

Avaliação de perdas e ganhos de DNA na região 7q11.23 em indivíduos com diagnóstico clínico de síndrome de Williams-Beuren e FISH negativo.

Letícia Cassimiro Batista

BOTUCATU-SP

2019



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
"JÚLIO DE MESQUITA FILHO"
Campus de Botucatu



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
"Julio de Mesquita Filho"
INSTITUTO DE BIOCIÊNCIAS DE BOTUCATU

Avaliação de perdas e ganhos de DNA na região 7q11.23 em indivíduos com diagnóstico clínico de síndrome de Williams-Beuren e FISH negativo

Letícia Cassimiro Batista

Orientador: Prof. Dr. Danilo Moretti Ferreira

Dissertação apresentada ao Instituto de Biociências, Câmpus de Botucatu, UNESP, para obtenção do título de Mestre no Programa de PósGraduação em Ciências Biológicas (Genética)

BOTUCATU-SP

2019

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA SEÇÃO TÉC. AQUIS. TRATAMENTO DA INFORM.
DIVISÃO TÉCNICA DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO - CÂMPUS DE BOTUCATU - UNESP
BIBLIOTECÁRIA RESPONSÁVEL: ROSEMEIRE APARECIDA VICENTE-CRB 8/5651

Batista, Leticia Cassimiro.

Avaliação de perdas e ganhos de DNA na região 7q11.23 em indivíduos com diagnóstico clínico de síndrome de Williams-Beuren e FISH negativo / Leticia Cassimiro Batista. - Botucatu, 2019

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", Instituto de Biociências de Botucatu

Orientador: Danilo Moretti Ferreira
Capes: 20205007

1. Williams, Síndrome de - Aspectos genéticos. 2. Dano ao DNA. 3. Hibridização in situ. 4. Diagnóstico.

Palavras-chave: Deleção 7q11.23; FISH (-); Síndrome de Williams-Beuren.

DEDICATÓRIA

Aos meus pais Ademir e Dulce, por todo o esforço realizado para que nunca me faltasse nada, por entenderem minhas escolhas e sempre me incentivarem; por toda paciência e carinho que sempre me dedicaram. Vocês são meus maiores exemplos de vida e dedicação. Amo muito vocês!

AGRADECIMENTO

À Deus, por conceder-me paz e sabedoria para conduzir este trabalho;

Aos pacientes e seus familiares, por aceitarem participar deste estudo. Sem vocês este projeto não seria realizado;

Ao Prof. Dr. Danilo Moretti-Ferreira, meu orientador. Obrigada pela carinho, paciência, orientações, suporte, confiança e incentivo em todos os momentos e muito obrigada pelo carinho, dedicação, observação e pela amizade construída;

A Dr. Deise Helena de Souza pela amizade, carinho e ensinamentos que foram importantíssimos para a realização deste projeto;

Ao Dr. Bruno Gamba, por todos os ensinamentos, conversas, observações e cuidado, além do auxílio na técnica de estudo molecular deste projeto;

À Profa.Dra. Lucilene Arilho Ribeiro-Bicudo e Dr. Bruno Gamba pelo rigor na análise e nas orientações durante a qualificação.

À Rosana Bicudo pela disponibilidade, ensinamento e carinho no laboratório.

Aos professores e alunos do Laboratório de Genética e Molecular- UFG, Goiânia, por permitir que o desenvolvesse de parte deste trabalho, além de toda a acolhida e carinho durante o curto tempo que passei lá.

À ABSW e demais centro de genéticas, e seus professores, funcionários e colaboradores, por tornar este trabalho possível;

Aos meus amigos e familiares pela amizade, pela compreensão, pelo incentivo e pela ajuda nos momentos em que mais precisei.

Aos familiares ausentes, que em todos os momentos estiveram presentes em meu coração e seus ensinamentos em vida sempre me acompanharam;

À CAPES, pela bolsa de estudos concedida;

À todos que me ajudaram neste trabalho;

Muito obrigadaa!!

