

Deise Helena de Souza

Estudo citogenético da região 7q11.23
A síndrome de WILLIAMS-BEUREN

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Pediatria da Faculdade de Medicina de Botucatu- UNESP, para obtenção do título de Mestre

Orientadora

Prof^a Dr^a Lígia Maria Suppo de Souza Rugolo

BOTUCATU-SP
2003

Dedicatórias

in memoriam

Dr Antonio de Pádua Campana
entusiasta deste projeto e meu grande incentivador.

Sr. Adelino Luís de Souza
meu pai, exemplo vivo em minha mente, das lições de
respeito e responsabilidade.

Sra. Petronilha Durante Meira
minha tia, parceira e confidente dos grandes momentos
de minha vida.

Sra. Iracy Ap. Durante de Souza
minha mãe , incentivadora de minhas escolhas, mesmo
que estas afastassem-me de seu convívio.

Dr. Danilo Moretti-Ferreira
Companheiro, compreensivo e cúmplice em todos os
últimos 24 anos de minha vida pessoal e profissional.

Agradecimentos.

À Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” UNESP, pelo programa de Pós-Graduação em Pediatria, e pelos contratos profissionais de minha orientadora e meu.

Prof^a Dr^a Ligia Maria Suppo Souza Rugolo pela orientação dinamismo e competência com que conduziu este trabalho. Pelos ensinamentos e dedicação despendida em cada etapa do programa de Pós-Graduação.

Ao Prof. Dr. Danilo Moretti-Ferreira pessoa igualmente importante na realização deste trabalho. Acreditando na minha capacidade de trabalho e desta forma permitindo que esta pesquisa fosse desenvolvida.

Ao Instituto de Biociências UNESP-Botucatu, ao Departamento de Genética e ao Serviço de Aconselhamento Genético que me liberaram para realizar minhas atividades no programa de Pós-Graduação em Pediatria.

Aos pacientes e seus responsáveis que participaram deste projeto tornando-o possível.

À Dra. Raquel de Camargo pelo recrutamento e atendimento dos pacientes pertencentes a este grupo de pesquisa e pela avaliação clínica de inclusão dos paciente na amostra.

Às Dras. Iris Ferrari, Eny Maria Goloni Bertollo, Agnes C. Fett Conte e Maria Regina G. O. Rebouças pelo envio de pacientes.

Aos colegas do SAG Débora Rodrigueiro, Fernanda Bertão Scalco, Melissa de Freitas Cordeiro Silva, Rodrigo Cabral Luiz, Izaías Branco da Silva, Dr. Charles Marques Lourenço e em especial Marcio Leandro Gonçalves que auxiliaram e apoiaram em momentos do desenvolvimento deste trabalho.

À Mariza Branco da Silva pelo auxílio na elaboração do summary.

À Profa. Dra Claudia Aparecida Rainho pelo auxílio na elaboração do material da aula de qualificação.

Aos funcionários da Biblioteca Central do Campus de Botucatu UNESP pelo auxílio na elaboração das referências bibliográficas.

Aos funcionários do Departamento de Pediatria da FMB em especial à secretária da Pós-Graduação Adriana Fátima Bazzo pelos auxílios nos tramites acadêmicos e burocráticos.

Aos funcionários da Seção de Pós-Graduação da FMB pela dedicação e apoio recebido na orientação dos tramites acadêmicos e burocráticos.

Às colegas Rosana Aparecida Bicudo da Silva e Telma Norato da Silva que nestes últimos meses realizaram parte das minhas funções no Laboratório de Citogenética do SAG para que eu concluísse meu trabalho.

À Fundação Lucentis de Apoio à Cultura, Ensino, Pesquisa e Extensão pelo auxílio financeiro ao projeto.

SUMÁRIO

Resumo.....	viii
Summary.....	xi
1. Introdução.....	14
1.1. Histórico.....	16
1.2. Genética e Etiologia.....	20
1.3. Diagnóstico.....	24
1.4. Microdeleções.....	27
1.4.1. Síndromes de microdeleções.....	28
1.5. Técnicas para análise das microdeleções.....	30
1.5.1. Alta resolução.....	30
1.5.2. Hibridação <i>in situ</i> por Fluorescência (FISH)	30
1.6. Microdeleções na Síndrome de Williams-Beuren.....	32
2. Objetivos.....	35
2.1. Geral.....	35
2.2. Específicos.....	35
3. Material e Métodos.....	36
3.1. Tipo de Estudo.....	36
3.2. Casuística.....	36
3.3. Aspectos Éticos.....	37
3.4. Avaliação Clínica.....	38
3.5. Análise Citogenética.....	39
3.5.1. Cultura temporária de linfócitos periféricos.....	40
3.5.2. Coloração e bandamento.....	41
3.5.2.1. Bandamento GTG.....	42
3.5.2.2. Hibridação <i>in situ</i> por Fluorescência (FISH)	42
3.6. Análise citogenética.....	42

4. Resultados	45
4.1. Grupo amostral.....	45
4.2. Avaliação genético clínica.....	45
4.3. Análise citogenética.....	53
4.4. Comparação das características clínicas dos pacientes com e sem microdeleção.....	53
5. Discussão	61
6. Conclusão	74
7. Referências Bibliográficas	76
Anexos	92
ANEXO 1 – Aprovação do Comitê de Ética e Pesquisa.....	92
ANEXO 2 – Termo de Consentimento Livre Esclarecido.....	93
ANEXO 3 – Ficha de Anamnese.....	94
ANEXO 4 – Avaliações Clínicas e Citogenéticas.....	100
ANEXO 5 – Pontuação individual dos pacientes segundo escore de LOWERY et al., (1995).....	136
ANEXO 6 – Pontuação individual dos pacientes segundo escore de SUGAYAMA, (2001).....	137

Resumo

Introdução: A síndrome de Williams-Beuren (SWB) é uma rara condição neurogenética causada por microdeleção hemizigótica da região cromossômica 7q11.23.

Objetivos: Determinar a frequência da microdeleção 7q11.23 (gene da elastina), relacionar fenótipo com genótipo. Avaliar a sensibilidade e especificidade dos principais sinais e sintomas dos pacientes com microdeleção. Classificar os pacientes conforme escores clínicos. Investigar a transmissão parental da microdeleção.

Casuística e método: Estudo de série de casos envolvendo 18 pacientes com diagnóstico de SWB do SAG-IBB-UNESP, no período de 1986-2002. Os pacientes e seus pais foram analisados pela técnica de FISH, utilizando sondas para a região do gene da elastina manufaturadas por VYSIS[®] e CYTOCELL[®]. Aplicou-se o sistema de pontuação fenotípica de LOWERY et al., 1995, para o diagnóstico clínico de SWB “clássica” e a pontuação de SUGAYAMA, (2001) para diferenciar pacientes com e sem microdeleção. Para os sinais mais frequentes na amostra estudada foram calculadas sensibilidade e especificidade, tendo como padrão “ouro” o teste de FISH com microdeleção.

Resultados: Nesta amostra predominou o sexo feminino (1,57:1) e a idade do 1^o atendimento foi tardia (mediana 5,8 anos). A microdeleção foi detectada em 15 pacientes. A maioria dos pacientes com microdeleção nasceram pequenos para a idade gestacional (peso < P 10) e apenas 3 pacientes com comprimento < P 10, mas na evolução predominou a deficiência de crescimento estatural em 7 casos e microcefalia em 6 pacientes. Todos os pacientes (com e sem microdeleção) apresentaram atraso DNPM e deficiência mental, fronte alargada, boca de carpa e lábio

inferior grosso, enquanto que peso de nascimento <P10, deficiência de crescimento, loquacidade, cardiopatias, alterações renais, otites de repetição, íris estrelada, clinodactilia de 5º dígito e hálux valgo foram características presentes somente nos pacientes com microdeleção.

A frequência de ADNPM, sociabilidade excessiva, hiperatividade, loquacidade, deficiência de crescimento, dificuldade alimentar, hérnia umbilical e/ou inguinal, cardiopatias, otites de repetição, microcefalia, fronte alargada, edema periorbital, estrabismo, boca de carpa, lábio inferior grosso e anomalias dentárias em nossos pacientes com microdeleção foram concordantes com a literatura. Orelhas grandes em abano e problemas respiratórios foram características observadas com relativa frequência nesta série de casos, embora não sejam descritas na literatura. Atraso DNPM, deficiência mental, e dismorfismo facial como fronte alargada, boca de carpa, lábio inferior grosso foram muito sensíveis e específicos nesta amostra. Clinodactilia de 5º dígito, loquacidade, deficiência de crescimento, peso de nascimento <P10, EASV e outras cardiopatias congênicas, foram características específicas dos pacientes com microdeleção. O escore de LOWERY et al., 1995 classificou todos os pacientes com SWB clássica, e o escore de SUGAYAMA, 2001 mostrou-se eficiente nesta amostra.

Conclusão: A microdeleção na região 7q11.23 envolvendo o gene da elastina foi detectada na maioria dos pacientes com SWB (83%). Nossas crianças tiveram início da investigação tardia mesmo sendo portadoras da SWB clássica. Identificamos várias características com alta sensibilidade e especificidade que norteiam o pediatra a considerar o diagnóstico clínico da SWB. As características com elevada especificidade nos pacientes com microdeleção bem como o escore de SUGAYAMA norteiam o geneticista a investigar a microdeleção pela técnica de FISH. Não houve transmissão

parental nesta amostra. Duas características observadas nesta série de casos: orelha em abano e problemas respiratórios não se encontram descritas na literatura. Este estudo alerta o pediatra para o diagnóstico precoce visando o aconselhamento genético e o acompanhamento multidisciplinar que as crianças com SWB necessitam para evoluírem com melhor qualidade de vida.

Palavras-chave: Diagnóstico sindrômico; FISH; Gene de elastina; Região 7q11.23; Síndrome de Williams-Beuren

Summary

Introduction: Williams- Beuren Syndrome (WBS) is a rare neurogenetic condition caused by the homozygous microdeletion of chromosome 7q11.23 region.

Objectives: To determine the frequency of 7q11.23 (elastin gene) microdeletion, to relate phenotype with genotype. To evaluate the sensitivity and specificity of the major signs and symptoms exhibited by patients with microdeletion. To classify patients according to clinical scores. To investigate the parental transmission of the microdeletion.

Cases and methods: This study of a series of cases included 18 patients diagnosed with WBS, who were seen at SAG-IBB-UNESP in 1986-2002. These patients and their parents were analyzed by using the technique of FISH, with VYSIS[®] and CYTOCELL[®] probes for the elastin gene region. The phenotypic scoring system of LOWERY et al. (1995) was used in the clinical diagnosis of “classical” WBS and the scoring system of SUGAYAMA was used (2001) to distinguish patients with microdeletion from those without. Both frequency and specificity of the signs observed in the sample group were estimated using the test of FISH with microdeletion.

Results: In the sample group, most patients were females (1.57:1) and the first consultation occurred late (median = 5.8 years). Microdeletion was detected in 15 patients. The majority of the patients with microdeletion were born small, considering gestational age (weight <P10), and only 3 patients exhibited birth length < P10. However, as the patients developed, deficiency in statural growth (7 patients) and microcephaly (6 patients) prevailed. All the patients (with and without microdeletion) showed delayed development and mental retardation, broad forehead, carp mouth and full and prominent lower lip, whereas birth weight <P10, growth

deficiency, high verbal ability, cardiac diseases, chronic otitis, stellate iris, clinodactyly of the 5th digit and valgus halux were features exclusively observed in the patients with microdeletion.

The frequency of delayed development, over friendliness, hyperactivity, high verbal ability, growth deficiency, feeding difficulties, inguinal or umbilical hernias, heart diseases, chronic otitis, microcephaly, broad forehead, periorbital fullness, strabismus, carp mouth, full and prominent lower lip, and dental anomalies observed in our patients with microdeletion was consistent with the literature. Large anteverted ears and respiratory problems were quite often observed in our cases, but these characteristics have not been reported in the literature. Delayed development, mental retardation and facial dymorphism such as broad forehead, carp mouth, full and prominent lower lip were very frequent and specific in our sample. Clinodactyly of the 5th digit, high verbal ability, growth deficiency birth weight <P10, supraaortic arch stenosis and other congenital heart diseases were characteristics specific of the patients with microdeletion. All the patients with classical WBS were classified by the score system of LOWERY et al (1995). SUGAYAMA (2001) score system was efficient in this sample.

Conclusion: Microdeletion of the 7q.11.12 region including the elastin gene was detected in most patients with WBS (83%). Even though our patients presented classical WBS, the investigation of their cases started late.

In this study, several characteristics of high sensitivity and specificity that lead the pediatrician to consider clinical diagnosis have been identified. The characteristics with high specificity in the patients with microdeletion as well as the score of SUGAYAMA lead the geneticist to investigate the microdeletion by FISH. In our sample, no parental transmission was

observed. Large anteverted ears and respiratory problems were features observed in this study that have not been reported in the literature. The present work, points up, to pediatricians, the importance of an early diagnosis aiming at the genetic counseling and multidisciplinary care so much needed for the better development and life quality of children with WBS.

1. INTRODUÇÃO

A síndrome de Williams-Beuren (SWB) é uma afecção do grupo das anomalias múltiplas e deficiência mental, que foi descrita independentemente por WILLIAMS et al. (1961), e BEUREN et al. (1962).

É caracterizada por várias anormalidades físicas e de desenvolvimento, incluindo dismorfismos faciais que estão sempre presentes, anomalias cardiovasculares congênitas, deficiência mental e de crescimento, perfil cognitivo característico, que são muito freqüentes, e ocasionalmente hipercalcemia infantil transitória (AAP, 2001).

O perfil cognitivo e lingüístico é muito peculiar nos indivíduos com SWB, que apresentam relativa preservação de sua capacidade de linguagem, mas geralmente são deficientes em habilidades não verbais que envolvem: manipulações com números, cognição visuo-espacial, motricidade e resolução de problemas (VOLTERRA et al., 1996). Apresentam freqüentemente hiperacusia, hiperatividade, desinibição social, amabilidade excessiva, insegurança, e baixa capacidade de concentração, características estas que prejudicam o relacionamento e adaptação social, bem como a aprendizagem (WILLIAMS et al., 1961; BEUREN et al., 1962; BELLUGI et al., 1990; LASHKARI et al., 1999).

A SWB é causada por uma microdeleção hemizigótica de 20 a 30 genes no braço longo do cromossomo 7 (7q11.23). A região deletada envolve o gene da elastina (ELN) que codifica a proteína elastina, importante componente das fibras elásticas do tecido conjuntivo, o que pode explicar várias características da SWB como, alterações faciais, voz rouca, cardiopatia, envelhecimento precoce da pele, divertículos vesicais, hérnias, contratura ou frouxidão de articulações. Entretanto, outras

características importantes na síndrome, como a hipercalcemia, o perfil neuropsicológico e a deficiência mental não são decorrentes da deleção no gene da elastina e têm sido atribuídos à deleção de outros genes contíguos, ainda não completamente elucidados (EWART et al., 1993; OSBORNE et al., 1996; AAP, 2001).

A hipótese diagnóstica da SWB baseia-se na evolução clínica durante os primeiros anos de vida, quando as características faciais, o perfil cognitivo e as anomalias cardíacas começam a tornar-se evidentes. Entretanto, a grande variabilidade fenotípica nesta síndrome, muitas vezes dificulta e atrasa o diagnóstico clínico. Assim, a técnica de hibridação *in situ* por fluorescência (FISH) tem sido usada para confirmar o diagnóstico clínico e é muito eficiente em demonstrar a microdeleção da banda 7q11.23 no cromossomo 7 (LOWERY et al., 1995). Se um dos pais ou irmão na família for afetado com a SWB, pode ser feita a investigação diagnóstica pré-natal, pela realização do FISH em sangue obtido por cordocentese, embora a transmissão familiar seja rara.

A terminologia descritiva desta síndrome tem gerado polêmica. Os aspectos faciais comuns como nariz arrebitado, ponte nasal achatada, órbitas profundas, boca grande, lábios inferiores grossos, bochechas proeminentes, filtro nasal longo, propiciam semelhança com duende (elfin-like), e por isso alguns autores designaram esse distúrbio como síndrome da face de duende (Elfin-Facies Syndrome) (JOSEPH & PARROT, 1958). Entretanto este termo tem conotação mitológica e não é bem recebido pelos familiares.

Outros autores têm descrito essa afecção como síndrome do freqüentador de coquetel (Cocktail Party Syndrome), pois as crianças comprometidas são loquazes, amáveis e desinibidas (UDWIN et al., 1987). Esta denominação também tem conotação negativa e não reflete o conjunto

de sintomas associados com a síndrome. A designação mais aceita pelos pais e profissionais é síndrome de Williams-Beuren, ou simplesmente síndrome de Williams.

1.1 Histórico

Em 1961, WILLIAMS et al., na Nova Zelândia descreveram 4 pacientes com estenose aórtica supra-avalvular, deficiência mental, e aspectos faciais distintos, consistindo de testa e bochechas proeminentes, olhos profundos, boca e lábios grandes. Um ano após, BEUREN et al. (1962) na Alemanha relataram dados peculiares em 4 pacientes que apresentavam estenose da artéria pulmonar, anomalias dentárias, estrabismo, e temperamento amigável. Nestes pacientes os achados faciais eram semelhantes aos descritos por WILLIAMS et al. (1961). Esses relatos delinearão uma nova síndrome.

Apesar das primeiras descrições detalhadas da síndrome terem sido atribuídas à WILLIAMS e BEUREN, ambos cardiologistas, existem relatos prévios na literatura de pacientes com hipercalcemia idiopática infantil (H.I.I.) que apresentavam características semelhantes às da SWB.

Já em 1952, FANCONI et al. descreveram pacientes com fácies de duende (elfin fácies), retardo de crescimento, dificuldades na alimentação, vômitos persistentes, irritabilidade, constipação, hipotonia, alterações renais, sopro cardíaco e deficiência mental. Estes achados caracterizaram a hipercalcemia idiopática infantil (MARTIN et al.; 1984).

BLACK & BONHAN CARTER (1963) notaram que o fácies de duende dos pacientes com H.I.I era semelhante ao fácies dos pacientes com EASV e deficiência mental descritos por WILLIAMS e BEUREN. Propuseram que o sopro cardíaco da hipercalcemia idiopática infantil

poderia estar relacionado com lesões estenóticas tardias evidenciadas na SWB, questionando então a possibilidade de se tratar de entidade única. Outra possibilidade seria que as crianças com SWB que apresentavam problemas de alimentação durante a infância tivessem um período de hipercalcemia não diagnosticado e que se resolvia espontaneamente.

O vínculo entre as duas doenças ficou claramente estabelecido quando GARCIA et al., em 1964 descreveram um recém nascido que apresentou hipercalcemia, estenose aórtica supra-avalvular e estenose da artéria pulmonar, tendo evoluído com fácies de duende e deficiência mental. Neste mesmo ano BONHAM-CARTER et al. (1964), estudando a manifestação cardiovascular nos portadores de SWB, observaram que a estenose arterial não se limitava à aorta, e ocorria também nas bifurcações das grandes artérias, seja da circulação pulmonar ou sistêmica, podendo comprometer as artérias renais e conseqüentemente causar hipertensão arterial em pacientes adultos.

As manifestações neurológicas nos pacientes portadores da SWB, foram destacadas no estudo de VON ARMIN & ENGEL (1964). Os autores observaram que as crianças com SWB embora parecessem inseguras e ansiosas, comportavam-se com desinibição e loquacidade, distinguindo-se por sua grande habilidade verbal apesar de baixo quociente intelectual.

BLACK et al. (1965), descreveram o resultado de necrópsia de um caso original de hipercalcemia idiopática infantil tipo Fanconi, no qual foi encontrada estenose aórtica supra-avalvular. Ficou assim caracterizada a presença da estenose aórtica supra-avalvular na hipercalcemia idiopática infantil. Neste mesmo ano, JUE et al. (1965) publicaram o relato de 2 pacientes com hipercalcemia idiopática infantil, um deles associado com estenose aórtica supra-avalvular e o outro com estenose da artéria pulmonar.

Esses pacientes, durante a infância, apresentaram problemas gastrintestinais e nível sérico de cálcio elevado.

Em 1975, JONES & SMITH estudaram 19 indivíduos com SWB, enfatizando algumas características como baixa estatura, microcefalia, e grande amabilidade. Este estudo foi importante por envolver casuística relativamente ampla e acompanhamento que se estendeu da infância à fase adulta.

