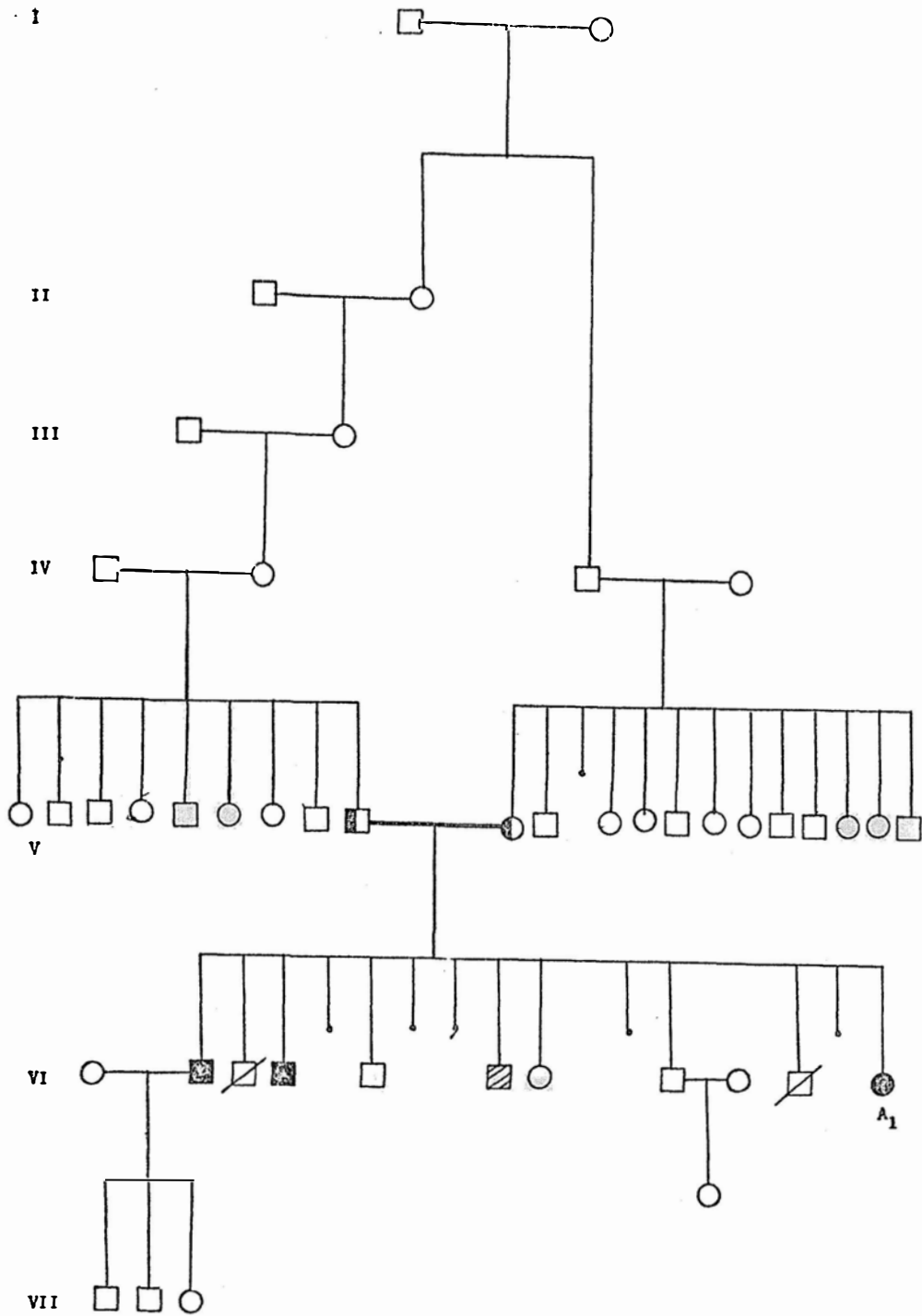
L.J.M. 050658, a propôsita, é a décima primeira filha do casal, com 25 anos de idade, do sexo feminino, de cor branca. Ao exame apresentava baixa estatura (151 cm, abaixo do terceiro percentil) frontal amplo, cabelos finos, escassos, quebradiços e embranquecidos, diminuição do número de cílios em pálpebras inferiores, nariz afilado com raiz nasal alta, orelhas pequenas com hipoplasia da parte superior do hélix, no pescoço a pele é aspera, espessa e descamativa. Nas mãos e pés a pele é enrugada, fina com máculas hipercrômicas. Apresenta afilamento das falanges distais nas mãos, limitação da extensão dos dedos, ausência de padrões dermatoglíficos. Na pele do tronco apresenta lesões verrucosas, acastanhadas, numu

lares (ceratose soborréica) e máculas hiperocrômicas de contornos irregulares, disseminadas. A pele é senil, atrófica, e seca. (Figura 4).



FIGURA 4 - L.J.M. 050658 - SÍNDROME DE WERNER - FAMÍLIA A.