***“A conquista é um acaso que talvez dependa
mais das falhas dos vencidos
do que do gênio do vencedor.”***

(Madame de Staël)

SUMÁRIO

LISTA DE FIGURAS

LISTA DE TABELAS

ABREVIATURAS

LISTA DE SÍMBOLOS

LISTA DE SIGLAS

RESUMO

ABSTRACT

1. INTRODUÇÃO	13
1.1. Características genéticas	14
1.2. Diagnóstico clínico e laboratorial	17
2. OBJETIVOS.....	22
2.1. Geral.....	22
2.1.1. Específico	22
3. MATERIAIS E MÉTODOS	23
3.1. Casuística	23
3.2. Aspectos éticos	23
3.3. Avaliação clínica	24
3.4. Análise Molecular	24
3.4.1. Obtenção do DNA genômico.	24
3.4.2. Amplificação multiplex de sondas dependentes de ligação (MLPA)	25
4. RESULTADOS	27
5. DISCUSSÃO e CONCLUSÕES	35

6. ARTIGO.....	41
7. REFERÊNCIAS	58
8.ANEXOS.....	67
8.1. Anexo I. Ficha de Anamnese.....	67
8.2. Anexo II. Aprovação do Comitê de Ética e Pesquisa.	76
8.3. Anexo III. Termo de Consentimento Livre e Esclarecido para menores de 18 anos.	81
8.4. Anexo IV. Termo de Consentimento Livre e Esclarecido para maiores de 18 anos.	84
8.5. Anexo V. Termo de Assentimento para maiores de 12 anos.	87
8.6. Anexo VI. Ficha com as principais características da SWB.	90
8.7. Anexo VII. Tabela das Sondas do Kit SALSA MLPA P029-C1 <i>WBS probemix</i> , lote C1 0517.....	92
8.8. Anexo VIII. Fotos do grupo de estudo.....	95
8.9. Anexo IX. Perfil Clínico do grupo de estudo.....	97
8.10. Anexo X. Tabela com as características clínicas dos pacientes dos artigos com deleções atípicas.....	108
8.11. Anexo XI. Tabela com as características genéticas dos pacientes dos artigos com deleções atípicas.....	121

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Visualização gráfica da região 7q11.23 deletada na síndrome de Williams-Beuren.	13
Figura 2 – Localização das sondas do kit 029.....	22
Figura 3- Localização das deleções atípicas encontradas nos pacientes da literatura.....	29 e 30

LISTA DE TABELAS

Tabela 1- Tabela com as frequências das principais características clínicas avaliadas na presente casuística e a frequência e (%) nos casos observados na literatura de SWB FISH (-)	24 e 25
Tabela 2- Tabela com as frequências das principais características clínicas observadas na revisão da literatura dos casos de deleções atípicas.	27 e 28

LISTA DE ABREVIATURAS

et al.

e outros

LISTA DE SÍMBOLOS

Mb	megabase (s)
mL	mililitro
ng/μL	nanograma por microlitro
pb	pares de bases
μL	microlitro
°C	graus Celsius
<	menor que
%	porcentagem
~	aproximadamente
(-)	negativo e/ou ausência
(+)	positivo e/ou presente
(X)	sem informação

LISTA DE SIGLAS

AAP	associação americana de pediatria
ABSW	associação brasileira da síndrome de Williams
aCGH	<i>microarray-based Comparative Genomic Hybridization</i> (array-CGH)
ADNPM	atraso do desenvolvimento neuropsicomotor
AMC	análise de microarranjos cromossômicos
ATP	adenosina trifosfato
AVC	acidente vascular cerebral
CMA	microarranjos de alta densidade
CNV	variação do número de cópias (<i>copy number variation</i>)
CEP	comitê de ética em pesquisa
CIA	comunicação interatrial
CIV	comunicação interventricular
DNA	ácido desoxirribonucleico
DGV	<i>Database of Genomic Variations</i>
DECIPHER	<i>Database of Genomic Variation and Phenotype in Humans using Ensembl Resources</i>
EAP	estenose da artéria pulmonar
EASV	estenose aórtica supra-valvar
EDTA	ácido etileno diamino tetra-acético
FCM	Faculdade de Ciências Médicas
FISH	Hibridação in situ por fluorescência (<i>Fluorescence in situ hybridization</i>)
FMB	Faculdade de Medicina de Botucatu
HLH	hélice-alça-hélice
MLPA®	amplificação de sondas multiplex dependente de ligação
LCR	sequências de baixo número de cópias (<i>low copy repeats</i>)
mRNA	RNA mensageiro
NAHR	recombinação alélica não homologa (<i>non allelic homologous recombination</i>)