Em função da hipercalcemia e das anomalias cardiovasculares alguns pesquisadores sugeriram que o principal agente causador da síndrome fosse a dieta com excesso de vitamina D. Esta hipótese apoiava-se em 2 aspectos: muitos pacientes com SWB apresentavam nível sérico elevado de vitamina D, e os estudos da década de 50 postulavam que o sopro cardíaco na hipercalcemia idiopática infantil poderia ser causado pela calcificação da aorta. Para testar essa hipótese, alguns estudos experimentais foram realizados. Em 1965, COLEMAM administrou altas doses de vitamina D em coelhos jovens, e observou que alguns animais desenvolveram lesão aórtica similar à dos pacientes com SWB. FRIEDMAN & ROBERTS (1966), administraram doses variadas de vitamina D para um grupo de coelhas prenhas, e encontraram entre os filhotes alguns que exibiram características compatíveis com a SWB, como estenose aórtica supra-avalvular, baixo peso ao nascimento, fácies peculiar e estrabismo.

Apesar dos estudos experimentais iniciais reforçarem a hipótese de sensibilidade à vitamina D, esses achados não foram confirmados posteriormente (CHAN et al., 1979). Em estudo clínico, MARTIN et al. (1985) documentaram que a anormalidade no metabolismo da vitamina D pode ocorrer nos pacientes com SWB e com hipercalcemia idiopática infantil, mas também em várias outras condições. Assim, gradualmente foi

descartada a hipótese da sensibilidade à vitamina D como causa básica da SWB

Surgiu então uma teoria alternativa, propondo que um defeito na produção ou secreção da calcitonina (CT) pelas células C da glândula tireóide, poderia explicar a presença de hipercalcemia e de alguns outros sintomas na SWB, já que alguns pacientes apresentavam baixo *clearance* de cálcio sérico em resposta à administração intravenosa de cálcio, quando comparados ao grupo controle que recebeu o mesmo tratamento (FORBES et al., 1972; CULLER et al., 1985). E também estudos histológicos da tireóide de pacientes com SWB revelaram atrofia das células C (HUTCHINS et al., 1978). Entretanto, apenas a deficiência de calcitonina não parece explicar completamente o distúrbio do cálcio nos pacientes com SWB, visto que crianças sem a glândula tireóide mostraram-se menos hipercalcêmicas e sintomáticas do que aquelas com SWB e hipercalcemia (CULLER et al., 1985).

Em 1993, CURRAN et al.; MORRIS et al., relataram casos de translocação recíproca, $t(6;7)(p21.1;q11.23)$, em uma família com estenose aórtica supra-avalvular de caráter autossômico dominante, na qual foi documentado que a translocação causou ruptura no gene da elastina. Esta descoberta associou o gene da elastina à EASV, sugerindo que a lesão poderia ser causada pela expressão reduzida desta proteína no tecido vascular. Como grande parte dos pacientes com SWB apresentam estenose aórtica supra-avalvular, o *locus* da elastina passou a ser considerado como candidato ao gene desta síndrome. Neste mesmo ano, EWART et al. (1993) demonstraram que a SWB é causada pela microdeleção do 7q11.23, região que inclui o gene da elastina.

Estudos posteriores em pacientes com SWB identificaram outros genes comumente deletados na região 7q11.23 (OSBORNE et al., 1996). O

gene do receptor da calcitonina, CALCR foi mapeado em 7q21.3, região bastante distante do *locus* 7q11.23. Assim, apesar das especulações anteriores, não há evidências de que o gene CALCR seja responsável pela hipercalcemia infantil que ocorre em alguns indivíduos com SWB (PEREZ- JURADO et al., 1995).

1.2 *Genética e Etiologia*

A SWB ocorre com frequência estimada entre 1 em 20.000 e 1 em 50.000 nascidos vivos (GREENBERG, 1990; BORG et al., 1995). Caracterizada por microdeleção no braço longo do cromossomo 7 em 7q11.23, essa síndrome acomete igualmente homens e mulheres, de qualquer etnia. Embora seja uma afecção rara, dentre as síndromes genéticas é uma das mais detectadas na infância (AAP, 2001).

A maioria dos casos é de ocorrência esporádica, resultado de uma deleção *de novo*, raramente pode ocorrer transmissão por um dos pais (WHITE et al., 1977; MORRIS et al., 1988).

MORRIS et al. (1993b) identificaram três famílias nas quais a criança e os pais foram clinicamente diagnosticados como SWB, com padrão de herança autossômico dominante, sendo que os pais só foram diagnosticados após a identificação das crianças afetadas.

Como a síndrome tem padrão de herança autossômica dominante os indivíduos acometidos têm 50% de chance de transmitir o distúrbio para seus descendentes. Quando os pais não são afetados o risco de recorrência é geralmente baixo, mas permanece a possibilidade teórica de mosaïcismo de células germinativas (MORRIS et al., 1993b).

O diagnóstico clínico da SWB é confirmado pela técnica de FISH, que detecta em mais de 80% dos pacientes, a deleção

submicroscópica 7q11.23 que é quase impossível de ser visualizada na citogenética clássica (LOWERY et al., 1995; NICKERSON et al., 1995). A técnica utiliza uma sonda com a seqüência de DNA do gene da ELN marcada com fluorocromo que se liga especificamente à região cromossômica, detectando a presença ou ausência da região comprometida na SWB.

O estudo citogenético também permite caracterizar rearranjos cromossômicos envolvendo a região 7q11.23 ou qualquer outra anormalidade citogenética. A falha em detectar a deleção do gene da elastina em um paciente com características clínicas sugestivas de SWB pode ser devida a várias possibilidades: (1) o paciente pode ter uma deleção muito pequena ou mutação do gene da elastina não detectável pela sonda de FISH disponível. (2) podem ter sido deletados genes contíguos ao gene da elastina sem incluir este último, (3) o paciente pode ter uma fenocópia de SWB, ou (4) o paciente pode ter sido diagnosticado erroneamente (LOWERY et al., 1995).

A origem da deleção tem sido atribuída ao rearranjo inter-cromossômico desigual na meiose, que pode ocorrer em uma região contendo seqüências repetidas de DNA, como a 7q11.23 (DUTLY & SHINZEL, 1996; SCHMITT, 2001).

Quanto à origem parental da deleção, a maioria dos estudos mostrou proporção discretamente maior da origem materna, mas não parece haver influência desta origem no fenótipo dos pacientes (WU et al., 1998; WANG et al., 1999).

O tamanho da deleção em pacientes afetados é variável, mas geralmente maior que 500 Kb, em torno de 1,5 Mb, estendendo-se na região 7q11.23, como mostra a figura abaixo (OSBORNE et al., 1996; PEOPLES et al., 2000; OSBORNE et al., 2001).

Fig. 01. Mapa físico da região comumente deletada em paciente com SWB.

O gene da elastina consiste de 34 exons e ocupa 47 Kb do DNA genômico. A proteína elastina é encontrada predominantemente no tecido conjuntivo das artérias, onde está disposta em camadas paralelas separadas pelo músculo liso. Insuficiência ou anormalidade do gene da elastina tipicamente resulta em estenose aórtica supravalvular, o que pode ocorrer como traço isolado de dominância autossômica, ou como parte de um padrão principal de problemas, tal como na SWB (URBAN et al., 1996; OSBORNE et al., 1997).

Estudos genéticos mostraram que a estenose aórtica supravalvular isolada associa-se a mutações intragênicas do gene da elastina, enquanto que a SWB envolve deleções do gene da elastina na sua totalidade. Esses achados sugerem que a estenose aórtica supravalvular, pode ser causada por defeitos quantitativos ou qualitativos do gene da

elastina. Indivíduos com estenose aórtica supra-avalvular isolada podem ter envelhecimento precoce da pele e características faciais similares às daquelas dos pacientes com SWB, mas não apresentam as anormalidades comportamentais e do desenvolvimento neurológico associadas com a SWB (URBAN et al., 1996; LI et al., 1997).

O gene da elastina que expressa-se em tecido conjuntivo, pode explicar a ocorrência de hérnias, envelhecimento de pele e alguns distúrbios faciais na SWB, mas não é o único responsável pelas manifestações da SWB, que é considerada uma síndrome de genes contíguos. (URBAN et al., 1996; LI et al., 1997; WANG, et al., 1999).

Vários genes, além da elastina, já foram identificados na região comumente deletada, entretanto, o papel de cada um deles nas manifestações da SWB ainda não foi estabelecido. Destacam-se entre estes, 4 genes que têm alto grau de expressão no sistema nervoso central: LIMK1, FZD9, STXIA e CYLN2; bem como o RFC2 que promove a replicação do DNA e pode influenciar o crescimento (OSBORNE et al., 1996; PEOPLES et al., 1998).

Já há algum tempo, a deleção do LIMK1 tem sido implicada na deficiência de integração visuo-espacial, que é uma característica marcante na SWB (FRANGISKAKIS et al., 1996), mas atualmente esta possibilidade é questionada, pois foram identificados vários casos de deleção do LIMK1 sem deficiência visuo-espacial (TASSABEHJI et al., 1996) e assim considera-se mais provável que a função visuo-espacial não dependa de um único gene e sim de combinações gênicas específicas (SCHULTZ et al., 2001).

1.3 Diagnóstico

Embora a SWB seja definida por características específicas, muitas vezes, o diagnóstico pode ser difícil durante a infância, pois esta é uma doença de manifestação progressiva e muitas características podem não estar presentes no início da vida, especialmente as anormalidades cardíacas EASV e EAP, que podem desenvolver-se lenta e gradativamente. Os aspectos faciais típicos acentuam-se com a idade e podem não ser reconhecidos no primeiro semestre de vida. A restrição de crescimento pode manifestar-se ao nascimento e geralmente está presente nos primeiros anos de vida, bem como os problemas de alimentação, cólicas, refluxo gastroesofágico, vômitos e irritabilidade, que são sintomas da hipercalcemia, mas são inespecíficos durante a infância, além do que, não se avalia rotineiramente o nível sérico de cálcio (MORRIS et al., 1988; AAP, 2001).

Um aspecto que chama a atenção no desenvolvimento das crianças com SWB é seu distinto perfil cognitivo e comportamental. Elas evoluem com atraso motor, de linguagem e cognitivo, com importante deficiência na cognição visuo-espacial e relativa preservação na linguagem. Muitas apresentam deficiência mental moderada, com QI médio em torno de 60. Os distúrbios comportamentais incluem: hipersensibilidade ao som, porém aliado a forte atração pela música, problemas de sono, dificuldade de concentração, hiperatividade, ansiedade e excessiva sociabilidade (UDWIN & YULE, 1991; SCHULTZ et al., 2001)

O estudo de MORRIS et al. (1998) ilustra as dificuldades no diagnóstico desta síndrome, pois entre 63 indivíduos encaminhados por uma Associação de pacientes com SWB, aos quais tinham sido dado um

prévio diagnóstico clínico de SWB, mas sem microdeleção do gene da elastina pela técnica de FISH, observou-se que em 17 deles a hipótese diagnóstica foi feita na primeira infância, como parte do diagnóstico diferencial com outras síndromes genéticas, mas eles nunca completaram sua avaliação genética. Outros 3 foram diagnosticados por seus pais com base em informações da mídia. O restante dos pacientes foi diagnosticado em um conjunto variado de síndromes, incluindo: Síndrome Velocardiofacial (n=2), Síndrome de Noonan (n=1), Síndrome Smith-Magenis (n=2), Síndrome FG (n=1), Síndrome de Kabuki (n=1), Síndrome de Coffin-Lowry (n=1), Síndrome Simpson-Golabi-Behmel (n=1), Síndrome Alcoólica-fetal (n=2), Síndrome do X-Frágil (n=1). Destacam os autores que 3 crianças (5%) tinham EASV isolada e 2 crianças tinham fenótipo compatível com a SWB, o que mostra a importância de um consultor genético experiente para estabelecer o diagnóstico correto.

Frente a estas dificuldades no diagnóstico, desde 1984 até os dias atuais tem-se tentado elaborar sistemas de pontuação para facilitar o diagnóstico clínico da SWB. PREUS (1984) estudou 52 pacientes com suspeita clínica de SWB e propôs um escore baseado em 50 características clínicas, incluindo predominantemente dismorfismos faciais e achados dermatoglíficos, mas esse escore tem sido pouco utilizado na literatura devido à sua complexidade (MARI et al.,1995).

Em 1995, LOWERY et al. realizaram estudo citogenético com FISH em 235 pacientes e elaboraram um escore baseado em 6 características fenotípicas de 153 pacientes estudados (quadro 01). Os pacientes com valores de quatro a dez pontos foram considerados como clássicos; e entre zero e três, classificados como duvidosos quanto ao diagnóstico da SWB. Esta classificação teve boa correlação com o genótipo pois dos 114 pacientes com fenótipo clássico, 110 apresentaram a

microdeleção, enquanto que dos 39 duvidosos apenas 3 tinham microdeleção.

Quadro 01. Sistema de pontuação de LOWERY et al. (1995)

Características fenotípicas	Pontos
Características faciais típica	3
Deficiência mental / Atraso DNPM	1
EASV	2
Cardiopatía congênita que não EASV	1
Hérnia inguinal	1
Hipercalemia	2
Total	10

O comitê de genética da Academia Americana de Pediatria elaborou um guia para auxiliar o pediatra nos cuidados às crianças com SWB, propondo um escore simples atribuindo um ponto a cada uma das 7 características clínico-laboratoriais: crescimento, comportamento e desenvolvimento, dismorfismos faciais, estenose aórtica supra-valvular, outros problemas cardíacos, alterações do tecido conjuntivo e hipercalemia. Se a pontuação obtida for inferior a 3 o diagnóstico de SWB é improvável e se maior que 3 deve ser realizado o teste de FISH (AAP, 2001).

Em nosso meio, um estudo importante foi realizado por SUGAYAMA em 2001, na Faculdade de Medicina da USP, envolvendo 20 pacientes com diagnóstico clínico de SWB que foram submetidos à criteriosa avaliação clínico-laboratorial e realização do teste de FISH, que detectou a microdeleção em 17 casos. Além de analisar seus pacientes, a autora realizou também uma metanálise com vários trabalhos da literatura para estabelecer quais características clínicas associaram-se com a presença de microdeleção. Seus resultados culminaram na elaboração de um escore pontuando 15 características da SWB, com valor máximo de 31 pontos e nível de corte em 20 pontos. A probabilidade de um paciente com valor

igual ou maior que 20 pontos não ter microdeleção é baixa e portanto o teste de FISH estaria indicado na suspeita da SWB com pontuação inferior a 20. Esta proposta é muito promissora pois o alto custo do teste de FISH (cerca de 300 dólares americanos) limita muito sua realização nos hospitais da rede pública, entretanto a própria autora alerta quanto a necessidade de mais estudos para validar este escore (SUGAYAMA, 2001).

Quadro 02. Sistema de pontuação elaborado por SUGAYAMA (2001)

Características	Pontos
Baixo peso ao nascimento	3
Dificuldades alimentares	3
Constipação intestinal	3
Fácies típica	3
EASV	3
Deficiência mental	3
Personalidade amigável	3
Estrabismo	2
Atraso de DNPM	2
Dificuldade de ganho de peso	1
Outra cardiopatia que não a EASV	1
Hipertensão arterial	1
Contraturas articulares	1
Hiperacusia	1
Hipoplasia ungueal	1
Total	31

1.4 Microdeleções

Microdeleção é a deleção de tamanho igual ou inferior ao nível de resolução do microscópio óptico de luz (SHAFFER, 1997). Em geral, a análise citogenética de rotina pode resolver 400-500 bandas cromossômicas por cariótipo haplóide e nesse nível de resolução, deleções da ordem de 5-10 Mb podem ser visualizadas.

O uso de métodos de alta resolução baseados em sincronização da cultura celular para obter a fase prometáfase, aumenta a resolução para

650-850 bandas, permitindo visualizar deleções de aproximadamente 2-5 Mb. Abaixo desse tamanho, as deleções só podem ser identificadas por métodos moleculares baseados em PCR (reação em cadeia da polimerase) ou FISH (SHAFFER, 1997; PENA, 1998).

As microdeleções produzem fenótipos anormais porque apresentam haploinsuficiência (dominante) ou deficiências absolutas (recessivas). Podem atingir apenas um gene, ou serem maiores envolvendo vários genes, com possibilidade de visualização microscópica, e caracterizando assim uma síndrome de genes contíguos (PENA, 1998).

1.4.1- Síndromes de microdeleções

As síndromes dos genes contíguos são incluídas em um grupo de defeitos de desenvolvimento, identificadas e reconhecidas dentro dos padrões de malformações definidas por SMITH (1982). Essas síndromes são geralmente reconhecidas a partir do exame físico e radiológico e suas características mais freqüentes são a deficiência mental e o retardo de crescimento.

Um dos grandes desafios da genética pediátrica é a identificação e o diagnóstico das síndromes de genes contíguos, resultado de uma microdeleção ou duplicação de bandas cromossômicas críticas. Como estas deleções e duplicações são mínimas, os fenótipos associados são compatíveis com a vida, mas com limitações (KAO, 1993; GOPAL et al., 1995). Esses distúrbios são caracterizados por manifestações clínicas no adulto que não são fáceis de identificar nos lactentes e crianças, havendo a necessidade de algum teste pós-natal quando houver a suspeita. Algumas das síndromes de microdeleções e duplicações mais freqüentes estão apresentadas no Quadro 3.

Quadro 3. Síndromes dos genes contíguos: Síndromes de microdeleções (-) e microduplicações (+).

Banda cromossômica afetada	Distúrbio genético	N. do catálogo OMIM*
2q- (del 2q33.qter)	Síndrome de Waardenburg (WS)	193500
3p- (del 3p25-26)	Síndrome de von-Hippel-Lindau	193300
4p- (del 4p16.1)	Síndrome de Wolf-Hirschhorn	194190
5p- (del 5p16)	Síndrome de Cri-du-chat	123450
5q- (del 5q21-22)	Adenomatose polipose do colo (APC)	175100
7p- (del 7p13)	Síndrome de Greig-Cefalosindactilia	175700
7q- (del 7q11-23)	Síndrome de Williams-Beuren	194050
8q- (del 8q23-24)	Síndrome de Langer-Giedion	150230
9q- (del 9q34)	Síndrome Unha - patela	161200
11p+ (dup 11p15)	Síndrome de Beckwith-Wiedemann	130650
11p- (del 11p23)	Síndrome de Wilms	194070
11p- (del 11p15.5)	Tumores em Geral	
13q- (del 13q14.11)	Retinoblastoma (RB)	180200
15q- (del 15q11-13)	Síndrome de Prader- Willi/ Angelman	176270
15q (del 15q21.1)	Síndrome de Marfan	154700
16p- (del 16p13.3)	Síndrome de Rubinstein-Taybi	268600
17p+ (dup 17p11.12)	Doença de Charcot-Marie-Tooth	118200
17p- (del 17p11.2)	Síndrome de Smith-Magenis	182290
17p- (del 17p13.3)	Síndrome de Miller-Dieker lisencefalia	247200
19q- (del 19q13)	Distrofia Miotônica	160900
20p- (del 20p11.2)	Síndrome de Alagille	118450
22q- (del 22q12.13)	Síndrome Neurofibromatose tipo II	101000
22q+ (dup 22q11)	Síndrome do olho de gato	115470
22q- (del 22q11)	Síndrome de DiGeorge e	188400
	Síndrome VeloCardioFacial	192430
Xp- (del Xp22.3)	Síndrome de Kallman	308700
Xq- (del Xq21.1)	Coroideremia	303100

*OMIM : On line mendelian inheritance in man.

1.5 *Técnicas para análise das microdeleções*

1.5.1 Alta Resolução

A técnica de bandamento GTG em alta resolução foi introduzida por YUNIS em 1976 para detectar deleções submicroscópicas (microdeleções) impossíveis de serem vistas em técnicas de bandamento GTG comum. A análise de cromossomos em alta resolução requer a obtenção de cromossomos alongados, nos estágios de prometáfase ou prófase tardia, mostrando pelo menos 550 bandas ou sub-bandas distintas por lote haplóide, a fim de se detectar anormalidades cromossômicas pequenas. O bandamento GTG em alta resolução é possível com a sincronização celular ou outros métodos especiais, como a adição de agentes intercalantes como dactomicina D (YUNIS & CHANDLER, 1977) e bromodeoxiuridina (VIEGAS-PEQUIGNOT & DUTRILLAUX, 1978), e breve exposição a colchicina. Os cromossomos prometafásicos revelam de 850 a 2000 bandas e são classificados de acordo com a nomenclatura publicada no *An International System for Human Cytogenetic Nomenclature*- ISCN (MITELMAN, 1995).