## FAMÍLIA A (SÍNDROME DE WERNER)



■ ou ● : AFETADO

◐ ◑ : HETEREZIGOTO

□ ○ : NORMAL

◓ ◔ : ÓBITO

▨ : RETARDO MENTAL, ERITRODERMIA EM ÁREAS EXPOSTAS, PELE ICTIOSIFORME

• : ABORTO

□—○ : CASAMENTO CONSANGUÍNEO

## FAMÍLIA B

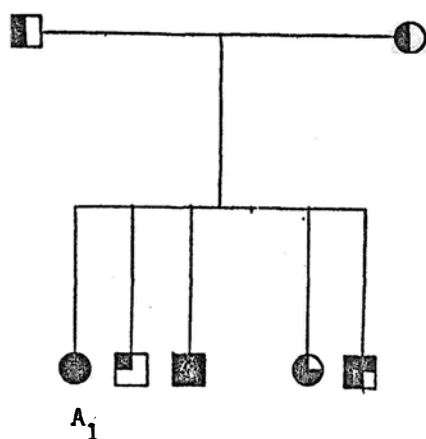
D.T.T. 040538, a propósa, pertence a uma família de japoneses, radicados no Brasil, não sabendo informar sobre seus ascendentes, avós maternos e paternos. Os pais não eram consanguíneos. Os pais são falecidos, o pai por câncer pancreático (75 anos) e a mãe por acidente vascular cerebral (69 anos) apresentava hipertensão arterial sistêmica. Referem cinco gestações todas a termo. Dois filhos são afetados e dois dos filhos não afetados apresentaram um embranquecimento precoce de cabelos, sendo que um deles apresenta hipertensão arterial sistêmica e um terceiro filho não afetado é estéril, de causa não investigada (vide heredograma - Família B).

D.T.T. 040538, a propósa, é a primeira filha do casal, com 45 anos de idade, do sexo feminino, de cor amarela. Ao exame apresentava baixa estatura (142 cm, abaixo do terceiro percentil) diminuição generalizada do tecido adiposo subcutâneo. Crânio sem anormalidades com cabelos embranquecidos precocemente (desde os 22 anos) escurecidos com cosméticos, escassos. Face hipoplásica com nariz afilado; catarata juvenil; diminuição de número de cílios, poliose, sombrancelhas pequenas, perda prematura dos dentes (aos 20 anos), palato alto arqueado, dificuldade para abrir a boca. Esclerose de pele generalizada. Membros: hipotrofia muscular, dificuldade para extensão dos dedos e dos joelhos, unhas normais. Pele com hipomelanose nos membros inferiores. Hálux valgus. Hipertiroidismo por Bócio nodular atóxico. Menopausa aos 32 anos. Ao exame radiológico apresenta osteoporose nas mãos, pés e joelhos.



FIGURA 5 - D.T.T. 110269 - SÍNDROME DE WERNER - FAMILIA B.

## FAMÍLIA B (SÍNDROME DE WERNER)



- ou ● : AFETADO
- ▧ : HETEROZIGOTO, ÓBITO, CANCER PANCREÁTICO
- ⊗ : HETEROZIGOTO, ÓBITO, ACIDENTE VASCULAR CEREBRAL
- ◻ : ESTÉRIL ?
- ◐ : HETEROZIGOTO COM EMBRANQUECIMENTO PRECOCE DOS CABELOS
- ◑ : HETEROZIGOTO COM EMBRANQUECIMENTO PRECOCE DOS CABELOS E HIPERTENSÃO ARTERIAL



PROGÉRIA - SÍNDROME DE HUTCHINSON - GILFORD

FAMÍLIA C.

Casos J.L.F. 110269 e E.G.P. 241282 filhos de pais consangüíneos, de baixo nível socio-cultural, com idade materna e paterna de 46 e 63 anos, respectivamente. Referem 10 gestações com 10 partos normais, domiciliares. Tiveram quatro filhos afetados, dois falecidos e um natimorto. Os outros cinco filhos do casal, foram examinados e considerados normais. Os dois que foram à óbito tinham 6 e 7 anos de idade (vide heredograma - Família C).

J.L.F. 110269, o propósito, quarto filho do casal, com 14 anos, do sexo masculino, de cor branca. Ao exame apresentava precário estado geral, com várias lesões ulceradas e infectadas pelo corpo. Ao exame do crânio apresentava aparente macrocefalia (PC= 49 cm, no terceiro percentil). Calvície, trajeto vascular visível no couro cabeludo, achatamento occipital, hipoplásia e assimetria facial. Cabeça desviada para a esquerda imóvel; olhos com ausência de cílios em pálpebras inferiores e cílios escassos em pálpebras superiores; nariz afilado, em bico de passaro, coriza espessa; boca com lábios finos e filtro naso-labial encurtado. Dentes em péssimo estado de conservação com má oclusão dentária. Incisivos centrais permanentes, juntamente com as da primeira dentição. Micrognatia. Ob