NADPH	nicotinamida adenina dinucleótido fosfato
NGS	<i>new generation sequencing</i> (sequenciamento de nova geração)
NPC	complexo de poros nucleares
PCR	reação em cadeia da polimerase (<i>polymerase chain reaction</i>)
QI	quociente de inteligência
RCSWB	região crítica da síndrome de Williams-Beuren
RFC	fator de replicação C
RNA	ácido ribonucleico
RN	recém-nascido
SAG	serviço de aconselhamento genético
SDs	duplicações segmentais
SNG	sequenciamento de nova geração
SWB	síndrome de Williams-Beuren
TCLE	termo de consentimento livre e esclarecido
UCSC	<i>University of California Santa Cruz</i>
UNESP	Universidade Estadual Paulista
UNICAMP	Universidade de Campinas
WBS	<i>Williams-Beuren syndrome</i>
WSCP	<i>Williams-Beuren syndrome cognitive profile</i>

RESUMO

A síndrome de Williams-Beuren (SWB) é uma doença genética caracterizada por dismorfismos faciais, anomalias cardiovasculares, deficiência intelectual e perfil cognitivo típico. A SWB é causada por uma microdeleção hemizigótica da região cromossômica 7q11.23, de ~1,5Mb a 1,8Mb de genes de cópias únicas e deleções maiores ou menores que esses limites são considerados deleções atípicas. O objetivo do trabalho foi detectar perdas ou ganhos de DNA por meio da técnica de MLPA na região crítica da SWB em pacientes com diagnóstico clínico estabelecido pela pontuação de escore da AAP, (2001) e com exame de FISH (-) realizado anteriormente pelo nosso grupo de pesquisa, e assim correlacionar os achados de perdas ou ganhos de DNA com os já descritos na literatura e correlaciona-los aos fenótipos/genótipo descritos em bancos de dados público como DVG, DECIPHER, UCSC Genome Browser dentre outros. Foram selecionados 30 indivíduos com hipótese diagnóstica de SWB e análise citogenética negativa para SWB estabelecida pela técnica da FISH. O diagnóstico clínico de SWB “clássica” foi estabelecido pelo escore da Academia Americana de Pediatria (2001). Foi realizada a extração de DNA das amostras e foi aplicada a técnica de MLPA com o kit SALSA P029 (MRC-Holland, Amsterdam, The Netherlands) com sondas específicas para os principais genes encontrados na região crítica da SWB. Nesta amostra predominou o sexo masculino (2M:1F) e a idade do 1º atendimento foi tardia (mediana 9,5 anos). A casuística apresentou as características faciais que determinam a face considerada como típica na SWB. Apenas 11/30 pacientes apresentavam cardiopatia, e desses apenas 2/11 apresentavam a estenose aórtica supravalvar. Das alterações gastrointestinais as mais frequentes foram as dificuldades alimentares e constipação. As características que compõem o perfil cognitivo típico da SWB as mais frequentes foram: hiperatividade, loquacidade, sociabilidade excessiva e deficiência intelectual. Apesar da casuística apresentar características típicas da SWB a análise molecular pela técnica de MLPA não detectou nenhuma perda ou ganho de DNA na região crítica da SWB. A técnica pode não ter detectado nenhuma perda ou ganho de DNA, porque as alterações podem estar presentes em regiões que não são cobertas pelas sondas presentes no kit comercial P029-C1. Assim, para os casos com diagnóstico clínico de SWB e FISH (-), sugerimos o uso de outras técnicas como o array-CGH ou NGS. Foi realizado o Aconselhamento genético dos familiares, informando esses resultados e comunicando-lhes que o estudo prosseguirá com aplicações de outras metodologias laboratoriais subsidiárias ao diagnóstico clínico do paciente.