1.5.2- Hibridação *in situ* por Fluorescência (FISH)

Na década de 80 a citogenética tradicional teve grande avanço com o advento da citogenética molecular, o que ampliou sua capacidade de diagnosticar e contribuir para o prognóstico dos pacientes. A técnica de hibridação *in situ* por fluorescência (FISH), produto da combinação da citogenética com a biologia molecular, tem aumentado a resolução e aplicação da citogenética tradicional (PINKEL et al., 1986).

A técnica de FISH permite detectar seqüências de DNA em cromossomos metafásicos, ou em núcleos interfásicos. Esta técnica utiliza sondas de DNA que hibridam o cromossomo todo ou seqüências únicas de genes, atuando como adjuvante poderoso para a citogenética tradicional (LUKE et al., 1997).

A técnica consiste na hibridação de uma sonda marcada com corantes fluorescentes ou radioativos, para identificar o seu segmento complementar em cromossomos metafásicos ou núcleos interfásicos fixados em lâmina. O DNA é desnaturado na própria lâmina, daí a técnica ser denominada *in situ* e segue-se a hibridação com a sonda marcada. A visualização é feita em microscópio equipado com fluorescência.

Fluorescência é a técnica de análise microscópica, com coloração prévia pelo fluorocromo. Os fluorocromos, ao serem excitados por luz fluorescente, tornam-se brilhantes com possibilidade de visualização ao microscópico.

Uma das mais importantes contribuições da citogenética molecular para a genética clínica, tem sido a detecção de microdeleções e de cromossomos marcadores. O diagnóstico de uma síndrome que envolve microdeleção pode ser feito pela análise cromossômica por alta resolução, mas em muitos casos as microdeleções são tão pequenas que só podem ser detectadas pela técnica de FISH, que permite identificar deleções submicroscópicas, inferiores a 3 Mb (LEDBETTER et al., 1995).

Na década de 90 cresceu muito o interesse por esta categoria de doenças genéticas, direcionando as pesquisas para regiões críticas de possíveis microdeleções, que resultam em fenótipos complexos.

1.6 Microdeleções na Síndrome de Williams-Beuren

Após as publicações de EWART et al., (1993) e MORRIS et al., (1993), seguiram-se vários estudos utilizando a técnica de FISH para detectar a microdeleção na região 7q11.23 em indivíduos com diagnóstico clínico de SWB (KOTZOT et al., 1995; LOWERY et al., 1995; NICKERSON et al., 1995; PEREZ-JURADO et al., 1996; BRONDUM-NIELSEN et al., 1997).

A região comumente deletada na SWB, que se estende de D7S489 a D7S1870, foi definida pela genotipagem de indivíduos afetados por marcadores de microsatélite da região 7q11.23 (PEREZ-JURADO et al., 1996; WU et al., 1998).

Nesta região crítica, além da hemizigosidade do gene da elastina, vários outros genes foram identificados:

- ◆ LIM-quinase 1 (LIMK1): é o segundo gene mais frequentemente deletado nos pacientes com SWB. Seu produto gênico a tirosina quinase está implicada no crescimento de axônios (SCHMITT, 2001).
- ◆ FKBP6: gene que tem homologia com a proteína de ligação Fk-560 da classe das imunofilinas. Pode estar associado à hipercalcemia e atraso de crescimento na síndrome (MENG et al., 1998a).
- ◆ FZD9: gene que codifica um receptor trans-membrana humano homólogo ao gene receptor para a proteína wg (asa vestigial) da *Drosophila* (WANG et al., 1997).
- ◆ FZD3: gene envolvido no neurodesenvolvimento rostro-caudal e na diferenciação celular (SCHMITT, 2001).

- ◆ STX1A: gene da sintaxina 1A, envolvido na liberação de neurotransmissores nas vesículas sinápticas (OSBORNE et al., 1997; SCHMITT, 2001)
- ◆ CYLN2/CLIP-115: codifica uma proteína de ligação intracelular semelhante os transcritos parciais dos genes WSCR3 e WSCR4 (DE ZEEUW et al., 1997; HOOGENRAAD et al., 1998).
- ◆ WSCR1/EIF4H : fator de translação-iniciação semelhante ao transcrito parcial do gene WSCR1 (OSBORNE et al., 1996).
- ◆ GTF2I/BAP135/SPIN: codifica o fator de transcrição TFII-I/SPIN/BAP-135 (PEREZ-JURADO et al., 1998).
- ◆ RFC2: subunidade 2 do complexo fator de replicação C (OSBORNE et al., 1996; PEOPLES et al., 1998).
- ◆ BCL7B: seqüência relacionada ao gene identificado na linhagem celular do linfoma de Burkitt (JADAYEL et al., 1998; MENG et al., 1998b).
- ◆ TBL2/WS- β TRP: membro da família de genes β -transducina (MENG et al., 1998b; PEREZ-JURADO et al., 1999).
- ◆ WBSCR14/WB-bHLH: codifica o fator de transcrição da superfamília Myc/Max/Mad (MENG et al., 1998b).
- WBSCR9/WSTF: transcrito que codifica um coativador transcricional (LU et al., 1998; PEOPLES et al., 1998) .
- ◆ CPETR1: receptor de enterotoxina expresso no rim, pulmão, intestino e tireóide (SCHMITT, 2001).
- ◆ CPETR2: receptor de enterotoxina (PAPERNA et al., 1998).
- ◆ WBSCR11/GTF37GTF2IRD1 (OSBORNE et al., 1999).

O gene WBSCR14/WB-bHLH é considerado atualmente um dos genes críticos da SWB; ele codifica um polipeptídeo da subclasse de fatores de transcrição designada basic-helix-loop-helix leucine zipper (bHLHZip), que pertence à superfamília Myc/Max/Mad. Estes fatores de transcrição estão relacionados a várias funções das células eucarióticas como proliferação, crescimento, diferenciação e apoptose. Desse modo, o gene WBSCR14 pode estar envolvido no controle do crescimento (MENG et al., 1998b; DE LUIS et al., 2000).

Apesar dos progressos no conhecimento das funções básicas destes genes, a nível celular, o papel de cada um deles nas manifestações da SWB ainda não foi esclarecido e tem sido alvo de atenção dos pesquisadores que buscam estabelecer correlações genótipo-fenótipo.

A introdução da técnica de citogenética molecular (FISH) em nosso laboratório no ano de 1994 propiciou maior investimento no diagnóstico dos pacientes com microdeleções, difíceis de serem observadas com a técnica de alta resolução. Como havia vários pacientes em seguimento ambulatorial no Serviço de Aconselhamento Genético (SAG), com hipótese diagnóstica de SWB foi proposta esta pesquisa com o objetivo de confirmar o diagnóstico e colaborar no aconselhamento genético.

O aconselhamento genético implica em informação e orientação ao paciente e família, quanto à doença, seu prognóstico, risco de recorrência e especificamente para os pacientes com SWB oferecer a oportunidade de suporte multiprofissional visando melhor adaptação social e qualidade de vida.

2. OBJETIVOS

2.1 *Geral*

Caracterizar as crianças com SWB e investigar a microdeleção pela técnica de FISH, como subsídio ao melhor aconselhamento genético das famílias.

2.2 *Específicos:* nos pacientes com hipótese diagnóstica de SWB:

- ◆ Investigar a frequência da microdeleção 7q11.23.
- ◆ Relacionar o fenótipo com o genótipo.
- ◆ Avaliar a Sensibilidade (S) e Especificidade (E) dos principais sinais e sintomas nos pacientes com microdeleção.
- ◆ Classificar os pacientes conforme os escores de LOWERY e SUGAYAMA.
- ◆ Investigar a transmissão parental nos pacientes com microdeleção.

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1 *Tipo de Estudo*

Série de casos de crianças, encaminhadas e acompanhadas no Serviço de Aconselhamento Genético (SAG) do Departamento de Genética do Instituto de Biociências–UNESP-Botucatu–SP, com hipótese diagnóstica de síndrome de Williams-Beuren, no período de 1986 a 2002.

3.2 *Casuística*

Os pacientes foram recrutados a partir do livro de registro dos atendimentos ambulatoriais do SAG, sendo selecionados os casos com diagnóstico clínico de SWB. O médico geneticista do serviço convocou os pais ou responsáveis pelos pacientes selecionados e explicou a importância da nova técnica (FISH) para a confirmação do diagnóstico.

O projeto da pesquisa foi divulgado em congressos de genética, para que outros centros enviassem pacientes com suspeita diagnóstica de SWB, a fim de aumentar a amostra. Os centros de genética que participaram do estudo foram: Hospital de Base da Faculdade de Medicina de São José do Rio Preto –SP; Universidade Federal do Espírito Santo, Vitória–ES (UFES); Hospital Universitário de Brasília, DF (HUB) e Associação Brasileira de síndrome de Williams, São Paulo – SP.

Os geneticistas destes centros convocaram seus pacientes e os reavaliaram de acordo com nossa tabela de sinais e sintomas para SWB. Após os responsáveis pela criança terem sido esclarecidos sobre a pesquisa e assinarem o termo de consentimento, os pacientes foram fotografados e convidados a comparecer ao SAG – Botucatu para atendimento médico e realização do teste de FISH. Para os pacientes de outros estados, ou quando

não havia condição de encaminhamento do paciente, nos foi enviado amostra de sangue, fotos e todos os dados médicos disponíveis da criança.

Foram incluídos na amostra os pacientes que preencheram os seguintes critérios de inclusão:

- ◆ Obtenção do termo de consentimento livre e esclarecido.
- ◆ Avaliação da criança pelo médico geneticista do SAG ou obtenção de dados clínicos e de fotos suficientes para o preenchimento do protocolo de estudo.
- ◆ Presença de dois dos três sinais mais freqüentes associados a dois outros sinais menos freqüentes da SWB

Nos casos em que os responsáveis não enviaram o termo de consentimento assinado, os dados clínicos e/ou fotos eram insuficientes para o protocolo da pesquisa, os exames citogenéticos foram realizados e os resultados enviados aos médicos responsáveis, porém estes pacientes não fizeram parte do estudo.

Desta forma, dos 25 pacientes selecionados, 18 foram incluídos no estudo. Quando os pacientes apresentavam a microdeleção foram realizados exames citogenético e citogenético molecular dos pais.

3.3 Aspectos éticos

O projeto de pesquisa teve a aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) da Faculdade de Medicina de Botucatu-UNESP-SP (anexo 1).

Todos os responsáveis pelos pacientes foram informados dos objetivos do projeto e quando aceitavam participar do mesmo assinavam o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (anexo 2) em duas vias. Uma

via ficou com os responsáveis e a outra encontra-se no prontuário do paciente junto ao SAG.

Uma vez que as características faciais são componentes essenciais ao diagnóstico clínico, foi solicitada autorização dos responsáveis, para publicação das fotografias do paciente, sem a colocação de tarja preta sobre os olhos.

3.4. Avaliação clínica

A avaliação clínica dos pacientes foi realizada pelo médico geneticista do SAG com base na ficha de anamnese genético-clínica, à qual foi adicionada uma tabela com as principais características clínicas da Síndrome de Williams-Beuren (anexo 3) e para melhor documentação do caso, todos os pacientes foram fotografados (frente, perfil, membros superiores e inferiores). Os sinais e sintomas da SWB foram tabulados como presentes (+), ausentes (-) ou sem informação (X).

As medidas antropométricas obtidas dos pacientes na primeira consulta no SAG foram comparadas com as tabelas de peso e estatura do “National Center for Health Statistics” (2000), considerando-se como limite inferior da normalidade o percentil 5 e superior o percentil 95. As medidas de perímetro cefálico foram avaliadas conforme a curva de NELLHAUS (1968) e consideradas normais quando situadas entre os percentis 2 e 98.

Dentre os dados de nascimento foram investigados: a idade gestacional e a adequação do peso de nascimento para a idade gestacional. Definiu-se como prematuro quando a idade gestacional foi menor que 37 semanas, segundo critério da OMS. A adequação do peso de nascimento

para a idade gestacional baseou-se na tabela de ALEXANDER et al., (1996), tendo como limite mínimo da normalidade o percentil 10.

Aplicou-se o sistema de pontuação fenotípica de LOWERY et al. (1995), e de SUGAYAMA (2001) para verificar se havia discriminação entre os pacientes que apresentaram FISH com microdeleção e FISH sem microdeleção.

Para os sinais mais freqüentes na amostra estudada foram calculadas sensibilidade e especificidade, tendo como padrão ouro o teste de FISH com microdeleção.

Sensibilidade (S) é a proporção dos indivíduos afetados (FISH com microdeleção) que apresentam o sintoma. Calculada pela fórmula:

$S = VP / FISH+$ onde: VP = verdadeiros positivos FISH+ = com microdeleção

Especificidade (E) é a proporção de indivíduos sem a afecção (FISH sem microdeleção) que não apresentam o sintoma.

$E = VN / FISH-$ onde: VN = verdadeiros negativos FISH- = sem microdeleção

O laudo genético clínico acompanhado do aconselhamento genético, foram realizados pelo médico geneticista do SAG. Nos casos que apresentaram a microdeleção, foi colhido sangue dos pais e realizado novo aconselhamento.

3.5 *Análise Citogenética*

O estudo citogenético e citogenético–molecular foi realizado em cromossomos metafásicos e prometafásicos obtidos de cultura temporária

de linfócitos. Foram utilizadas técnicas como bandamento GTG, bandamento GTG em alta resolução e hibridação *in situ* por fluorescência (FISH). Todos esses exames foram realizados no laboratório de citogenética do SAG, pela autora da pesquisa.

3.5.1. Cultura temporária de linfócitos periféricos

As culturas de linfócitos de sangue periférico foram desenvolvidas segundo a técnica proposta por MOORHEAD et al. (1960) e a obtenção de cromossomos prometafásicos pela técnica descrita por YUNIS (1976), ambas modificadas.

Após assepsia da pele com álcool iodado, foram coletados 5ml de sangue venoso periférico, com seringa estéril descartável e previamente heparinizada (Liquemine Roche[®] 5000u/ml), que foi mantida em posição vertical, à temperatura ambiente, até que ocorresse a sedimentação. Após a sedimentação procedeu-se a suspensão da camada de linfócitos, que juntamente com o plasma (1ml) foram colocados em frascos de cultura contendo 4,5 ml de meio RPMI (CULTILAB[®]), suplementado com 20% de soro bovino fetal (GIBCO[®]), acrescido de 0,1 ml de fitohemaglutinina (DIFCO[®]) e 0,1ml de antibióticos penicilina/estreptomicina (GIBCO[®]) (concentração final dos antibióticos 1U/ml e 1µg/ml, respectivamente).

Em seguida os frascos de cultura foram mantidos em estufa a 37°C, durante 72 horas. Cada amostra sangüínea foi fracionada em, no mínimo 2 e no máximo 4 frascos de cultura, para possibilitar exame em duplicata, se necessário, garantindo o resultado da análise e evitando nova coleta de sangue.

Para obtenção de cromossomos metafásicos, após 71 horas de cultivo celular foi adicionado 0,1ml de colchicina (0.0016-SIGMA) a cada frasco, e estes foram mantidos em estufa a 37°C por mais 45 minutos. Após

esse período, os conteúdos dos frascos foram transferidos para tubos de centrífuga (15ml) e centrifugados a 1500 rpm por cinco minutos. A seguir foi feita a hipotonização do material acrescentando-se 5ml de solução hipotônica (KCl 0,075M) pré-aquecida a 37°C e após homogeneização, as culturas retornaram à estufa a 37°C por mais vinte minutos. Seguiu-se a fixação da cultura, acrescentando-se 1 ml de fixador (metanol/ácido acético 3:1) e o material foi submetido à centrifugação por 5 minutos a 1500 rpm. O processo de fixação e centrifugação foi repetido por mais duas ou três vezes, adicionando-se 5ml de fixador e o sobrenadante foi desprezado a cada operação.

O material, uma suspensão do *pellet* de linfócitos acrescido de 1ml de fixador, foi então gotejado em lâminas previamente lavadas e geladas. As lâminas foram secas ao ar e guardadas em freezer (-20° C), como também o material em suspensão para a análise de FISH.

Para obtenção de cromossomos prometáfásicos, após 71 horas de cultivo celular foi adicionado 0,1ml de actinomicina D (LAFEPE®). Os frascos foram envolvidos em papel alumínio (para evitar a fotodegradação do indutor) e retornaram à estufa a 37°C por trinta e nove minutos, quando então foi acrescido 0,1 ml de colchicina (solução uso 0.0016% - SIGMA) e encubados na estufa a 37°C por mais 6 minutos. As próximas etapas, até a obtenção do *pellet* de linfócitos, foram iguais ao referido na obtenção dos cromossomos metafásicos.

3.5.2 Coloração e bandamento

As metáfases e prometáfases obtidas pela técnica de cultura temporária de linfócitos foram submetidas às técnicas de bandamento GTG e FISH.

3.5.2.1. Bandamento G (GTG)

Para obtenção de banda G, foi utilizada a técnica modificada de SEABRIGHT (1971).

As lâminas foram imersas em solução de tripsina 0,025% (DIFCO[®]), diluída em tampão fosfato 0,06M com pH 6,8 em banho-maria a 37°C por 2 a 3 segundos. A seguir, foram lavadas com água destilada e coradas em solução de Giemsa 4% com tampão fosfato pH 6,8 por aproximadamente 2 minutos.

3.5.2.2. Hibridação *in situ* por fluorescência (FISH)

A técnica de hibridação *in situ* por fluorescência (FISH) para as sondas comerciais seguiu os padrões do protocolo que acompanham cada produto. Neste estudo foram utilizadas: sonda para microdeleção LSI (Identificação Específica do *Locus*) na síndrome de WILLIAMS-BEUREN (gene da elastina) com sonda controle para a região 7q31 da VYSIS[®] e sonda para a região da síndrome de Williams-Beuren (7q11.23) com sonda controle (centrômero 7) da CYTOCELL[®].

3.6 *Análise Citogenética*

As análises cromossômicas foram realizadas em, no mínimo, 11 prometáfases por bandamento GTG em alta resolução, para detectar alguma possível translocação ou outra anormalidade cromossômica. As prometáfases apresentaram nível de resolução de no mínimo 550 a 850 bandas. As análises foram realizadas em fotomicroscópio LEICA LEITZ DMRBE, no aumento de 1250X e fotografadas.

As análises da técnica de FISH também foram realizadas em fotomicroscópio de fluorescência LEICA LEITZ DMRBE. Em cada

paciente, foram analisadas cerca de 25 metáfases e pelo menos 5 delas foram fotografadas, tanto para o diagnóstico positivo ou negativo da microdeleção que envolve a região 7q11.23.

Uma vez que a sonda utilizada liga-se especificamente à região 7q11.23, o diagnóstico positivo é feito pela ausência da hibridação, ou seja, a região estaria deletada em um dos cromossomos homólogos e no outro apareceria o sinal fluorescente.

Para não haver dúvidas quanto à interpretação do resultado devido a erros técnicos, a sonda contém uma região controle (no caso da sonda VYSIS a região 7q3.1 e da sonda CYTOCELL a região centromérica), que aparece corada em verde. Desta forma, pacientes SWB sem a microdeleção apresentam os dois cromossomos 7 com dois sinais fluorescentes, sendo um verde e um rosa em cada um deles. Os portadores da SWB com microdeleção apresentam um cromossomo 7 com dois sinais fluorescentes um verde e um rosa enquanto o outro cromossomo 7 tem apenas o sinal verde fluorescente. A ausência do sinal rosa comprova a microdeleção da região 7q11.23.

O mesmo sistema de análise foi aplicado nos exames citogenéticos dos pais.

Fig. 02. Esquema mostrando as marcações de hibridação da região deletada e da região controle das sondas VYSIS[®] e CYTOCELL[®]

4. RESULTADOS

4.1 *Grupo amostral*

Para este estudo multicêntrico foram selecionadas 25 crianças das quais 18 foram incluídas e constituíram o grupo amostral. Os motivos para não inclusão de 7 pacientes foram: falta de dados clínicos e do termo de consentimento (2 casos), e 5 crianças não se enquadraram no critério diagnóstico de SWB proposto para o estudo. Dos dezoito pacientes estudados 10 (01, 02, 03, 04, 05, 06, 07, 16, 17, 18) eram crianças que estavam em seguimento no SAG para avaliação de possível síndrome genética, com hipótese diagnóstica de SWB e oito eram pacientes de outros serviços, sendo que em seis casos (08, 09, 10, 12, 13, 14) foi enviado amostra sanguínea mais dados clínicos acompanhados de fotos do paciente e dois pacientes (11, 15) vieram até o serviço.