servam-se as orelhas espessadas, sem elasticidade, fusão de estrutura, na direita há junção de helix com tragus, formando uma única estrutura e na esquerda a forma é mais conservada, havendo inversão do lóbulo. No pescoço observa-se rigidez articular, com conservação de discreta movimentação da lateralidade. No tórax há hipotrofia muscular acentuada com os arcos costais salientes; "ICTUS CORDIS" visível e palpável no quarto espaço intercostal esquerdo; abdome globoso com pele endurecida (Esclerosada), com cicatriz umbilical formando um pequeno orifício; nos membros superiores e inferiores observa-se hipotrofia muscular e atrofia do tecido subcutâneo, alargamento de punhos; rigidez articular, em flexão com os dedos das mãos em garras, sem pregas digitais. A pele é lisa, fina e sem elasticidade, as unhas são distróficas, convexas não tendo unhas nos podáctilos, bilateralmente, havendo lesões crostosas nas articulações das falanges distais das mãos. Os membros inferiores estão em constante flexão com proeminência das articulações dos joelhos bilateralmente e presença de lesões ulceradas, crostosas, infectadas, desde o terço distal das coxas até os artelhos. A coluna tem a forma de Z, com escoliose cervical para a direita, aumento da cifose torácica e escoliose acentuada para a esquerda. Osteoporose generalizada ao exame radiológico. Não há indicações de deficiência mental (Figura 6).

E.G.P. 241282 é a décima filha do casal, com 9 meses de idade, sexo feminino e cor branca. Ao exame apresentava: Baixa estatura (66cm, abaixo do terceiro percentil), cabelos lisos, em pequena quantidade finos e escassos, com presença de lesões crostosas no couro cabeludo. Faceis inaracterística com orelhas pequenas, de consistência aumentada e perda da elasticidade. Micrognatia. No pescoço há lesões descamativas em áreas de dobra. Esclerose de pele na parede abdominal e nádegas.

Nos membros, as unhas são distróficas, em vidro de relógio. Lesão atrófica hipopigmentada, de consistência endurecida em terço distal da perna direita (Figura 7).

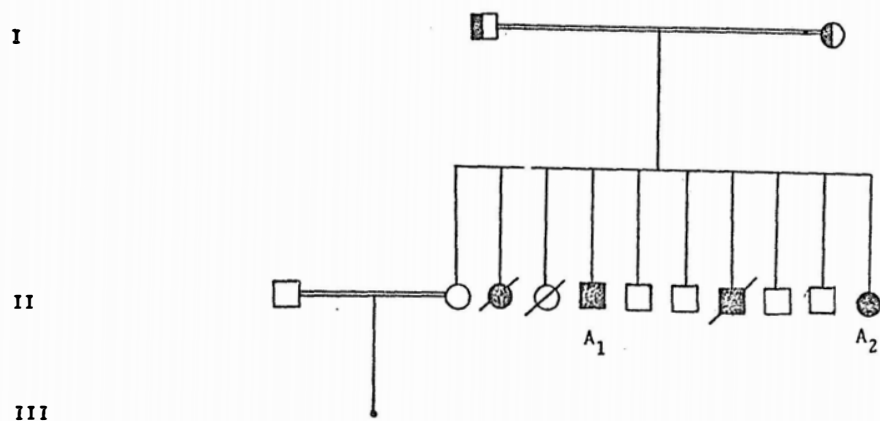












FIGURA 6 - J.L.F. 110269 - PROGÉRIA - SÍNDROME DE HUTCHINSON-GILFORD - FAMÍLIA C.



FIGURA 7 - E.G.P. 241282 - PROGÉRIA - SÍNDROME DE HUTCHINSON-  
GILFORD - FAMÍLIA C.

## FAMÍLIA C (PROGÉRIA)



-  ou  : HETEROZIGOTO  
 ou  : NORMAL  
 ou  : AFETADO  
 ou  : AFETADOS FALECIDOS  
 : NATIMORTO  
 : ABORTO

## FAMÍLIA D

L.A.S. 050574, o propósito, é filho de pais não consanguíneos com idade paterna de 30 anos e materna de 28 anos. Referem 6 gestações, todas a termo. Todos os outros cinco filhos são sãos (vide heredograma - Família D).

L.A.S. 050574, o propósito, é o quinto filho do casal, com 9 anos de idade, sexo masculino, de cor preta. Ao exame apresentava baixa estatura (96,5 cm, abaixo de terceiro percentil) diminuição generalizada do tecido celular subcutâneo, aparente macrocefalia (PC= 46 cm, no 50º percentil) p<sup>u</sup>ngem em lugar de cabelos, couro cabeludo com vasos periféricos proeminentes, desproporção cranio facial com hipotrofia facial, nariz afilado em bico de pássaro Boca sem anormalidades com dentes normais bem implantados (segunda dentição) orelhas sem anormalidades. Nos membros apresentava hipotrofia muscular, pele, seca, fina e rugosa, com diminuição da elasticidade e limitação da extensão dos dedos das mãos e pés, unhas hipoplásicas e distróficas (Figura 8).



FIGURA 8 - L.A.S. 050574 - PROGÉRIA - SÍNDROME DE HUTCHINSON-  
GILFORD - FAMÍLIA D.