ABSTRACT

Williams-Beuren Syndrome (WBS) is a genetic disorder characterized by facial dysmorphisms, cardiovascular anomalies, intellectual disability and typical cognitive profile. WBS is caused by a hemizygous microdeletion of the 7q11.23 chromosomal region, ~ 1.5Mb to 1.8Mb of single copy genes, and deletions larger or smaller than those limits are considered atypical deletions. The objective of this study was to detect DNA loss or gain by MLPA technique in the critical region of SWB in patients with clinical diagnosis established by AAP score (2001) and with FISH (-) examination previously performed by our search group, and thus correlate the findings of DNA loss or gain with those already described in the literature and correlate them with the phenotypes / genotype described in public databases such as DVG, DECIPHER, UCSC Genome Browser and others. Thirty individuals with diagnostic hypothesis of WBS and negative cytogenetic analysis for WBS established by the FISH technique were selected. The clinical diagnosis of “classic” WBS was established by the American Academy of Pediatrics score (2001). DNA extraction from the samples was performed and the MLPA technique was applied with the SALSA P029 kit (MRC-Holland, Amsterdam, The Netherlands) with probes specific for the major genes found in the critical region of the SWB. In this sample, the male gender predominated (2M: 1F) and the age of the first attendance was late (median 9.5 years). The sample presented the facial characteristics that determine the face considered as typical in WBS. Only 11/30 patients had heart disease, and of these only 2/11 had supralvalvular aortic stenosis. The most frequent gastrointestinal alterations were eating difficulties and constipation. The most frequent characteristics that make up the typical SWB cognitive profile were: hyperactivity, loquacity, excessive sociability and intellectual disability. Although the sample presents typical WBS characteristics, molecular analysis by MLPA technique did not detect any DNA loss or gain in the critical WBS region. The technique may not have detected any DNA loss or gain because the changes may be present in regions that are not covered by the probes in the commercial kit P029-C1. Thus, for cases with clinical diagnosis of WBS and FISH (-),

we suggest the use of other techniques such as array-CGH or NGS. Genetic counseling of the relatives was carried out, informing these results and informing them that the study will continue with the application of other subsidiary laboratory methodologies to the clinical diagnosis of the patient.

1. INTRODUÇÃO

A síndrome de Williams-Beuren (SWB; OMIM 194050) foi descrita de maneira independente, por Williams *et al.*, 1961 e por Beuren *et al.*, 1962; é uma doença genética com alterações do neurodesenvolvimento multissistêmico complexo, caracterizada por dismorfismos faciais, anomalias cardiovasculares, deficiência mental e de crescimento, além de possuir um perfil cognitivo típico, apresentando ansiedade e sociabilidade excessiva (AAP, 2001; MORRIS *et al.*, 1988). A SWB acomete 1/7.500 nascidos vivos, está presente em todas as comunidades mundiais e etnias e acomete ambos os sexos indistintamente (STROMME; BJORNSTAD; RAMSTAD, 2002; KRUSZKA *et al.*, 2018).

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 tornam-se evidentes. Entretanto, a grande variabilidade fenotípica nessa síndrome muitas vezes dificulta e atrasa o diagnóstico clínico.

A afecção é causada pela deleção hemizigótica de aproximadamente 1,5Mb a 1,8Mb de genes contíguos na região do braço longo do cromossomo 7 (7q11.23) (EWART *et al.*, 1993). Essa deleção engloba 28 genes de cópias únicas, dentre os quais se destaca o gene da elastina (*ELN*). Este gene codifica a proteína elastina, componente fundamental das fibras elásticas do tecido conjuntivo, sendo que a haploinsuficiência do mesmo apresenta correlação a várias características encontradas na SWB, como as cardiopatias congênitas, alterações faciais, voz rouca, envelhecimento precoce, hérnias e contraturas ou frouxidão das articulações (EWART *et al.*, 1993; AAP, 2001). As outras características clínicas da síndrome, como o perfil cognitivo típico tem sido associado à haploinsuficiência de outros genes presentes na região, como *LIMK1*, *GTF2IRD1* e *GTF2I*, pelos estudos envolvendo pacientes com deleções atípicas, que são deleções maiores ou menores que 1.5 Mb e 1.8 Mb (HIROTA *et al.*, 2003; MORRIS *et al.*, 2003; DELGADO *et al.*, 2013).

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; SUGAYAMA *et al.*, 2003; SOUZA *et al.*, 2007).

As deleções atípicas são aquelas menores ou maiores que as deleções típicas, os pacientes portadores dessas deleções apresentam na maioria dos casos apenas algumas características do perfil clínico típico da SWB, como facies típicas, cardiopatias congênitas e perfil cognitivo. Portanto, a identificação de pacientes com as deleções atípicas é de grande relevância pois fornece informações para a correlação genótipo-fenótipo da SWB (DELGADO *et al.*, 2013). As deleções atípicas podem ser detectadas por técnicas como MLPA (*Multiplex ligation-dependent probe amplification*), qPCR (*quantitative real-time PCR*) (HOWALD *et al.* 2006; VAN HAGEN *et al.*, 2007; LAURITO *et al.*, 2013; HONJO *et al.*, 2015), NGS (*New generation sequencing*) e aCGH (YAGIHASKI *et al.*, 2014; STREATÃ *et al.*, 2016).