4.2 *Avaliação genético-clínica*

As principais características da SWB evidenciadas nesta casuística, bem como as características descritas na literatura estão apresentadas na tabela 01. Os dados individuais, a documentação fotográfica dos pacientes e análises citogenéticas encontram-se no anexo 04.

A idade do início da investigação diagnóstica variou desde 1 ano e 4 meses até 12 anos e 6 meses (mediana de 5 anos e 9 meses). Apenas três pacientes iniciaram a investigação antes dos 3 anos, 6 iniciaram entre 4-6 anos e 9 pacientes tinham 7 anos ou mais no primeiro atendimento.

A média da idade materna foi 28,2 anos (17-38) e da idade paterna foi de 29,2 anos (24-35).

Em três pacientes não foi possível obter todos os dados de nascimento e dos primeiros anos de vida. Um deles era criado pelos avós e em dois casos os pais não se recordavam dos dados de nascimento de seus filhos.

Tabela 1 - Principais características da síndrome de Williams-Beuren da presente casuística – (Casos de 1 a 7)

	Casos						
	1	2	3	4	5	6	7
Características Gerais							
Sexo	M	F	F	F	F	M	M
Idade Gestacional (semanas)	39	39	34	39	39	39	39
Peso RN (percentil)	10	10	<10	<10	<10	<10	<10
Comprimento RN (percentil)	10	10	X	10	10	25	50
Idade ao 1º Atendimento	4a 7m	2a 10m	8a 6m	1a 4m	10a 6m	11a 2m	6a 10m
Motivo	SWB	SWB	CARDIOPATIA	ADNPM	SWB	ADNPM	SINDROME ?
Estatura (percentil)	<5	10-25	<5	<5	50-75	< 5	5-10
Peso (percentil)	X	50-75	<5	25	>95	10	10
P.C. (percentil)	25-50	25-50	<2	25-50	25-50	25-50	<2
Evolução							
Atraso DNPM / DM	+	+	+	+	+	+	+
Hipotonia	+	+	-	-	+	-	-
Sociabilidade Excessiva	+	+	+	+	+	-	+
Hiperatividade	+	-	+	-	+	+	+
Loquacidade	+	-	+	+	+	-	+
Voz grave	+	+	+	-	+	-	+
Deficiência de crescimento	+	-	+	+	-	+	-
Dificuldade Alimentar	+	+	+	-	+	+	-
Vômitos	-	-	+	-	+	-	-
Constipação Intestinal	+	+	+	+	+	+	+
Hérnia inguinal e/ou umbilical	-	+	+	-	+	+	+
Problemas cardíacos	+	-	+	+	-	-	-

Otites de Repetição	+	-	-	-	-	-	-	+
Problemas respiratórios	+	+	-	+	-	-	-	+
Problemas renais	+	-	-	+	-	-	-	-
Hipertensão arterial	+	-	-	-	-	-	-	-
Características físicas								
Microcefalia	-	-	+	-	-	-	-	+
Fronte Alargada	+	+	+	+	+	+	+	+
Orelhas grandes em ab	-	+	+	-	-	+	+	+
Edema periorbital	+	+	+	+	-	-	-	+
Estrabismo	-	-	+	-	+	-	-	+
Íris estrelada	+	-	-	-	-	-	-	+
Ponte nasal baixa	+	+	+	+	-	-	-	-
Filtro nasal longo	+	+	-	+	+	+	+	+
Boca de carpa	+	+	+	+	+	+	+	+
Lábio inferior grosso	+	+	+	+	+	+	+	+
Anomalias dentárias	+	+	+	+	-	-	-	+
Bochechas proeminentes	-	+	+	+	+	-	-	-
Micrognatismo	+	-	-	-	-	+	+	-
Clinodactilia de 5º dígito	+	+	+	+	+	+	+	+
Hálux valgo	+	-	-	-	+	-	-	-
Hipoplasia ungueal	-	+	-	-	-	-	-	+
Exames Laboratoriais								
Cariótipo em alta resolução	normal	46,XY,21ps+	46,XX	46,XX	46,XX	46,XX	46,XY	46,XY
Del 7q(11.23) (FISH)		+	+	+	+	+	+	+

Características físicas
SWB – Síndrome de Wernicke

Resultados 48

Presente (+)
Ausente (-)

Características Ausente (-)

ADNPM – Atraso no desenvolvimento neuropsicomotor

Sem Informação (X)

DM – Deficiência Mental

Tabela 1 (Cont.) - Principais características da síndrome de Williams-Beuren da presente casuística - (Casos de 8 a 14)

	Casos							
	8	9	10	11	12	13	14	
Características Gerais								
Sexo	M	F	M	M	F	F	F	
Idade Gestacional (semanas)	39	X	39	38	35	39	39	
Peso RN (percentil)	X	X	>10	>10	>10	<10	<10	
Comprimento RN (percentil)	X	X	X	<10	<10	X	10	
Idade ao 1º Atendimento	12a 6m	3a 10m	3a 5m	8a	2a 2m	10a 8m	6a 11m	
Motivo	ADNPM	ADNPM	DM	SWB	ADNPM	DM	SWB	
Estatura (percentil)	<5	25-50	<5	<5	<5	50-75	<5	
Peso (percentil)	<5	25-50	10-25	<5	<5	50-75	X	
P.C. (percentil)	<2	<2	<2	25-50	<2	>98	25-50	
Exatidão								
Atraso DNPM	+	+	+	+	+	+	+	
Hipotonia	+	+	-	+	-	-	-	
Sociabilidade Intensiva	-	+	+	+	+	+	+	
Hiperatividade	-	+	-	+	+	+	+	
Loquacidade	-	-	-	+	+	-	+	
Voz grave	-	-	-	+	+	-	-	
Deficiência de crescimento	+	-	+	+	+	-	+	
Dificuldade Alimentar	+	-	-	+	+	+	+	
Vômitos	-	-	-	-	+	+	X	
Constipação Intestinal	+	-	-	+	+	+	X	
Hérnia inguinal umbilical	+	-	-	+	-	+	-	
Problemas cardíacos	+	+	-	+	-	+	+	

Otites de Repetição	-	-	-	+	+	-	-
Problemas respiratórios	+	-	-	+	+	-	-
Problemas renais	-	-	-	-	+	-	-
Hipertensão arterial	-	-	-	-	-	-	-

Características Físicas

Microcefalia	+	+	+	-	+	-	-
Fronte Alargada	+	+	+	+	+	+	+
Orelhas grandes e abanadas	+	-	+	+	-	-	-
Edema periorbitário	+	+	+	+	+	+	+
Estrabismo	-	+	+	+	-	-	+
Íris estrelada	-	-	-	+	-	-	-
Ponte nasal baixa	+	+	+	+	-	+	+
Filtro nasal baixo	+	+	-	+	+	-	+
Boca de carpa	+	+	+	+	+	+	+
Lábio inferior espesso	+	+	+	+	+	+	+
Anomalias dentárias	+	-	+	+	+	+	-
Bochechas protuberantes	-	+	+	+	+	+	+
Micrognatismo	+	+	+	+	-	+	-
Clinodactilia do 5º dígito	-	+	-	+	+	+	+
Hálux valgo	-	-	-	-	-	-	-
Hipoplasia ulnar	-	-	-	-	-	-	-

Exames Laboratoriais

Cariótipo em resolução normal	46,XY,inv9	46,XX	46,XY	46,XY	46,XX	46,XX,21ps+	46,XX
Del 7q(11.23 H)	+	+	+	+	+	+	+

Características presentes (+)
SWB – Síndrome de Williams Beuren

Resultados 50

Características Ausente (-)
ADNPM – Atraso no desenvolvimento neuropsicomotor

Sem Informação (X)
DM – Deficiência Mental

Tabela 1 (Cont.) - Principais características da síndrome de Williams-Beuren da presente casuística - (Casos de 15 a 18). As frequências dos sinais dos 18 pacientes da presente casuística e dos casos descritos na literatura são mostrados nas duas últimas colunas da tabela.

	Casos				Frequência	
	15	16	17	18	AMOSTRA %	LITERATURA %
Características Gerais						
Sexo	F	F	M	F	1,57 F: 1M	
Idade Gestacional (semanas)	39	40	37	36	38,4	
Peso RN (percentil)	<10	>10	>10	>10	10 - 90 (n=08) < 10 (n=8)	
Comprimento RN (percentil)	<10	50	<10	25-50	10 - 50 (n=9) <10 (n=4)	
Idade ao 1º Atendimento	9a 6m	4a 7m	4a 6m	4a 9m	6,1	
Motivo	SWB	SWB	ADNPM	ADNPM		
Estatura (percentil)	50-75	25	10	50	5 - 75 (n=10) < 5 (n=7)	
Peso (percentil)	50-75	75-90	50	75	10 - 95 (n=11) < 5 (n=4)	
P.C. (percentil)	<2,0	25-50	50-75	<2,0	25 - 98 (n=10) < 2,0 (n=7)	
Evolução						
Atraso DNPM / DM	+	+	+	+	18/18	94 - 96
Hipotonia	+	-	+	-	08/17	41 - 80
Sociabilidade Excessiva	+	+	+	+	16/18	88 - 97
Hiperatividade	+	+	+	+	14/18	63 - 87
Inquietude	+	-	-	-	09/18	45 - 55
V	+	+	-	+	10/18	43 - 98
Deficiência de crescimento	-	-	-	-	09/18	31 - 70
Dificuldade Alimentar	+	+	-	-	12/17	70 - 71
Vômitos	+	+	-	-	06/17	25 - 85

Constipação Intestinal	+	+	+	-	14/17	18 - 85
Hérnia inguinal e/ou umbilical	+	+	+	-	11/18	14 - 38
Problemas cardíacos	+	-	-	-	09/18	25 - 80
Otitis de Repetição	-	-	-	-	04/18	38 - 61
Problemas respiratórios	-	-	+	+	09/18	X
Problemas renais	+	-	-	-	04/18	18 - 52
Hipertensão arterial	-	-	-	-	01/18	17

Características Físicas

Microcefalia	+	-	-	+	07/18	16 - 67
Fronte alargada	+	+	+	+	18/18	33 - 100
Orelhas grandes e arredondadas	-	-	+	-	08/18	X
Edema periorbitário	+	+	+	+	16/18	56 - 92
Estrabismo	+	-	+	-	09/18	29 - 74
Íris estrelada	-	-	-	-	03/18	12 - 74
Ponte nasal estreita	+	+	+	+	14/18	56 - 100
Filtro nasal	+	-	+	-	13/18	56 - 96
Boca de caracol	+	+	+	+	18/18	89 - 100
Lábio inferior espesso	+	+	+	+	18/18	43 - 100
Anomalias dentárias	+	-	+	+	12/18	52 - 85
Bochechas salientes	+	+	+	+	13/18	31 - 100
Micrognatismo	-	+	+	-	08/18	50 - 100
Clinodactilia do 5º dígito	+	-	-	-	13/17	12 - 90
Halux valgus	-	-	-	-	12/16	78
Hipoplasia da 1ª falange do 1º dedo	-	-	-	-	01/18	29 - 67

Exames Laboratoriais

Cariótipo e resolução normal	46,XX	46,XX	46,XY	46,XY	---	
Del 7q(11.2 SH)	+	-	-	-	15/18	80 - 96

Características presentes (+) Características Ausentes (-) Sem Informação (X)
 SWB – Síndrome de Williams-Beuren ADNPM – Atraso no desenvolvimento neuropsicomotor DM – Deficiência Mental
 Adaptado de Jones, KL, 1975; Hagerman RJ, 1999; Lashkan, A, 1999 e Sugayama, SMM (2001).

4.3 *Análise citogenética*

Dos dezoito pacientes estudados quinze apresentaram a microdeleção da região 7q11.23 pela citogenética molecular (FISH), correspondendo a 83% de frequência de microdeleção nesta amostra.

Em bandamento GTG por alta resolução, os cariótipos de todos os pacientes foram normais. Os pacientes 01 e 13 apresentaram cariótipo com o cromossomo 21p+, isto é, o cromossomo 21 apresentou satélite aumentado (+) no braço curto (p), o que é uma variante normal da população, sem expressividade clínica. O paciente 08 apresentou cariótipo com inversão pericêntrica no cromossomo 9 (inv. 9), também considerada variante normal da população sem significado clínico.

Os cariótipos dos pais dos pacientes que apresentaram a microdeleção foram normais tanto em bandamento GTG por alta resolução como em citogenética molecular.

4.4 *Comparação das características clínicas dos pacientes com e sem microdeleção*

Nas tabelas 02, 03 e 04 encontram-se as principais características clínicas e laboratoriais da SWB subdivididas em dois grupos: os pacientes com microdeleção e os sem microdeleção. Nas tabelas 03 e 04 também consta a frequência destas características em 12 estudos da literatura que foram incluídos na metanálise realizada por SUGAYAMA em 2001, perfazendo um total de 313 casos descritos.

A idade média materna foi de 27.7 anos (17-38) entre os pacientes com microdeleção, e 30.3 anos (26-34) naqueles sem microdeleção. As médias de idade paterna foram de 28.9 anos (23-35) e 30.3 anos (24-34) nos pacientes com e sem microdeleção respectivamente.

A maioria dos pacientes com microdeleção (8/13) nasceu com peso abaixo do percentil 10, ou seja, foram pequenos para a idade gestacional, enquanto que os 3 pacientes sem microdeleção tiveram peso adequado para a idade gestacional.

A idade no primeiro atendimento dos pacientes com microdeleção variou de 16 meses até 12 anos e 6 meses (mediana de 6 anos e 11 meses). Nos pacientes sem microdeleção foi de 4 anos e 6 meses. Nesta época sete pacientes com microdeleção tinham estatura abaixo do percentil 5, quatro estavam com peso abaixo do percentil 5 e seis tinham perímetro cefálico abaixo do percentil 2. Os pacientes sem microdeleção apresentaram peso e estatura dentro da normalidade e um deles tinha microcefalia (perímetro cefálico abaixo do percentil 2).

Os dados das tabelas 3 e 4 mostram que: as características deficiência mental, atraso DNPM, fronte alargada, boca de carpa e lábio inferior grosso foram evidenciadas em todos os pacientes, com e sem microdeleção.

Peso de nascimento pequeno para a idade gestacional, baixo crescimento, loquacidade, problemas cardíacos, problemas renais, otites de repetição, íris estrelada, clinodactilia de 5º dígito e hálux valgo foram características presentes apenas nos pacientes com microdeleção.

A frequência de: atraso DNPM, sociabilidade excessiva, hiperatividade, loquacidade, baixo crescimento, dificuldade alimentar, hérnia umbilical e/ou inguinal, problemas cardíacos, otites de repetição, microcefalia, fronte alargada, edema periorbital, estrabismo, boca de carpa, lábio inferior grosso e anomalias dentárias em nossos pacientes com microdeleção foram concordantes com a literatura.

Orelhas grandes em abano e problemas respiratórios foram características observadas nesta série de casos, nos pacientes com e sem

microdeleção, embora não sejam descritas nos pacientes com SWB da literatura.

Tabela 2 - Características das crianças com síndrome de Williams-Beuren com e sem microdeleção.

	Crianças	
	com deleção n = 15	sem deleção n = 03
Características Gerais		
Sexo	6M : 9F	1M : 2F
Idade gestacional média (semanas)	38,6	37,6
Peso de nascimento < P10	8	0
Comprimento ao nascimento < P10	3	1
Idade a 1ª Consulta	6,4	4,6
Estatura < P5	7	0
Peso < P5	4	0
P.C. < P2	6	1

Tabela 3. – Frequências dos sinais e sintomas da síndrome de Williams-Beuren com e sem microdeleção nesta amostra e na literatura.

	Frequência			
	AMOSTRA	LITERATURA	AMOSTRA	LITERATURA
	com deleção n = 15	% n=313	sem deleção n = 03	% n = 313
Atraso DNPM / DM	15/15	93% (203)	3/3	76% (n=55)
Hipotonia	7/15	72% (n=39)	1/3	57% (n=7)
Sociabilidade excessiva	13/15	83% (n=78)	3/3	35% (n=75)
Hiperatividade	11/15	75% (n=36)	3/3	44% (n=9)
Loquacidade	9/15	54% (n=23)	0/3	14% (n=7)
Voz grave	8/15	74% (n=98)	2/3	26% (n=74)
Deficiência de crescimento	7/14	53% (n=21)	0/3	85% (n=7)
Dificuldade Alimentar	11/13	73% (n=78)	1/3	23% (n=51)
Vômitos	5/14	73% (n=97)	1/3	23% (n=83)
Constipação Intestinal	12/14	57% (n=46)	2/3	24% (n=34)
Hérnia inguinal e/ou umbilical	9/15	34% (n=164)	2/3	18% (n=11)
Problemas cardíacos / EASV	6/15	60% (n=275)	0/3	10% (n=101)
Problemas cardíacos / não EASV	3/15	43% (n=23)	0/3	32% (n=28)
Otites de Repetição	4/14	29% (n=17)	0/3	0% (n=3)
Problemas respiratórios	7/15	---	2/3	---
Problemas renais	4/15	18% (n=76)	0/3	08% (n=13)
Hipertensão arterial	1/15	13% (n=113)	0/3	0% (n=42)

Metanálise de 12 estudos em 313 casos. Modificado de Sugayama, MM, 2001.

Tabela 4.- Características físicas da síndrome de Williams-Beuren com e sem microdeleção nesta amostra e na literatura.

	Frequência			
	AMOSTRA	LITERATURA	AMOSTRA	LITERATURA
	com deleção n = 15	% n=313	sem deleção n = 03	% n = 313
Microcefalia	6/15	45% (n=60)	1/3	38% (n=39)
Fronte Alargada	15/15	93% (n=228)	3/3	38% (n=45)
Orelhas grandes em abano	7/15	---	1/3	---
Edema periorbital	13/15	93% (n=245)	3/3	36% (n=53)
Estrabismo	8/15	51% (n=61)	1/3	07% (n=14)
Íris estrelada	3/15	39% (n=57)	0/3	23% (n=13)
Ponte nasal baixa	11/15	91% (n=160)	3/3	90% (n=20)
Filtro nasal longo	12/15	91% (n=237)	1/3	36% (n=47)
Boca de carpa	15/15	93% (n=256)	3/3	40% (n=55)
Lábio inferior grosso	15/15	94% (n=227)	3/3	42% (n=40)
Anomalias dentárias	10/15	64% (n=78)	2/3	32% (n=50)
Bochechas proeminentes	10/15	87% (n=259)	3/3	44% (n=54)
Micrognatismo	6/15	89% (n=88)	2/3	43% (n=21)
Clinodactilia de 5º dígito	13/14	56% (n=39)	0/3	43% (n=7)
Hálux valgo	2/13	100% (n=17)	0/3	100% (n=3)
Hipoplasia unguial	1/15	43% (n=51)	0/3	0% (n=11)

Metanálise de 12 estudos em 313 casos. Modificado de Sugayama, SMM, 2001.

Para melhor entendimento do significado da presença ou ausência dos sinais e sintomas nesta amostra foram calculadas a Sensibilidade (S) e Especificidade (E) dos mais freqüentes tendo como padrão ouro FISH com microdeleção.

Tabela 5 - Sensibilidade e Especificidade dos sinais e sintomas na SWB com microdeleção.

Características	Sensibilidade	Especificidade
Deficiência mental	100%	0%
Atraso DNPM	100%	0%
Fronte alargada	100%	0%
Boca de carpa	100%	0%
Lábio inferior grosso	100%	0%
Clinodactilia de 5º dígito	93%	100%
Sociabilidade	87%	0%
Edema periorbital	87%	0%
Constipação intestinal	86%	33%
Dificuldade alimentar	85%	67%
Filtro nasal longo	80%	67%
Ponte nasal baixa	73%	0%
Hiperatividade	73%	0%
Anomalias dentárias	67%	33%
Bochechas proeminentes	67%	0%
Loquacidade	60%	100%
Hérnias	60%	33%
Voz grave	53%	33%
Estrabismo	53%	67%
Deficiência de crescimento	50%	100%
Orelha em abano	47%	67%
Problemas respiratórios	47%	33%
Hipotonia	47%	67%
Peso baixo ao nascimento	44%	100%
EASV	40%	100%
Micrognatia	40%	33%
Microcefalia	40%	67%
Vômitos	36%	67%
Problemas renais	27%	100%
Otite de repetição	29%	100%
Cardiopatia não EASV	20%	100%
Íris estrelada	20%	100%
Hálux valgo	15%	100%
Hipoplasia ungueal	7%	100%
Hipertensão arterial	7%	100%

A tabela 6 mostra a pontuação obtida por nossos pacientes no escore proposto por LOWERY et al., (1995). Os valores obtidos nos 15 pacientes com microdeleção variaram de 4 a 7 pontos, com média 6. Os pacientes sem microdeleção obtiveram 4 a 5 pontos com média 5. O anexo 5 apresenta a pontuação individual dos pacientes.

Tabela 6 - Classificação dos pacientes com e sem microdeleção, conforme o escore proposto por LOWERY et. al., (1995)

<i>Característica</i>	<i>FISH com microdeleção</i>	<i>FISH sem microdeleção</i>
Fácies típico	15/15	3/3
DM/ atraso DNPM	15/15	3/3
EASV	6/15	0/3
Cardiopatia não EASV	3/15	0/3
Hérnia inguinal	9/15	2/3
Hipercalcemia	0/0	0/0
Média de pontuação	6	5

Na tabela 7 observa-se a pontuação obtida pelos pacientes do presente estudo conforme o escore de SUGAYAMA, (2001).

Os valores obtidos nos 15 pacientes com microdeleção variaram de 14 a 25 pontos, com média de 20,2 e desvio padrão de 3,7. Os pacientes sem microdeleção obtiveram de 11 a 17 pontos com média de 14,7 e desvio-padrão de 3,2. A pontuação individual dos pacientes encontra-se no anexo 6.

Tabela 7 - Classificação dos pacientes com e sem microdeleção, conforme o escore de SUGAYAMA, (2001).

FISH com microdeleção (n=15) escore	FISH sem microdeleção (n=3) escore
20	17
18	16
25	11
24	
22	
18	
20	
16	
14	
14	
23	
18	
23	
23	
25	
X= 20,2	X=14,7
S= 3,7	S= 3,2

5 DISCUSSÃO

O estudo de série de casos é válido e importante quando se trata de doenças raras.

A SWB é uma afecção genética rara com expressão fenotípica muito variada, e que envolve uma microdeleção comprometendo vários genes contíguos, dentre os quais o da elastina, que tem implicação claramente reconhecida em algumas características fenotípicas (LOWERY et al., 1995). Assim, foi proposto este estudo de uma série de casos de crianças com SWB avaliadas por citogenética molecular (FISH), com a intenção de trazer subsídios aos pediatras e geneticistas.

Os 18 pacientes incluídos no estudo foram na sua maioria (10 casos), oriundos da casuística do SAG. Uma vez que o paciente mais antigo registrado neste serviço e incluso no estudo (caso 7) teve sua primeira avaliação realizada em 1986, os 10 casos representariam 1 caso a cada dois anos, em média.

Cabe aqui ressaltar que todos os dados clínicos foram compilados pelo autor, quer das fichas de anamnese preenchidas pelos geneticistas clínicos, quer da literatura. Em nenhum momento o autor deste trabalho avaliou ou obteve dados clínicos de forma diferente.

As médias da idade materna (28 anos) e da idade paterna (30 anos) em nossa amostra enquadram-se dentro do perfil reprodutivo esperado na população normal e são semelhantes às referidas em outros estudos sobre SWB (KOTZOT et al., 1995; SUGAYAMA, 2001).

Para a análise das principais características da SWB na presente casuística, não foram utilizados cálculos estatísticos, devido ao pequeno número amostral. Desta forma a comparação com os dados da literatura torna-se muito importante.

A proporção sexual nesta amostra (1,57F:1M) diferiu um pouco da esperada (1:1), mas isto pode ser devido ao tamanho amostral.

A maioria das crianças teve idade gestacional dentro do esperado (37 a 41 semanas) e apenas 3 nasceram de pré-termo, o que é compatível com o estudo de ELÇIOGLU et al. (1998), que encontrou 3 prematuros entre 16 pacientes com SWB.

Dentre os antecedentes neonatais, o que mais chamou a atenção nesta amostra foi o peso de nascimento, observando-se elevada frequência de recém-nascidos pequenos para a idade gestacional (50% dos casos), embora o comprimento ao nascer tenha sido normal na maioria. O baixo peso ao nascimento é uma característica da SWB destacada por vários autores, entretanto vale lembrar que existem muitas outras causas mais frequentes de restrição de crescimento intra-uterino do que a SWB e como no período neonatal as manifestações da SWB não são evidentes, a suspeita diagnóstica é mais tardia e este dado pode perder consistência por depender de lembrança da mãe.

O padrão de crescimento na SWB pode estar comprometido já intra-útero manifestando-se com baixo peso ao nascimento em 25-70% dos pacientes. A evolução pondero-estatural nos primeiros anos de vida é inadequada, sendo que a curva de peso e estatura das crianças com SWB é nitidamente desviada abaixo das curvas de referência, desde o nascimento até a idade adulta (AAP, 2001). Este crescimento inadequado está relacionado às dificuldades alimentares e outros problemas do trato gastrointestinal como cólicas, vômitos e constipação que são frequentes nesta síndrome (MORRIS et al., 1988; PANKAU et al., 1992; LASHKARI et al., 1999).

Microcefalia foi frequente nesta amostra pois 7 pacientes apresentaram perímetro cefálico abaixo do percentil 2 na curva de NELLHAUS, (1986). Em um amplo estudo envolvendo 151 crianças com

SWB PANKAU et al., (1994) obtiveram resultados diferentes com presença de microcefalia em somente um terço dos pacientes, não sendo este sinal considerado obrigatório nos pacientes com SWB.

Nossos pacientes demoraram para iniciar a investigação diagnóstica, com mediana de idade no primeiro atendimento de 5,8 anos, mas este dado é compatível com os obtidos por vários autores como MORRIS, et al., (1988) que em 109 pacientes com SWB, encontraram uma média de 6,4 anos. No início da investigação, e também no estudo de SUGAYAMA (2001) a idade mediana no primeiro atendimento foi de 5,9 anos.

Um achado preocupante em nossa casuística foi que 50% dos pacientes iniciaram a investigação somente aos 7 anos ou mais, apesar da maioria deles terem como motivo da investigação o atraso no desenvolvimento neuropsicomotor e dificuldade de aprendizado.

É classicamente referido na literatura a dificuldade no diagnóstico precoce na SWB, devido à sua manifestação progressiva e assim, as características específicas dificilmente são reconhecidas nos primeiros meses de vida, principalmente se o paciente não apresentar EASV ou HII que são características típicas da síndrome. Segundo MORRIS et al., (1988), a maioria dos pacientes com SWB apresentam características craniofaciais distinguíveis ao redor de 4 meses, e fácies típico aos 18 meses.

Outros sinais da SWB como cólicas, dificuldade de alimentação e vômitos são queixas comuns nos consultórios pediátricos e portanto não orientam o diagnóstico se não houver outros sinais e sintomas associados que sugiram a hipótese de SWB (LOPEZ-RANGEL et al., 1992).

Os pacientes de número 07 e 10 na presente casuística são demonstrativos das dificuldades no diagnóstico clínico. O caso 07 atendido pela primeira vez no SAG em 1986, com 6 anos e 10 meses de idade, só teve o seu diagnóstico confirmado em 2001, aos 20 anos de idade. Ao comparar as

fotos do paciente com 6 anos e com 20 anos observa-se que o rosto tornou-se mais alongado com proeminência das cristas supra orbitarias, lábios mais grossos principalmente o inferior e a pele tornou-se enrugada, o que é típico em adultos com SWB (PAGON et al., 1987; MORRIS et al., 1990). Todas essas alterações são decorrentes da deficiência de elastina (EWART et al., 1993).

O paciente número 10 foi atendido pela primeira vez em ambulatório de genética com 3 anos e 5 meses, e não teve confirmação diagnóstica. Este paciente retornou ao ambulatório somente aos 12 anos de idade, para investigação de deficiência mental, e problemas de aprendizagem, quando foi confirmado o diagnóstico de SWB.

Quanto aos exames laboratoriais a citogenética por bandamento GTG em alta resolução apresentou resultados normais em todos os pacientes, desta amostra. Não foi detectado qualquer rearranjo envolvendo o cromossomo 7 ou a região 7q11.23, como tem sido relatado na maioria dos trabalhos da literatura (BORG et al., 1995; JOYCE et al., 1996; BRONDUM-NIELSEN et al., 1997; SUGAYAMA, 2001).

A importância da técnica de FISH no diagnóstico da SWB, confirmando a microdeleção foi destacada no trabalho de LOWERY, et al., (1995), um dos clássicos da literatura. Os autores estudaram 235 pacientes subdivididos em 4 grupos. O primeiro grupo consistiu em 114 afetados com quadro clínico típico da SWB; o segundo de 39 pacientes atípicos; e terceiro grupo foi composto por 42 pacientes sem informações clínicas e o quarto grupo com 25 pacientes que tinham apenas suspeita citogenética. A microdeleção foi observada em 96% (110/114) dos pacientes com fenótipo clássico da SWB, 8% (3/39) dos pacientes com quadro atípico, 60% (25/42) dos que não tinham informação clínica e 38% (15/25) dos pacientes com suspeita citogenética.

A análise citogenética molecular (FISH) mostrou-se eficiente na confirmação da microdeleção 7q11.23 em 83% dos pacientes com hipótese diagnóstica de SWB, da presente casuística. Resultados semelhantes foram obtidos por BORG et al. (1995), que encontraram 80% (8/10); ELÇIOGLU et al. (1998), 80% (14/16) e SUGAYAMA (2001), 85% (17/20).

Em três pacientes da nossa amostra não foi detectada a deleção do gene da elastina. Os pacientes apresentavam SWB clássica com dismorfismos faciais e deficiência mental. Estes pacientes sugerem que, embora a deleção do gene da elastina seja responsável pelas doenças cardiovasculares, este não é responsável pelas outras características da SWB e outros genes devem contribuir para o fenótipo (NICKERSON et al., 1995).

As análises cariotípicas dos pais dos pacientes com microdeleção foram normais em citogenética de alta resolução e citogenética molecular (FISH). Assim foi documentado que todos os 15 casos com microdeleção foram esporádicos, ou seja, não ocorreram por herança transmitida, caracterizando a microdeleção *de novo*. Este resultado permitiu o aconselhamento genético dos pais ou responsáveis, com base no risco de recorrência de 1:20.000, ou seja, risco desprezível de repetição da SWB em prole futura do casal.

Os sinais e sintomas clínicos mais frequentes na SWB incluem deficiência mental, características comportamentais distintas, fâcies típica, estenose aórtica supra-avalvular, hipercalcemia e dificuldade de aprendizagem (LASHKARI et al., 1999; AAP 2001). As características comportamentais envolvidas refere-se a personalidade extremamente sociável, a loquacidade, amabilidade e extroversão. Também existe na SWB manifestação fonoaudiológica referente a alteração na fala com presença de disfonia, voz rouca e áspera (GOSCH et al., 1994a e GOSCH et al., 1994b).

No geral, as características dos nossos pacientes enquadraram-se bem na expectativa referida na literatura.

A alta incidência das características faciais anormais como edema periorbital, ponte nasal baixa, filtro nasal longo, boca de carpa, lábio inferior grosso, bochechas proeminentes da nossa amostra fizeram desta combinação o quesito mais importante para o diagnóstico clínico.

A deficiência mental está presente em todos os pacientes. O quociente de inteligência (QI) varia de 41 a 80% (JONES & SMITH, 1975). Algumas crianças são mais afetadas que outras, mas a maioria encontra-se na faixa de deficiência leve a moderada (JONES & SMITH, 1975; UDWIN et al., 1996; MORRIS et al., 1998).

A deficiência mental foi caracterizada em nossos pacientes embora não avaliadas por testes de QI, pois todos apresentavam dificuldade de aprendizagem e freqüentavam escolas especiais.

A hipercalcemia infantil transitória, é uma alteração pouco avaliada no primeiro ano de vida, porque as principais manifestações consistem em crescimento inadequado, vômitos persistentes, irritabilidade, cólicas, constipação intestinal que são problemas comuns no primeiro ano de vida (MORRIS et al., 1988; MARTIN et al., 1984). Assim a freqüência deste sinal na SWB é discrepante na literatura. Um único paciente da presente casuística teve o cálcio dosado no primeiro ano de vida, e apresentou valor 11,2 caracterizando hipercalcemia. Os demais pacientes realizaram dosagem de cálcio em idades avançadas, quando a hipercalcemia não é mais detectada.

A análise citogenética molecular FISH permitiu dividir os pacientes com o diagnóstico de SWB em dois grupos, com e sem microdeleção, nos quais, procuramos relacionar o fenótipo com o genótipo. Esta comparação teve por meta investigar quais as características fenotípicas que poderiam discriminar os pacientes com e sem microdeleção e assim orientar na realização do FISH.

Uma vez que a sonda utilizada na análise citogenética FISH é um fragmento de DNA do gene ELN e que a deleção deste gene é responsável, pelas anormalidades cardíacas, como EASV e estenose artéria pulmonar (EAP) a expectativa é que pacientes com SWB sem microdeleção, não apresentem tal anormalidade. Ao analisarmos a tabela 2 verificamos que nenhum dos nossos pacientes sem microdeleção apresentavam problemas cardíacos, semelhante ao ocorrido na casuística de SUGAYAMA, (2001), onde os três pacientes sem microdeleção também não apresentaram problemas cardíacos.

Na metanálise realizada por SUGAYAMA, (2001) com 10 estudos envolvendo 101 pacientes sem microdeleção a EASV esteve presente em apenas 10% deles, e entre 275 pacientes com microdeleção 60% apresentaram EASV (com variação de 32-81%), sendo que em 7 estudos não foi detectada EASV nos pacientes sem microdeleção. Outra cardiopatia que não EASV foi avaliada em 6 estudos envolvendo 28 pacientes sem microdeleção e detectada em 32% dos pacientes, enquanto que nos 231 pacientes com microdeleção ocorreu em 43%, variando de 18% até 51%. A variabilidade deste problema na literatura provavelmente se deve a diferenças metodológicas no diagnóstico e também diferenças na casuística dos estudos.

Em nosso estudo 9 dos 15 pacientes com microdeleção apresentaram problemas cardíacos e dentre estes 6 eram portadores de EASV. Os outros 3 pacientes apresentaram: coarctação da aorta (1 caso), e dois pacientes com sopro cardíaco, mas não nos foi relatado o tipo de lesão. Dois pacientes apresentaram a EASV associados a outras anomalias cardíacas como EAP e prolápio da valva mitral.

Na SWB a voz grave é uma característica atribuída à deficiência da elastina, uma vez que esta proteína é componente importante da lâmina própria das cordas vocais (HAMMOND et al., 1998). Assim, deve predominar

nos pacientes com microdeleção o que foi confirmado na metanálise de 6 estudos que mostrou 26% de frequência em 74 pacientes sem microdeleção e 74% nos pacientes com microdeleção sendo que em dois estudos a alteração da voz ocorreu apenas nos pacientes com microdeleção (BORG et al., 1995; SUGAYAMA, 2001).

Na nossa amostra a voz grave foi característica freqüente nos pacientes com microdeleção (8/15) como nos sem microdeleção (2/3). Essa discreta diferença entre nossa amostra e a da literatura pode ser devido ao fato que a alteração da voz é um problema fonoaudiológico, muitas vezes não valorizada pelos médicos.

ELÇIOGLU et al., 1998 propuseram que as hérnias inguinal e umbilical também poderiam ser explicadas pela haploinsuficiência da elastina. Na literatura observa-se que a frequência de hérnias inguinal e umbilical não é elevada, variando em torno de 18% nos pacientes sem microdeleção e 34% nos com microdeleção. Em alguns estudos as hérnias só foram observadas nos pacientes com microdeleção (BORG et al., 1995; BREWER et al., 1996 e ELÇIOGLU et al., 1998).

Em nossa casuística as frequências de hérnias inguinais e ou umbilical foram superiores às encontradas na literatura, acometendo mais de 50% dos pacientes com e sem microdeleção.

Algumas características faciais que também podem estar relacionadas com a deficiência da elastina como edema periorbital, bochechas proeminentes e lábios inferior grosso, são referidas com elevada frequência (87 a 94%) nos pacientes com microdeleção e são menos freqüentes nos pacientes sem microdeleção (36%-44%) SUGAYAMA (2001). Em nossa casuística estas características estiveram presentes em quase todos os pacientes com e sem microdeleção.

A loquacidade é uma habilidade verbal do portador da SWB que sugere um desenvolvimento intelectual melhor do que ele realmente apresenta. A loquacidade tem sido freqüente em mais de 50% dos pacientes com microdeleção sendo rara ou ausente nos pacientes sem microdeleção (KOTZOT et al., 1995; SUGAYAMA, 2001).

Em nossa amostra a loquacidade foi observada em 9 dos 15 pacientes com microdeleção e não ocorreu nos pacientes sem microdeleção. A loquacidade é uma das características marcantes dos pacientes com SWB, o que os difere das demais síndromes como o caso da síndrome de Down, que acomete a linguagem e os pacientes com síndrome de Angelman que não falam ou falam poucas palavras (VALADARES et al., 1988).

Uma das mais intrigantes características da SWB é a sociabilidade excessiva com estranhos, o que é freqüente nos pacientes com microdeleção, atingindo o percentual de 83%, enquanto que apenas 35% dos pacientes sem microdeleção apresentavam esta característica (SUGAYAMA, 2001). Em nossa casuística a maioria dos pacientes eram excessivamente sociáveis tanto os com microdeleção (13/15) e sem microdeleção (3/3).

Outra alteração de comportamento freqüente na SWB com e sem microdeleção é a hiperatividade que tem sido observada em 44% a 75% dos pacientes (KOTZOT et al., 1995; SUGAYAMA, 2001). Em nossa amostra esteve presente em 11/15 dos pacientes com microdeleção e nos três pacientes sem microdeleção. Assim, pode-se dizer que nossa amostra mostrou-se compatível com a literatura quanto às características de sociabilidade excessiva.

Os pacientes portadores da SWB geralmente nascem com baixo peso e evoluem com deficiência de crescimento (MORRIS et al. 1988).

MORRIS et al. (1988) verificaram que as crianças com SWB freqüentemente evoluíam com estatura abaixo do percentil 5 da curva de crescimento até os 4 anos de idade, seguida de recuperação na fase pré-

escolar. A maioria dos pacientes quando chegam a fase adulta atingem a estatura média de 159 cm para homens e 147cm para mulheres (MARTIN et al., 1984).

A baixa estatura foi observada em metade dos nossos pacientes com microdeleção, e não ocorreu nos pacientes sem microdeleção.

As anomalias renais na SWB são relativamente raras, com frequência que varia de 6 a 50% nos pacientes com microdeleção, enquanto que nos sem microdeleção a maioria dos autores não encontrou anomalias renais (BORG et al.,1995; BREWER et al., 1996; SUGAYAMA, 2001). Os resultados de nosso estudo corroboraram a expectativa da literatura pois encontramos anomalias renais apenas nos pacientes com microdeleção (4/15).

Na SWB a hipertensão arterial é rara nas crianças com microdeleção (3 a 20%) e ausente nos pacientes sem microdeleção, entretanto a ocorrência deste problema parece aumentar com a idade, atingindo até 63% dos pacientes maiores que 18 anos (MARTIN et al., 1984; NICKERSON et al., 1995; WESSEL et al., 1997; BEUST et al., 2000). Em nossa amostra apenas uma criança com 4 anos e 7 meses apresentou hipertensão arterial.

As alterações oculares como estrabismo são mais frequentes nos pacientes com microdeleção variando de 29 a 68% e são raras ou ausentes nos pacientes sem microdeleção (KOTZOT et al., 1995, ELÇIOGLU et al., 1998). A frequência desta alteração em nossa amostra foi compatível com a literatura ocorrendo 8 dos 15 pacientes com microdeleção e em 1 paciente sem microdeleção. A íris estrelada é outra alteração que chama a atenção nos pacientes com SWB (14 a 75%) e geralmente esta ausente nos pacientes sem microdeleção (BORG et al., 1995; ELÇIOGLU et al., 1998). Observada em nossa amostra em apenas 3 dos 15 pacientes com microdeleção e ausente nos pacientes sem microdeleção. Considerada um sinal típico da SWB foi pouco

freqüente na nossa amostra, sendo que talvez possa ser devido à dificuldade no diagnóstico clínico e/ou limitada investigação oftalmológica.

Anomalias dentárias são freqüentes nos pacientes com SWB, principalmente nos com microdeleção (21 a 100%) (ELÇIOGLU et al., 1998; SUGAYAMA, 2001). Compatível com a literatura, na nossa casuística esteve presente na maioria dos pacientes com microdeleção (10/15) e sem microdeleção (2/3), sendo representada principalmente por má-oclusão de arcada dentária.

A clinodactilia de 5º dígito tem freqüência bastante variável nos pacientes com e sem microdeleção (ELÇIOGLU et al., 1998; SUGAYAMA, 2001). Esta característica chamou atenção na nossa amostra pois esteve presente em 13 de 14 pacientes com microdeleção e ausente nos pacientes sem microdeleção.

A hipoplasia ungueal é descrita apenas nos pacientes com microdeleção e com freqüência variável na literatura (SUGAYAMA, 2001). Esta alteração foi rara na nossa amostra observada em apenas 1 paciente com microdeleção.

Hálux valgo é uma característica descrita apenas nos 20 pacientes estudados por SUGAYAMA (2001), os quais todos apresentavam esta alteração. Em nossa amostra apenas dois pacientes com microdeleção apresentaram hálux valgo.

Cabe aqui ressaltar que orelha em abano foi uma característica observada em 8 dos 18 pacientes de nosso estudo e um dado não referido na literatura. Orelhas em abano é um sinal presente em várias síndromes, mas aqui chamou a atenção, já que os pacientes portadores da SWB são comparados à figura mitológica de duende.

Problemas respiratórios foram observados em 9 dos 18 pacientes da nossa amostra e também não são referidos na literatura. A maioria dos nossos

pacientes apresentou quadros de asma, bronquite e pneumonia nos primeiros meses de vida, entretanto vale ressaltar que estas queixas são freqüentes em consultórios Pediátricos.

Ao calcularmos a sensibilidade e especificidade dos sinais e sintomas de nossos pacientes SWB com e sem microdeleção pudemos observar que algumas características da nossa amostra como deficiência mental, atraso DNPM, fronte alargada, boca de carpa, lábio inferior grosso, tiveram uma sensibilidade de 100% e especificidade zero, o que significa que todos os pacientes, com e sem microdeleção, apresentaram esses sinais e sintomas.

Sociabilidade excessiva, edema periorbital, ponte nasal baixa, bochechas proeminentes e hiperatividade apresentaram sensibilidade igual ou acima de 67% e especificidade zero, e assim essas características não permitiram diferenciar os pacientes com dos sem microdeleção.

Por outro lado baixo peso ao nascimento, deficiência de crescimento, baixa estatura, loquacidade, cardiopatias como EASV ou outra que não EASV, problemas renais, íris estrelada, clinodactilia de quinto dígito, otites de repetição, hálux valgo, hipoplasia ungueal e hipertensão arterial apresentaram especificidade de 100%, isto significa que só os pacientes com microdeleção apresentaram estas características e sintomas, contribuindo assim para a diferenciação dos pacientes com microdeleção dos sem microdeleção, o que nortearia o pediatra a solicitar o exame citogenético molecular (FISH).

Algumas das características que apresentaram especificidade 100% como problemas renais, íris estrelada, otites de repetição, hálux valgo, hipoplasia ungueal e hipertensão arterial obtiveram valores de sensibilidade muito baixos, o que os tornam de pouco valor no início da suspeita diagnóstica de SWB com microdeleção.

Quando classificamos, nossa amostra com a pontuação proposta por LOWERY et al., (1995), para diagnóstico da SWB “clássica”, os nossos pacientes com microdeleção tiveram média de 6 pontos (4–7), e os sem microdeleção tiveram média de 5 pontos (4–5), portanto todos os nossos pacientes se enquadraram como SWB “clássico”.

Quanto a classificação proposta por SUGAYAMA, (2001) nossa amostra situou-se dentro do esperado, confirmando que a probabilidade do paciente com 20 ou mais pontos apresentar FISH sem microdeleção é baixa, e que o teste de FISH estaria indicado nos indivíduos afetados com valores inferiores a 20 pontos. Considerando o alto custo do exame, a análise fenotípica adequada e criteriosa, auxilia muito o médico e o geneticista na indicação e solicitação do exame de citogenética molecular (FISH).

Ao aplicarmos o teste de sensibilidade e especificidade nas características do sistema de pontuação proposto por SUGAYAMA, (2001), observamos que os nossos resultados apoiaram a proposta da autora.

Com este estudo esperamos contribuir para o diagnóstico precoce da SWB, síndrome rara e de difícil diagnóstico se não houver alto grau de suspeita clínica aliada a importante parceria com o geneticista que firmará diagnóstico com a citogenética molecular (FISH).

Devido o alto custo do FISH há necessidade de triagem dos pacientes com suspeita diagnóstica de SWB, seja pelos sistemas de pontuação propostos por LOWERY et a., (1995) e SUGAYAMA, (2001), bem como pela presença dos sinais específicos como evidenciados neste estudo.

6 CONCLUSÃO

O presente estudo analisou a região 7q11.23 em 18 pacientes com diagnóstico clínico de SWB.

- ◆ A microdeleção na região 7q11.23 envolvendo o gene da elastina foi detectada na maioria dos pacientes com SWB (83%).
- ◆ Os pacientes desta amostra foram classificados como SWB clássica conforme o escore de LOWERY.
- ◆ O início da investigação diagnóstica foi tardio.
- ◆ As principais características fenotípicas presentes apenas nos pacientes com microdeleção foram: peso de nascimento pequeno para a idade gestacional, deficiência de crescimento pondero estatural, loquacidade, EASV e outras cardiopatias, clinodactilia de 5º dígito e íris estrelada.
- ◆ Atraso no desenvolvimento neuropsicomotor, deficiência mental, e dismorfismo facial como: fronte alargada, boca de carpa e lábio inferior grosso foram características com alta sensibilidade e baixa especificidade, ou seja, não diferenciaram os pacientes com e sem microdeleção. Estas características norteiam o pediatra a considerar o diagnóstico clínico da SWB.
- ◆ Loquacidade, deficiência de crescimento, EASV e outras cardiopatias, otites de repetição, alterações renais, hipertensão arterial, íris estrelada, clinodactilia de 5º dígito, hálux valgo e hipoplasia ungueal foram características com alta especificidade, ou seja presentes apenas nos

pacientes com microdeleção. Estas características norteiam o geneticista a investigar a microdeleção pela técnica de FISH.

- ◆ O escore de SUGAYAMA foi útil na classificação dos pacientes com e sem microdeleção.
- ◆ Não houve transmissão parental nesta amostra.

Esta série de casos de uma doença rara foi importante em vários aspectos: descrever duas características ainda não referidas na literatura: problemas respiratórios e orelha grande em abano.

Alertar o pediatra para o diagnóstico precoce visando o aconselhamento genético e o acompanhamento multidisciplinar que estas crianças requerem para que possam evoluir com melhor qualidade de vida.

Para o geneticista o diagnóstico citogenético e a avaliação citogenética dos genitores é subsídio primordial ao aconselhamento genético da família em foco. Permanece o desafio da investigação dos pacientes típicos de SWB que não apresentam a microdeleção do gene da elastina. Para estes pacientes seria importante a utilização de outras técnicas de biologia molecular para que se possa entender e explicar melhor o fenótipo da SWB.

7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS*

Alexander GR, Himes JH, Kaufman RB, Mor S, Kogan M. A United States national reference for fetal growth. *Obstet Gynecol* 1996; 87: 163-8.

American Academy of Pediatrics. Health Care Supervision for Children with Williams syndrome. *Pediatrics* 2001; 107 : 1192-204.

Bellugi U, Bihrlle A, Jernigan T, Trauner D, Doherty S. Neuropsychological, neurological, and neuroanatomical profile of Williams syndrome. *Am J Med Genet* 1990; 6: 115-25.

Beuren AJ, Apitz J, Harmjanz D. Supravalvular aortic stenosis in association with mental retardation and certain appearance. *Circulation* 1962; 26: 1235-40.

Beust AJ, Laccone FA, Del Pilar AM, Wessel A. Clinical aspects and genetics of Williams-Beuren syndrome. *Klin Padiatr* 2000; 212: 299-307.

Black JA, Bonham-Carter RE. Association between aortic stenosis and facies of several infantile hypercalcemia. *Lancet* 1963; ii: 745-9.

* Comitê Internacional de Editores de Revistas Médicas. Requisitos uniformes para originais submetidos a revistas biomédicas. *Ann Intern Med* 1997; 126:36-47.
National Library of Medicine. List of journals indexed in Index Medicus. Washington, 2003. 240p.

Black JA, Butler N, Schlesinger BE. Aortic stenosis and hypercalcemia. *Lancet* 1965, ii: 546.

Brewer CM, Morrison N, Tolmie JL. Clinical and molecular cytogenetic (FISH) diagnosis of Williams syndrome. *Arch Dis Child* 1996; 74; 56-61.

Bonham-Carter RE, Sutcliffe J. A syndrome of multiple of arterial stenosis in association with the severe form of idiopathic hypercalcemia. *Arch Dis Child* 1964; 39: 418-9.

Borg I, Delhanty DA, Araitser M. Detection of hemizyosity at the elastin locus by FISH analysis as a diagnostic test in both classical and atypical cases of Williams syndrome. *J Med Genet* 1995; 32: 692-6.

Brondum-Nielsen K, Beck B, Gyftidimou J, Horly H, Liljenberg U, Petersen MB, et al. Investigation of deletions at 7q11.23 in 44 patients referred for Williams-Beuren syndrome, using FISH and four DNA polymorphism. *Hum Genet* 1997; 99: 56-61.

Chan GM, Buchino JJ, Melhorn D, Bove KE, Steichen JJ, Tsang RC. The effect of vitamin D on pregnant rabbits and their offspring. *Pediatr Res* 1979; 13: 121-6.

Coleman EM. Infantile hypercalcemia and cardiovascular lesions. *Arch Dis Child* 1965; 40: 535-40.

Culler FL, Jones KL, Defros LJ. Impaired calcitonin secretion in patients with Williams Syndrome. *J Pediatr* 1985; 107: 720-3.

Curran ME, Atkinson DL, Ewart AK, Morris CA, Leppert MF, Keating MT. The elastin gene is disrupted by a translocation associated with supraaortic stenosis. *Cell* 1993; 73: 159-68.

De Luis O, Valero MC, Perez-Jurado LA. WBSCR14, a putative transcription factor gene in Williams-Beuren syndrome: complete characterization of the human gene and the mouse ortholog. *Eur J Hum Genet* 2000; 8: 215-22.

De Nellhaus G. Circunferência craniana. *Pediatrics* 1986; 41: 106.

De Zeeuw CL, Hoogenraad CC, Goedknecht E, Hertzberg E, Neubauer A, Grosveld F, et al. CLIP-115, a novel brain-specific cytoplasmic linker protein, mediates the localization of dendritic lamellar bodies. *Neuron* 1997; 19: 1187-99.

Dutly F, Schinzel A. Unequal interchromosomal rearrangements may result in elastin gene deletions causing the Williams-Beuren syndrome. *Hum Mol Genet* 1996; 5: 1893-8.

Elçioğlu N, Mackie-Ogilvie C, Daker M, Berry AC. Fish analysis in patients with clinical diagnosis of Williams syndrome. *Acta Paediatr* 1998; 87: 48-53.

Ewart AK, Morris CA, Atkinson D, Jin W, Sternes K, Spallone P, et al. Hemizyosity at the elastin locus in an developmental disorder, Williams Syndrome. *Nat Genet* 1993; 5: 11-6.

Fanconi G, Giardet P, Schlesinger B, Butler H, Black JS. Chronische hipercalcemie kambieniert mit osteosklerose, hyperazotamie minderwuschs und kogenital missbildungen. *Helv Paediatr Acta* 1952; 7: 314-34.

Forbes GB, Bryson MF, Manning J, Amirhakimi GH, Reina JC. Impaired calcium homeostasis in the infantile hypercalcemic syndrome. *Acta Paediatr Scand* 1972; 61: 305-9.

Fragiskakis JM, Ewart AK, Morris CA, Mervis CB, Bertrand J, Robson BF, et al. LIM-Kinase1 hemizyosity implicated in impaired visuospatial construct cognition. *Cell* 1996; 86: 1-20.

Fletcher RH, Fletcher SW, Wagner EH. *Epidimiologia clínica*. London: Artes Médicas, 1989.

Friedman WF, Roberts WC. Vitamin D and the supra-avalvular aortic stenosis syndrome. The transplacental effects of vitamin D on the aorta of the rabbit. *Circulation* 1966; 34: 77-86.

Garcia RE, Friedman WF, Kaback MM, Rowe RD. Idiopathic hypercalcemia and supra-avalvular aortic stenosis. *N Engl J Med* 1964; 271: 117-20.

Gopal VV, Roop H. Diagnosis of microdeletion syndromes: high resolution chromosome analysis versus fluorescence *in situ* hybridization. *Am J Med Sci* 1995; 309: 208-12.

Gosch A, Pankau R. Social emotional and behavioral adjustment in children with Williams-Beuren syndrome. *Am J Med Genet* 1994a; 53: 335-9.

Gosch A, Standing G, Pankau R. Linguistic abilities in children with Williams-Beuren syndrome. *Am J Med Genet* 1994b; 52: 291-6.

Greenberg F. Williams syndrome professional symposium. *Am J Med Genet* 1990; 6: 85-8.

Hagerman RJ. Neurodevelopmental disorders: diagnosis and treatment. New York: Oxford University Press; 1999.

Hammond TH, Gray SD, Butler S, Zhou R, Hammond E. Age-and-gender-related elastin distribution changes in human vocal folds. *Otolaryngol Head Neck Surg* 1998; 119: 314-22.

Hoogrnraad CC, Eussen BHJ, Langeveld A, Van Haperen R, Winterberg S, Wouters CH, et al. The murine CYLN2 gene: genomic organization, chromosome localization, and comparison to the human gene that is located within the 7q11.23 Williams syndrome critical region. *Genomics* 1998; 53: 348-58.

Hutchins GM, Mirvis SE, Mendelsohn G, Bulkley BH. Supravalvular aortic stenosis with parafollicular cell (C- cell) hyperplasia. *Am J Med Genet* 1978; 64: 967-73.

Jadayel DM, Osborne L R, Coignet LJA, Zani VJ, Tsui LC, Scherer SW, et al. The BCL7 gene family: deletion of BCL7B in Williams syndrome. *Gene* 1998; 224: 35-44.

Jones KL, Smith DW. The Williams elfin facies syndrome. *J Pediatr* 1975; 86 718-23.

Joseph MC, Parrot D. Severe infantile hypercalcemia with special reference to the facies. *Arch Dis Child* 1958; 33: 385-95.

Joyce CA, Zorich B, Pike SJ, Barber JCK, Dennis NR. Williams-Beuren syndrome: phenotypic variability and deletions of chromosomes 7, 11, and 22 in a series of 52 patients. *J Med Genet* 1996; 33: 986-92.

Jue KL, Noren GR, Anderson RC. The syndrome of idiopathic hypercalcemia of infancy with associated congenital heart disease. *J Pediatr* 1965; 67:1130-49.

Kao FT. Microdissection and microcloning of human chromosome regions in genome and genetic disease analysis. *Bioessays* 1993;15: 141-6.

Kotzot D, Bernasconi F, Brecevic L, Robinson WP, Kiss P, Kosztolani G, et al. Phenotype of the Williams-Beuren Syndrome associated with hemizyosity at the elastin locus. *Eur J Pediatr* 1995; 154: 477-82.

Lashkari A, Smith AK, Graham JR JM Williams-Beuren syndrome: an update and Review for the primary physician. *Clin Pediatr* 1999; 38: 189-208.

Ledbetter DH, Ballabio A. Molecular cytogenetics of contiguous genes Syndromes: mechanisms and consequences of gene dosage imbalances. In *The metabolic and molecular bases of inherited disease*. 7th ed. New York: McGraw Hill; 1995; p. 839-81.

Li DY, Toland AE, Boak BB, Atkinson DL, Ensing GJ, Morris CA, et al. Elastin point mutations cause an obstructive vascular disease, supraaortic stenosis. *Hum Mol Genet* 1997; 6: 1021-8.

Lopez-Rangel E, Maurice M, Mcgillivray B, Friedman JM. Williams syndrome in adults *Am J Med Genet* 1992; 44: 720-9.

Lowery MC, Morris CA, Ewart AK, Brothman LJ, Zhu XL, Leonard CO, et al. Strong correlation of elastin deletions, detected by FISH, with Williams Syndrome: evaluation of 235 patients. *Am J Hum Genet* 1995; 57: 49-53.

Lu X, Meng X, Morris CA, Keating MT. A novel human gene, WSTF, is deleted in Williams syndrome. *Genomics* 1998; 54: 241-9.

Luke S, Belogolovkin V, Varkey JA, Ladoulis CT. Fluorescence *in situ* hybridization. In: J. GV, editor. Analytical morphology. Theory, applications and protocols. Eaton publishing. Natick MA; 1997.

Mari A, Amati F, Mingarelli R, Giannotti A, Sebastio G, Colloridi V, et al. Analysis of the elastin gene in 60 patients with clinical diagnosis of Williams syndrome. Hum Genet 1995; 96: 444-8.

Martin NDJ, Snodgrass GJAI, Cohen RD, Porteous CE, Coldwell RD, Trafford DHH, et al. Vitamin D metabolism in idiopathic infantile hypercalcemia. Arch Dis Child 1985; 60: 1140-3.

Martin NDT, Snodgrass GJAI, Cohen RD. Idiopathic infantile hypercalcemia: A continuing enigma. Arch Dis Child 1984; 59: 605-13.

Meng X, Lu X, Morris CA, Keating MT. A novel human gene FKBP6 is deleted in Williams syndrome Genomics 1998a; 52: 130-7.

Meng X, Lu X, Li Z, Green ED, Massa H, Trask BJ, Morris CA, Keating MT. Complete physical map of the common deletion region in Williams syndrome and identification and characterization of three novel genes. Human Genet 1998b; 103: 509-9.

Mitelman F. An international system for human cytogenetic nomenclature. Basel; Karger; 1995.

Moorhead OS, Nowell PC. Chromosome preparations of leukocyte cultures from human peripheral blood *Cell* 1960; 20: 613-6.

Morris CA, Loker J, Ensing G, Stok AD. Supravalvular aortic stenosis co-segregates with a familial 6;7 translocation which disrupts the elastin gene. *Am J Med Genet* 1993a; 46: 737-44.

Morris CA, Leonard CO, Dilts C, Demsey SA. Adults with Williams syndrome. *Am J Med Genet* 1990; Suppl 6: 102-7.

Morris CA, Lu X, Greenberg F. Syndromes identified in patients with a previous diagnosis of Williams syndrome who do not have elastin deletion. *Proc Greenwood Genet Cent* 1998; 17: 116-7.

Morris CA, Demsey S, Leonard CO, Dilts C, Blackburn BL. Natural history of Williams syndrome: Physical Characteristics. *J Pediatr* 1988; 113: 318-26.

Morris CA, Thomas IT, Greenberg E. Williams syndrome; autosomal dominant inheritance. *Am J Med Genet* 1993b; 47: 478-81.

Nickerson E, Greenberg F, Keating MT, Mccaskill C, Shaffer LG. Deletions of the elastin gene at 7q11.22 occur in approximately 90% of patients with Williams syndrome. *Am J Med Genet* 1995; 56: 1156-61.

OMIM: On line mendelian inheritance in man. Baltimore: Biotechnology Information; [1999 10.08]. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/omim/>.

Osborne LR, Campbell T, Daradich A, Scherer SW, Tsui LC. Identification of a putative transcription factor gene (WBSCR11) that is commonly deleted in Williams-Beuren syndrome. *Genomics* 1999; 57: 279-84.

Osborne LR, Martindale D, Scherer SW, Shi XM, Huizenga J, Heng HHQ, et al. Identification of genes from a 500 Kb region at 7q11.23 that is commonly deleted in Williams syndrome patients. *Genomics* 1996; 36: 328-36.

Osborne LR, Soder S, Shi XM, Prober B, Costa T, Scherer SW, et al. Hemizygous deletion of the syntaxin 1 A gene in individuals with Williams syndrome.[letter] *Am J Med Genet* 1997; 61: 449-52.

Osborne LR, Marti LI, Pober B, Chitayat D, Bodurtha J, Mandel A, et al. A 1.5 million-base pair inversion polymorphism in families with Williams-Beuren syndrome. *Nat genet* 2001; 29: 321-5.

Pagon RA, Bennet FC, Laveck B, Stewart KB, Johnson J. Williams syndrome: features in late childhood and adolescence. *Pediatrics* 1987; 80: 85-91.

Pankau R, Partsch CJ, Neblung A, Gosh A, Wessel A. Head circumference of children with Williams-Beuren syndrome. *Am J Med Genet* 1994; 52: 285-90.

Pankau R, Parsch CJ, Gosch A, Oppermann H.C, Wessel A. Statural growth in Williams-Beuren syndrome. *Eur J Pediatr* 1992; 151: 751-5.

Pankau R, Partsch CJ, Winter M, Gosch A, Oppermann HC, Wessel A. Incidence and spectrum of renal abnormalities in Williams-Beuren syndrome. *Am J Med Genet* 1996; 63: 301-4.

Paperna T, Peoples R, Wang YK, Kaplan P, Francke U. Genes for the CPE-receptor (CPETR1) and the human homolog of RVP1 (CPETR2) are localized within the Williams-Beuren syndrome deletion. *Genomics* 1998; 54: 453-9.

Pena SDJ. Molecular cytogenetics II. PCR-based diagnosis of chromosomal deletions and Microdeletion syndromes. *Gene. Mol Biol* 1998; 21: 453-60.

Peoples RJ, Franke Y, Wang Y, Perez-Jurado L, Paperna T, Cisco M, et al. A physical map, including a BAC/PAC clone contig, of the Williams- Beuren syndrome deletion region at 7q11.23. *Am J Hum Genet* 2000; 66: 47-68.

Peoples RJ, Cisco MJ, Kaplan P, Francke U. Identification of the WBSCR9 gene, encoding a novel transcriptional regulator, in Williams-Beuren syndrome deletion at 7q11.23. *Cytogenet Cell Genet* 1998; 82: 238-46.

Peoples R, Perez-Jurado L, Wang YK, Kaplan P, Francke U. The gene replication factor C subunit 2 (RFC2) is within the 7q11,23 Williams syndrome deletion. *Am J Hum Genet* 1996; 58: 1373-7.

Perez-Jurado LA, Wang YK, Francke U, Cruces J. TBL2, a novel transducin family member in the wbs deletion: characterization of the complete

sequence, genomic structure, transcriptional variants and the mouse ortholog. *Cytogenet Cell Genet* 1999; 86: 277-84.

Perez Jurado LA, LI X, Francke U. The human calcitonin receptor gene (CALCR) at 7q21.3 is outside the deletion associated with the Williams syndrome. *Cytogenet Cell Genet* 1995; 70: 246-9.

Perez Jurado LA, Peoples R, Kaplan P, Hamel BCJ, Francke U. Molecular definition of the chromosome 7 deletion in Williams syndrome and parent-of-origin effects on growth. *Am J Hum Genet* 1996; 59: 781-92.

Perez-Jurado LA, Wang YK, Peoples R, Coloma A, Cruces J, Francke U. A duplicated gene in the breakpoint regions of the 7q11.23 Williams-Beuren syndrome deletion encodes the initiator binding protein TFII-1 and BAP-135, a phosphorylation target of BTK. *Hum Mol Genet* 1998; 7: 325-34.

Pinkel D, Straume T, Gray JW. Cytogenetic analysis using quantitative high sensitivity fluorescence hybridization. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 1986; 83: 2934-8.

Pober BR, Dyckens EM. Williams syndrome: an overview of medical, cognitive and behavioral features. *Child Adolesc Psychiatr Clin North Am* 1996; 5: 929-43.

Preus M. The Williams syndrome: objective definition and diagnosis. *Clin Genet* 1984; 25: 422-8.

Seabright MA. Rapid banding technique for human chromosomes. *Lancet* 1971; 2: 971-2.

Schmitt JE. Williams syndrome: recent developments. *Curr Opin Psychiatry* 2001; 14: 451-6.

Schultz RT, David J, Gregoletti BA, Pober B. Genetics of childhood disorders: XXVI. Williams syndrome and brain-behavior relationships. *J Am Acad Child Adolesc Psychiatry* 2001; 40: 606-9.

Shaffer LG. Diagnosis of microdeletions syndromes by fluorescent in situ hybridization (FISH). In: Dracopoli NC (editor). *Current protocols um human genetics*. New York:John Wiley & Sons; 1997. P. 8.10.1-8.10.14.

Smith DW. *Recognizable patterns of human malformation*. Philadelphia, WB, Saunders,;1982.

Sugayama SMM. *Estudo genético-clínico e citogenética molecular pela técnica da hibridação in situ por fluorescência (FISH) em pacientes com síndrome de Williams-Beuren*. [tese]. São Paulo: Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo; 2001

Tassabehji AK, Metcalfe K, Donnai D, Hurst J, Reardon W, Burch M, et al. Elastin: genomic structure and point mutations in patients with supravalvular aortic stenosis. *Hum Mol Genet* 1997; 6: 1029-36.

Tassabehji AK, Metalcafe K, Fergusson WD, Carette MJ, Dore JK, Donnai D, et al. LIM- Kinase deleted in Williams syndrome. *Nat Genet* 1996; 13: 272- 3.

Udwin O, Yule W. A cognitive and behavioral phenotype in Williams syndrome. *J Clin Exp Neuropsychol* 1991; 13: 2322-44.

Udwin O, Davies M, Howlin P. A longitudinal study of cognitive abilities and educational attainment in Williams syndrome. *Dev Med Child Neurol* 1996; 38: 1020-9.

Udwin O, Yule W, Martin N. Cognitive abilities and behavioral characteristics of children with idiopathic infantile hypercalcemia. *J Child Psychol Psychiatry*; 1987; 28: 297-309.

Urban Z, Helms C, Fekete G, Csiszar K, Bonnet D, Munnich A, Donis et al. 7q11.23 deletions in Williams syndrome arise as a consequence of unequal meiotic crossover. *Am J Hum Genet* 1996; 59: 958-62.

Valadares ER, Pena SDJ. Manual para o exame morfológico da criança. Rio de Janeiro, Sociedade Brasileira de Pediatria; 1988.

Viegas-Pequignote E, Dutrillaux B. Une methode simple por obtenir profhases et les prometaphases. *Ann Genet* 1978; 21: 122-5.

Volterra V, Capirci O, Pezzini G, Sabadini L, Vicari S. Linguistic abilities in italian children with Williams syndrome. *Cortex* 1996; 32: 663-77.

Von Armin G, Engel P. Mental retardation related to hypercalcemia. *Dev Med Child Neurol* 1964; 6: 366-77.

Wang MS, Schinzel A, Kotzot D, Balmer D, Casey R, Chodirker BN, et al. Molecular and clinical correlation study of Williams-Beuren syndrome: no evidence of molecular factors in the deletion region or imprinting affecting clinical outcome. *Am J Med Genet* 1999; 86: 34-43.

Wang YK, Samos CH, Peoples R, Perez-Jurado LA, Nusse R, Francke U. A novel human homologue of the *Drosophila* frizzled with receptor gene binds wingless protein and is in the Williams syndrome deletion at 7q11.23. *Hum Mol Genet* 1997; 6: 465-72.

Wessel A, Motz R, Pankau R, Bursch JH. Arterial hypertension and blood pressure profile in patients with Williams-Beuren syndrome. *Z Cardiol* 1997; 86: 251-7.

White RA, Preus M, Watters GV, Fraser FC. Familial occurrence of the Williams syndrome. *J Pediatr* 1977; 91: 614-6.

Williams JCP, Barratt-Boyes BG, Love JB. Supravalvular aortic stenosis. *Circulation* 1961; 21: 1311-8.

Wu YQ, Sutton R, Nikerson E, Lupski JR, Potocki L, Korenberg JR, et al. Delineation of the common critical region in Williams syndrome and clinical correlation of growth, heart defects, ethnicity and parental origin. *Am J Med Genet* 1998; 78: 82-9.

Yunis JJ. High resolution chromosome. *Science* 1976; 191: 1268-70.

Yunis JJ, Chadler ME. High resolution chromosome analysis in clinical medicine. *Prog Clin. Pathol* 1977; 7: 268-88.

ANEXOS

Anexo 01

Aprovação pelo Comitê de Ética em pesquisa da Faculdade de Medicina, UNESP-Botucatu.

Anexo 02**Termo de Consentimento Livre e Esclarecido**

Eu _____ portador do RG _____, declaro para os devidos fins que concordo que _____ participe da investigação sobre a Síndrome de Williams, doença genética que pode ser o diagnóstico do paciente, a ser realizada pelo Serviço de Aconselhamento Genético (SAG) do Departamento de Genética do Instituto de Biociências da UNESP - Botucatu.

Este estudo será feito para aumentar a compreensão desta doença. Para isso serão realizados exames: clínico (avaliação física) e de sangue de veia periférica (braço), para o estudo das células. Todos os resultados obtidos serão entregues por escrito aos responsáveis pelo paciente, com explicações e orientações para melhorar na medida do possível a qualidade de vida do paciente (aconselhamento genético). Eu concordo que os resultados sejam utilizados em pesquisa e publicações.

Declaro ainda que recebi todos os esclarecimentos sobre a importância da referida pesquisa. Os resultados me serão fornecidos sempre que requisitados e também me será permitido desistir desta autorização sem que isso ocasione qualquer prejuízo na assistência global à saúde do paciente.

De minha livre e espontânea vontade, assino esta autorização.

Botucatu, _____ de _____.

Assinatura

Obs: Este termo apresenta-se em duas vias sendo uma delas pertencente ao paciente e outra ao SAG.

Anexo 03

FICHA DE ANAMNESE
Para pacientes com suspeita de síndrome de
Williams - Beuren
Projeto de Pesquisa.

1. Identificação:

Data:----- **RG:**-----
Nome:----- **Nasc.:**-----
Idade:----- **Local:**-----
Mãe:----- **Idade:**-----
Profissão:-----
Pai:----- **Idade:**-----
Profissão:-----
Endereço:-----
Fone:-----
Encaminhado por:-----

2. Dados gestacionais e antecedentes maternos

Pré-natal () Período_____ Duração da gravidez_____ Início dos movimentos
fetais_____

Intensidade_____ Ganho de peso com a gravidez_____kg Hemorragia () Processo febril ()
 Contágio () Edema () PA_____ Convulsões () Polidrâmnio () Oligodrâmnio ()
 Obs.: _____

Enfermidades agudas/crônicas: _____

Fatores físicos/químicos: _____

3. Parto

Normal () Cesariana () Fórceps () Obs.: _____

Hospitalar () Domiciliar () Outro () Especificar _____

Obs.: _____

4. Condições do RN

Peso_____ Comprimento_____ PC_____ PT_____ APGAR_____ Choro_____

Cianose_____ Sucção_____ Tônus_____

Icterícia_____

Fototerapia () Exangüineotransfusão () Permanência na
maternidade_____ Febre_____ Convulsões_____

Obs.: _____

5. Evolução

Firmou cabeça_____ Sorriso social_____ Sentou com apoio_____

Sentou sem apoio_____ Andou_____ Palavra_____ Frases_____

Fechou fontanela_____ Controle vesical_____

Anos de escolaridade_____ Tipo de escola_____

Passado mórbido: Doenças próprias da infância: _____

Complicações_____

Convulsões (quantos episódios, tempo de duração, descrição)_____

Obs.: _____

6. Antecedentes Familiais

Retardo mental_____

Recorrência familiar da doença semelhante_____

Caso de malformação na família_____

Recorrência familiar de alguma outra doença_____

Consangüinidade entre os pais? () Tipo_____

7. Composição familiar

Gest.	Concepto	Nome do Filho	Sexo	Idade	Data do Nasc.
-------	----------	---------------	------	-------	---------------

Obs.

8. Heredograma:**Exame Físico****1. Biometria**

Estatura_____cm (%) Peso_____gr (%) Envergadura_____cm (%) PC_____cm (%)
 PT_____cm (%) DII_____mm (%) DIE_____mm (%) Bregma_____
 AP_____cm BP_____cm $\frac{BP \times 100}{AP} =$ I.C. = _____
 AP

2. Crânio e face

Microcefalia () Macrocefalia () Hidrocefalia () Craniossinostose () Occipital plano ()
 Proeminente () Abaulamento Frontal () Glabela proeminente () Assimetria craniana ()
 Braquicefalia () Dolicocefalia () Plagiocefalia () Faceis triangular () Faceis redonda ()
 Assimetria Facial () Áreas de aplasia de couro cabeludo () Implantação do cabelo Normal ()
 Baixa ()

Obs.: _____

3. Orelhas

Grandes () Pequenas () Implantação normal () Baixa () Microtia () Pavilhão
 malformado ()
 Apêndices auriculares () Ausência do conduto auditivo externo () Estenose do mesmo () Fístula ()

Obs.: _____

4. Olhos

Sinofre () Ptose Palpebral () Estrabismo () Convergente () Divergente () Infecção ()
 Lacrimejamento () Anoftalmia () Microftalmia () Hipertelorismo () Prega epicântica ()
 Fendas palpebrais oblíquas para cima () Para baixo () Retificados () Exoftalmo () Nistagmo ()
 Escleróticos azuis () Íris () Coróide () Cristalino () Retina () Pálpebra () Aniridia ()
 Manchas na íris () Glaucoma congênito () Cataratas () Opacidade corneana () Retinose pigmentar ()

Obs.: _____

5. Nariz

Em sela () ponte nasal:_____ base nasal_____ Estenose de narinas Columela _____
 Desvio de septo () Hipoplasia alar () Nariz proeminente ()

Obs.: _____

6. Maxilar e Mandíbula

Hipoplasia maxilar () Micrognatismo () Macrognatismo () Prognatismo () Retrognatismo ()
 Filtro Nasal _____ Obs.: _____

7. Boca

Lábio leporino () _____ Fissura palatina () _____
 Lábios volumosos () Fossetas no lábio inferior () Comissuras bucais desviadas para baixa ()
 Microstomia () Macrostomia () Língua fendida () Língua geográfica () Freio lingual curto ()
 Defeito dentário () Palato alto () Ogival () Úvula bífida () Início da dentição: _____
 Obs.: _____

8. Pescoço

Pescoço curto () Cistos () Fístulas () Tireóide ()
 Obs.: _____

9. Tórax

Caixa Torácica () Externo curto () Peito escaldado () Peito carenado () Mamilos anormais ()
 Supernumerários () Defeitos costais ()
 Obs.: _____
 Semiologia pulmonar: _____
 Semiologia cardiovascular: _____

10. Coluna

Cifose () Escoliose () Lordose () Apêndice pré sacral () Fóvea coccígea ()
 Obs.: _____

11. Abdome

Hérnia umbilical () Hérnia inguinal () Diástase músculos retos abdominais ()
 Obs.: _____
 Semiologia _____

12. Membros

A. Membros Superiores: Mãos grandes () Pequenas () Braquidactilia () Aracnodactilia ()
 Polidactilia () Tipo: _____ Sindactilia cutânea () Óssea () Tipo: _____
 Prega simiesca completa () Incompleta () Prega única no dedo mínimo ()
 Hipoplasia da falange média do 5^o dedo () Clinodactilia () dedo: _____ Acavalgamento dos dedos ()
 Descrever: _____ Deformidade por redução do membro superior ()
 Amelia () Focomelia () Ausência congênita (total ou parcial) dos dedos () Da mão ()
 Do antebraço () Do braço ()
 Obs.: _____

B. Membros Inferiores: Pés grandes () Pequenos () Polidactilia () Tipo: _____
 Sindactilia cutânea () Óssea () Dedos: _____ Pé torto congênito () Cavo () Calcâneo ()

Equino () Varo () Pé plano () Distância aumentada entre o hálux e o segundo artelho ()
 Sulco Plantar entre o hálux e o segundo artelho () Deformidade por redução do membro inferior ()
 Amelia () Focomelia () Ausência congênita [total ou parcial de dedos] ()

Obs.: _____

C. Articulações: Limitação articular _____

Hiperextensibilidade articular () Contratura generalizada por flexão das articulações dos membros ()

Luxação congênita () Obs.: _____

13. Genitália Externa

Ambígia () Criptorquidia () Testículo retrátil () Hipoplasia dos grandes lábios ()

Hipertrofia do clitóris () Hidrocele congênita () Hipospadia: Balanoprepucial () Penoscrotal ()

Perineal () Epispadia () Fimose () Obs.: _____

14. Tecidos Celular Subcutâneo

Desenvolvimento: médio () Escasso () Abundante () Ausente () Turgor firme ()

Frouxo ()

Pastoso () Edema das mãos () Pés () Outro: _____

Gânglios _____ Obs.: _____

15. Musculatura

Nomotrófica () Hipotrófica () Hipertrófica () Normotônica () Hipotônica () Hipertônica ()

Força muscular normal () Diminuída () Aumentada () Agenesia muscular congênita ()

Obs.: _____

16. Pele e Anexos

Pigmentação cutânea: normal () Aumento generalizado () Diminuição generalizada ()

Albinismo total () Parcial () Vitiligo () Manchas café-com-leite () tipo _____

Manchas peri-orais () Outras manchas () Local: _____ Hemangiomas ()

Telangiectasias () Alopecia generalizada () Parcial () Hirsutismo () Local: _____

Dismorfismo ungueal () Tipo _____ Dos pés () Tumorações ()

Obs.: _____

17. Exames Neurológicos

Facies: _____

Motricidade: _____

Sensibilidade: _____

Coordenação: _____

Movimentos involuntários: _____

Equilíbrio: _____

Reflexos: _____

Nervos Cranianos: _____

18. Principais sinais e sintomas da síndrome de Williams-Beuren:

Sinais Clínicos		
Sinais característicos		
- face		
- retardo mental	97%	
- atraso no crescimento		
- alteração cárdio-vascular		
- hipercalcemia na infância (desaparece na maioria dos casos no 2º ano de vida)		
Sinais precoces		
- dificuldade de alimentação por mamadeira	71%	
- atraso no desenvolvimento NPM e pôndero-estatural	81%	
- Vômitos	40%	
- constipação intestinal	43%	
- cólicas	67%	
- otites de repetição	38%	
- hipercalcemia	60%	
Alterações congênitas		
- alterações cardíacas	79%	
- hérnia umbilical	14%	
- hérnia inguinal	38%	
Dentes		
- hipoplasia de esmalte	48%	
- microdontia	55%	
- má oclusão	85%	
Gênito-urinário		
- enurese	52%	
Musculo-esquelético		
- limitação articular	50%	
- cifose	21%	
- lordose	38%	
- escoliose	12%	
- marcha c/ base alargada	60%	
- vertebra extra sacral	52%	
Ocular		
- fissuras pequenas	50%	
- hipotelorismo	50%	
- prega epicântica	50%	
- estrabismo	35%	
- olhos azuis	60%	
- "estrela" em íris	60%	
* pode ser prolongar em alguns pacientes		

Resumo dos**Achados:**

Exames Solicitados e Resultados de**Exames:**

Médico

Responsável:

Data: ____/____/____

Avaliações clínicas e citogenéticas

Caso 01

GVCS (SAG: 4296-Fig.1b), nascido em 21/06/97, sexo masculino, 2º filho de pais não consangüíneos, ambos com 31 anos de idade, na época do nascimento. A gestação do propósito foi sem intercorrências, nascimento a termo de parto cesáreo, com peso de 2.960g, e comprimento de 46cm. Segundo informações da mãe, a criança tinha dificuldade para mamar, cansava e chorava com frequência. Firmou a cabeça com 1 mês, sentou sem apoio aos 9 meses, andou com 1 ano e 6 meses e falou com 2 anos. Aos 5 meses de idade realizou cateterismo cardíaco que caracterizou coarctação da aorta. A partir do 2º semestre evoluiu com hipertensão arterial que teve como etiologia uma malformação renal. Com 1 ano e 3 meses teve broncopneumonia. Foi encaminhada ao SAG por apresentar sinais compatíveis com a SWB aos 4 anos e 7 meses. A análise citogenética revelou cariótipo masculino 46,XY, 21p+, por bandamento GTG em alta resolução. O cromossomo 21 tinha o braço curto (p) aumentado (+) que é variante normal da população. A análise citogenética molecular (FISH) utilizando a sonda da Cytocell[®], detectou a deleção 7q11.23.

Fig.1a - Metáfase em FISH mostrando a ausência do sinal rosa de um dos cromossomos 7 indicando a deleção do gene da elastina.

Fig.1b- GVCS (SAG 4296) com 4 anos e 7 meses.

Caso 02

LOR. (SAG: 3384-Fig.03), sexo feminino, 2^o filha de pais não consangüíneos, mãe 27 anos pai 31 anos na época do nascimento, nasceu em 28/09/95. A gestação do propósito foi sem intercorrências, nascimento a termo de parto cesáreo, pesando 2.850g, medindo 47cm. Segundo informações da mãe ao nascimento foi detectado estenose anal e aos 18 meses fez correção cirúrgica para hérnia diafragmática. Foi encaminhada ao SAG por apresentar hipótese diagnóstica de SWB aos 2 anos e 10 meses. A análise citogenética revelou cariótipo feminino 46,XX, por bandamento GTG em alta resolução. A análise citogenética molecular (FISH) utilizando a sonda da VYSIS[®] detectou a deleção 7q11.23.

Fig. 2a - Metáfase em FISH mostrando a ausência do sinal rosa de um dos cromossomos 7 indicando a deleção do gene da elastina.

Fig. 2b. LOR (SAG 3384) com 4 anos e 11 meses.

Caso 03

GCMP. (SAG: 4301-Fig.05), sexo feminino, 1ª filha de pais não consangüíneos, mãe 27 anos, pai 23anos, na época do nascimento, nasceu em 13/02/1992. A gestação do propósito foi sem intercorrências, nasceu de parto normal pré-termo, com peso insuficiente, realizou herniorrafia inguinal no 1ª ano de vida, e apresentou cardiopatia detectada ao nascimento. Foi encaminhado ao SAG por apresentar problemas cardíacos e oftalmológicos aos 8 anos e 6 meses. A análise citogenética revelou cariótipo feminino 46,XX, por bandamento GTG em alta resolução. A análise citogenética molecular (FISH) utilizando a sonda da VYSIS® detectou a deleção 7q11.23.

Fig.3a - Metáfase em FISH mostrando a ausência do sinal rosa de um dos cromossomos 7 indicando a deleção do gene da elastina.

Fig. 3b. GCMP (SAG 4301) com 8anos e 6 meses.

Caso 04.

SSS. (SAG: 3004-Fig.4b), sexo feminino, 1ª filha de pais não consangüíneos, mãe 32 anos, pai 31 anos, na época do nascimento, nasceu em 18/04/1996. A gestação do propósito foi sem intercorrências, nascimento a termo de parto cesáreo, com peso de 2700g, comprimento de 47cm. Foi encaminhada ao SAG com 1 ano e 4 meses por apresentar atraso no DNPM, sopro cardíaco e hipótese diagnóstica de síndrome genética. A análise citogenética revelou cariótipo feminino 46,XX, por bandamento GTG em alta resolução. A análise citogenética molecular (FISH) utilizando a sonda da VYSIS® detectou a deleção 7q11.23.

Fig.4a - Metáfase em FISH mostra a ausência do sinal rosa em um dos cromossomos 7 indicando a deleção do gene da elastina.

Fig. 4b. SSS (SAG 3004) com 4 anos e 4 meses.

Caso 05

MGR (SAG: 4644-Fig.5b), sexo feminino, filha única de pais não consangüíneos, mãe e pai com 25 anos, na época do nascimento, ocorrido em 13/12/1990. A gestação do propósito foi sem intercorrências, nascimento a termo de parto cesáreo, com peso de 2750g e comprimento de 47cm. Andou com 2 anos e falou com 3 anos, teve hérnia umbilical, realizou correção de estrabismo aos três anos de idade e amigdalectomia aos cinco anos, evoluiu com atraso na aquisição de linguagem. Foi encaminhado ao SAG com 10 anos e 6 meses para confirmação diagnóstica de SWB. A análise citogenética revelou cariótipo feminino 46,XX, por bandamento GTG em alta resolução. A análise citogenética molecular (FISH) utilizando a sonda da CYTOCELL[®] detectou a deleção 7q11.23.

Fig. 5a - Metáfase em FISH mostra a ausência do sinal rosa em um dos cromossomos 7 indicando a deleção do gene da elastina.

Fig. 5b. MGR (SAG: 4644) com 10 anos e 6 meses.

Caso 06

DASG (SAG: 4144-Fig.6b), sexo masculino, 1º filho de pais não consangüíneos, mãe 18 anos, pai 24 anos, na época do nascimento, ocorrido em 02/02/1989. A gestação do propósito foi sem intercorrências, nascimento a termo de parto normal, com peso de 2650g, e comprimento de 49cm. Andou com 1 ano e 7 meses, falou com 4 anos. Foi encaminhado ao SAG com 11 anos e 2 meses por apresentar ADNPM. A análise citogenética revelou cariótipo masculino 46,XY, por bandamento GTG em alta resolução. A análise citogenética molecular (FISH) utilizando a sonda da CYTOCELL[®] detectou a deleção.

Fig. 6a - Metáfase em FISH mostra a ausência do sinal rosa em um dos cromossomos 7 indicando a deleção do gene da elastina.

Fig. 6b. DASG (SAG: 4144) com 11 anos e 6 meses.

Caso 07

DB. (SAG: 0728-Fig7b), sexo masculino, 2º filho de pais não consangüíneos, mãe 36 anos, pai 33 anos, na época do nascimento, em 26/10/1981. A gestação do propósito foi sem intercorrências, nascimento a termo de parto cesáreo, com peso de 3500g e comprimento de 51cm. No primeiro ano de vida teve quadros freqüentes de febre, pneumonia, diarreia e inadequado crescimento com melhora após o primeiro ano de vida. Andou com 1 ano e 1mês. Aos 2 anos foi submetido a herniorrafia inguinal. Foi encaminhado ao SAG para investigação diagnóstica com 6 anos e 10 meses. A análise citogenética revelou cariótipo masculino 46,XY, por bandamento GTG em alta resolução. A análise citogenética molecular (FISH) utilizando a sonda CYTOCELL[®] detectou a deleção 7q11.23.

Fig. 7a - Metáfase em FISH mostra ausência do sinal rosa em um dos cromossomos 7 indicando a deleção do gene da elastina.

Fig. 7b. DB. (SAG: 0728) com 20 anos e 4 meses.

Caso 08

RAS (SAG: 4940-Fig.8b), sexo masculino, filho de pais não consangüíneos, mãe 17 anos, pai 28 anos, na época do nascimento, em 10/02/1985. A gestação do propósito foi sem intercorrências, nascimento a termo de parto normal. Andou com 3 anos e 4 meses, falou as primeiras palavras com 7 anos. Devido importante atraso de DNPM, com 13 anos e 8 meses foi encaminhado ao ambulatório de Genética do HU de Brasília, e este centro enviou-nos amostra de sangue para confirmar hipótese diagnóstica de SWB. A análise citogenética revelou cariótipo masculino 46,XY,inv 9 por bandamento CBG e GTG em alta resolução. A análise citogenética molecular (FISH) utilizando a sonda CYTOCELL[®] detectou a deleção 7q11.23.

Fig. 8a - Metáfase em FISH mostra ausência do sinal rosa em um dos cromossomos 7 indicando a deleção do gene da elastina.

Fig. 8b. RAS (SAG: 4940) com 12 anos 6 meses.

Caso 09

LNG (SAG: 5098-Fig.9b), sexo feminino, 3^o filha de pais não consangüíneos, mãe e pai com 35 anos, na época do nascimento, ocorrido em 04/10/1997. Ao nascimento foi constatado sopro cardíaco e confirmado cardiopatia congênita pelo ecocardiograma, mas o pai não sabe informar o tipo de lesão. Andou com 2 anos de idade, e teve atraso na linguagem. Confundia o nome dos irmãos, a coordenação motora não era boa, corria de modo desajeitado e era hiperativa. Devido ao ADNPM aos 4 anos foi encaminhada ao ambulatório de Genética do HU de Brasília e este centro enviou-nos amostra de sangue para confirmar hipótese diagnóstica de SWB. A análise citogenética revelou cariótipo feminino 46,XX,por bandamento GTG em alta resolução. A análise citogenética molecular (FISH) utilizando a sonda CYTOCELL[®] detectou a deleção 7q11.23.

Fig. 9a - Metáfase em FISH mostra ausência do sinal rosa em um dos cromossomos 7 indicando a deleção do gene da elastina.

Fig. 9b. LNG (SAG: 5098) com 3 anos e 10 meses.

Caso 10

FJS (SAG: 5101-Fig.10b), sexo masculino, 4^o filho de pais não consangüíneos, mãe com 32 anos, pai com 26 anos, na época do nascimento, ocorrido em 24/04/1986. Nasceu de parto normal a termo com 3600g. Evoluiu com atraso DNPM e de aprendizagem. Sempre frequentou escola especial. Foi encaminhado ao ambulatório de Genética do HUB para investigação de deficiência mental, aos 3 anos e 5 meses e novamente aos doze anos de idade. Aos 12 anos é que foram realizados exames como tomografia computadorizada de crânio, ecocardiograma, e ecografia renal, todos com resultados normais. Foi enviado nos amostra de sangue para confirmar hipótese diagnóstica de SWB. A análise citogenética revelou cariótipo masculino 46,XY por bandamento GTG em alta resolução. A análise citogenética molecular (FISH) utilizando a sonda CYTOCELL[®] detectou a deleção 7q11.23.

Fig. 10a - Metáfase em FISH mostra ausência do sinal rosa em um dos cromossomos 7 indicando a deleção do gene da elastina.

Fig. 10b. FJS (SAG: 5101) com 12 anos.

Caso11

MJJKK (SAG: 5109-Fig.11b), sexo masculino, 2º filho de pais não consangüíneos, mãe 25 anos, e pai 31 anos, na época do nascimento, em 05/05/1994. Houve intercorrências durante a gestação como hemorragia, quadro febril, e trabalho de parto prematuro, que foi inibido. Nasceu de termo, de parto cesáreo, peso de 2870g, comprimento 45cm e PC de 35,5cm. Aos 21 dias apresentou pneumonia , e aos 3 meses foi submetido a herniorrafia inguinal e umbilical. Evoluiu com quadro freqüente de gastroenterocolite e cardiopatia. Sentou com apoio com 1a e 6 meses , falou as primeiras palavras com 2a e andou com 2 anos e 6 meses. Foi encaminhado ao SAG pela Associação Paulista de SWB aos 8 anos por apresentar ADNPM e fácies sugestiva de SWB. A tomografia computadorizada de crânio mostrou calcificação focal em região frontal E, e o ecocardiograma evidenciou estenose pulmonar leve. A análise citogenética revelou cariótipo masculino 46,XY, por bandamento GTG em alta resolução. A análise citogenética molecular (FISH) utilizando a sonda CYTOCELL[®] detectou a deleção 7q11.23.

Fig. 11a - Metáfase em FISH mostra ausência do sinal rosa em um dos cromossomos 7 indicando a deleção do gene da elastina.

Fig. 11b. MJKK (SAG: 5109) com 8 anos e 3 meses.

Caso 12

MAP (SAG: 5176-Fig.12b), sexo feminino, 1^o filha de pais não consangüíneos, nasceu em 12/12/94 de parto cesáreo com idade gestacional de 35 semanas, peso de 2.290g e comprimento de 42,5cm. Ficou em UTI devido pneumonia precoce. Segundo informação da mãe no 1^a semestre de vida evoluiu com sintomas de refluxo gastroesofágico, confirmado pelos exames subsidiários a criança chorava muito, não dormia bem e teve vários problemas de saúde como cólica, otite, meningite, e desidratação. Aos cinco meses realizou tomografia computadorizada de crânio com resultado normal. Andou com 1 ano e 6 meses e falou aos 2 anos. Foi feita a hipótese diagnóstica de SWB no Instituto Fernandes Figueira, Rio de Janeiro-RJ aos 2 anos de idade. Os pais procuraram o SAG por intermédio da Associação Paulista de SWB que enviou-nos amostra de sangue para confirmação do diagnóstico. A análise citogenética revelou cariótipo feminino 46,XX, por bandamento GTG em alta resolução. A análise citogenética molecular (FISH) utilizando a sonda CYTOCELL[®] detectou a deleção 7q11.23.

Fig. 12a - Metáfase em FISH mostra ausência do sinal rosa em um dos cromossomos 7 indicando a deleção do gene da elastina.

Fig. 12b. MAP (SAG: 5176) com 7 anos e 8 meses.

Caso 13

JCC (SAG: 5031-Fig.13b), nascida em 19/07/90, sexo feminino, 2ª filha de pais não consanguíneos, mãe com 18 anos de idade. A gestação ocorreu sem intercorrências. O nascimento foi a termo de parto cesáreo, com peso de 2.500g. Segundo informações da mãe firmou a cabeça com 6 meses, sentou sem apoio aos 10 meses, andou com 1 ano e 6 meses e falou com 3 anos. No primeiro ano de vida foi diagnosticado cardiopatia e dificuldade alimentar. Recebeu aleitamento materno até 4 anos, e vômitos e cólicas frequentes no 1º ano. Foi encaminhada ao Ambulatório de Genética Médica de São José do Rio Preto por deficiência mental e atraso escolar. Foi nos enviado amostra de sangue para confirmar hipótese diagnóstica de SWB. O exame de eletroencefalograma e a tomografia computadorizada de crânio revelaram-se normais, o Raio X de coluna cervical mostrou lordose cervical acentuada e ausência de costela cervical. No ecocardiograma foi evidenciado estenose aórtica supravalvar. A dosagem de cálcio sérico foi normal. A análise citogenética revelou cariótipo feminino 46,XX por bandamento GTG em alta resolução. A análise de citogenética molecular (FISH) utilizando a sonda CYTOCELL® detectou a deleção 7q11.23.

Fig. 13a- Metáfase em FISH mostra ausência do sinal rosa em um dos cromossomos 7 indicando a deleção do gene da elastina.

Fig. 13b. JCC (SAG: 5031) com 11 anos e 10 meses.

Caso 14

KCR (SAG: 4531-Fig.14b), nascida em 30/11/89, sexo feminino. A gestação do propósito foi sem intercorrências, nascimento a termo de parto cesáreo, com peso de 2650g, comprimento 46cm e perímetro cefálico 35,5cm. Segundo informação da mãe nasceu cianótica e teve parada respiratória logo após o nascimento. Sentou com 7 meses, falou com 1 ano e andou com 2 anos. É uma criança hiperativa, agressiva e apresenta atraso DNPM e emocional. Com 6 anos e 9 meses permaneceu internada por 27 dias para investigação diagnóstica após quadro febril acompanhado de dores na região pubiana diagnosticado: eritema nodoso + síndrome de WILLIAMS (?) + esofagite crônica exulcerativa inespecífica + cardiopatia + anorexia. Procurou o serviço de genética da UFES aos 6 anos e 11 meses para avaliação genética. Na segunda avaliação aos 10 anos, este centro enviou nos amostra de sangue para confirmar hipótese diagnóstica de SWB. A análise citogenética revelou cariótipo feminino 46,XX, por bandamento GTG em alta resolução. A análise citogenética molecular (FISH) utilizando a sonda CYTOCELL[®] detectou deleção 7q11.23.

Fig. 14a- Metáfase em FISH mostra ausência do sinal rosa em um dos cromossomos 7 indicando a deleção do gene da elastina.

Fig. 14b. KCR (SAG: 4531) com 6 anos.

Caso 15

BS (SAG: 5388-Fig.15b), sexo masculino, filha de pais não consangüíneos, mãe 38 anos, nasceu em 10/06/1993. Mãe teve processo alérgico durante a gravidez, ao ultra som o feto era pequeno e apresentava microcrania. Nasceu a termo de parto cesáreo, com peso de 2650g, comprimento 45cm. Segundo relato da mãe a criança apresentava dificuldade de sucção, problemas de alimentação e cólica. Com 20 dias foi diagnosticado hérnia inguinal e umbilical, aos 3 meses apresentou sopro cardíaco e aos 8 meses foi diagnosticado estenose da aorta e da artéria pulmonar. Firmou a cabeça com 1ano, sentou sem apoio com 1ano e 6meses, falou as primeiras palavras e andou com 2 anos e 6 meses. Foi encaminhado ao SAG pela Associação Paulista de SWB para confirmar diagnóstico clínico de SWB aos 9 anos. A análise citogenética revelou cariótipo feminino 46,XX, por bandamento GTG em alta resolução. A análise citogenética molecular (FISH) utilizando a sonda CYTOCELL[®] detectou a deleção 7q11.23.

Fig. 15a - Metáfase em FISH mostra ausência do sinal rosa em um dos cromossomos 7 indicando a deleção do gene da elastina.

Fig. 15b BS (SAG: 5388) com 9 anos.

Caso 16

IM (SAG: 4281-Fig.16b), sexo feminino, 1º filha de pais não consangüíneos, mãe com 31anos, e pai com 34 anos, na época do nascimento, em 30/01/96. A gestação do propósito foi sem intercorrências, nascimento a termo, de parto cesáreo, com peso de 3.300g, comprimento 49cm, e PC de 34,5cm. Segundo informação da mãe, firmou a cabeça com 1 mês, sentou sem apoio aos 8 meses, andou com 1 ano e 6 meses e falou com 2 anos e 6 meses. Durante a infância apresentou traqueomalácia, cólicas abdominais, vômitos, macroglossia, sialorréia e crises convulsivas após os 3 anos de idade fazendo uso de cabamazepina desde então. Foi encaminhada ao SAG aos 4 anos e 7 meses por apresentar sinais compatíveis com a síndrome de Williams-Beuren. A análise citogenética revelou cariótipo feminino normal 46,XX, por bandamento GTG em alta resolução. A análise de citogenética molecular (FISH) utilizando a sonda da VYSIS não detectou a deleção 7q11.23.

Fig. 16a- Metáfase em FISH mostra presença do sinal rosa nos cromossomos 7 indicando a não deleção do gene da elastina.

Fig. 16b. IM (SAG: 4281) com 4 anos e 7 meses.

Caso 17

MRFN (SAG: 3170-Fig.17b), sexo masculino, 2º filho de pais não consangüíneos, mãe com 34 anos, pai 33 anos na época do nascimento. Na gestação do propósito ocorreram algumas intercorrências como infecção urinária e hipertensão; nasceu em 26/8/93 de parto cesáreo prematuro de 36 semanas com peso de 2.800g, e comprimento 43cm. Segundo informação da mãe nasceu cianótico e evoluiu com distúrbio respiratório necessitando de oxigenoterapia por oito dias. Sentou sem apoio com 1ano e 2 meses andou com 1 ano. e 9 meses e falou com 3 anos e 5 meses. Durante a infância precisou de correção de hérnia inguinal e acompanhamento pela neuropediatria devido a hipotonia e ADNPM. Foi encaminhado ao SAG com 4 anos e 6 meses por apresentar alguns dismorfismos faciais e ADNPM. A avaliação de função renal e hepática solicitada aos 5 anos foi normal. A análise citogenética revelou cariótipo masculino normal 46,XYqh+, 22p+, por bandamento CBG e GTG em alta resolução. O cromossomo Y com braço longo (q) aumentado (+) e o cromossomo 22 com braço curto (p) aumentado (+) são variantes normais da população sem expressividade clínica. A análise de citogenética molecular (FISH) utilizando a sonda da CYTOCELL não detectou a deleção 7q11.23.

Fig. 17a - Metáfase em FISH mostra presença do sinal rosa nos cromossomos 7 indicando a não deleção do gene da elastina.

Fig. 17b. MRFN (SAG: 3170) com 4 anos e 6 meses.

Caso 18

MFS (SAG: 2163-Fig.18b), sexo feminino, 3^a filha de pais não consangüíneos, mãe 26 anos, pai 24 anos, na época do nascimento, em 15/02/1991. A gestação do propósito foi sem intercorrências, mas evoluiu para trabalho de parto prematuro. Nasceu de parto normal prematura e hipotônica, com peso de 2900g, comprimento de 49cm. Andou com 2 anos e 6 meses e falou com 3 anos e 8 meses. Durante a infância apresentou pneumonia e quadros de dificuldade respiratória. Foi encaminhada ao SAG por apresentar ADNPM e distorções faciais. Seu exame bioquímico evidenciou cálcio no limite superior. A análise citogenética revelou cariótipo feminino normal 46,XX, por bandamento GTG em alta resolução. A análise citogenética molecular (FISH) utilizando a sonda da VYSIS[®] não detectou a deleção 7q11.23.

Fig. 18a - Metáfase em FISH mostra presença do sinal rosa nos cromossomos 7 indicando a não deleção do gene da elastina.

Fig. 18b. MFS (SAG: 2163) com 4 anos e 9 meses.