1.1.Características genéticas

A região crítica da síndrome de Williams Beuren (RCWB), em 7q11.23, possui uma arquitetura genômica complexa e a região de genes de cópia única possui em torno de 1,2 Mb; que está ligada a duas regiões repetitivas, repetições de cópias baixas (*LCR – Low Copy Repeats*), conhecidas também como duplicações segmentais (*SDs*) (SCHUBERT, 2009). As *LCRs* estão divididas em 3 blocos: A, B e C; que estão organizados em segmentos centromérico, medial e telomérico, e representam o substrato para a ocorrência de *crossing-over* durante a divisão meiótica (INOUE; LUPSKI, 2002), como apresentado na Figura 1. As *LCRs* são compostas tanto por genes quanto por pseudogenes (HOBART *et al.*, 2010).

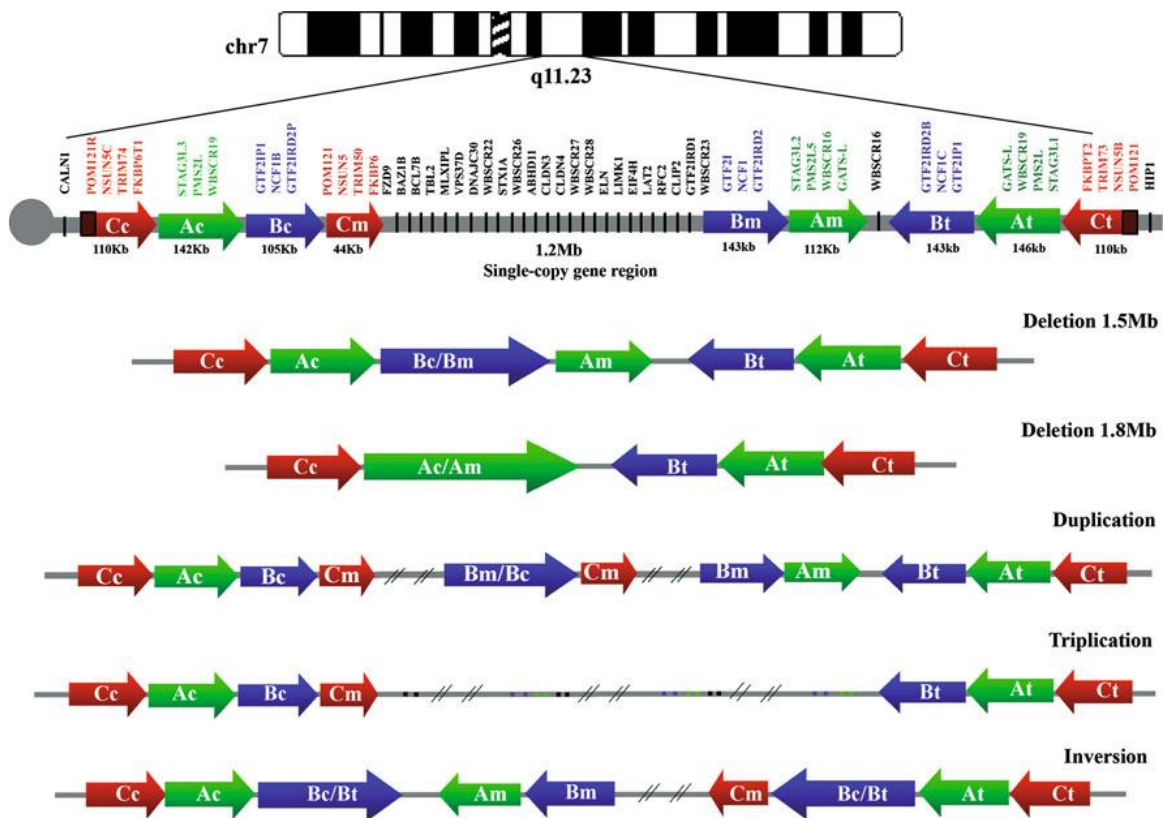


Figura 1. Visualização gráfica da região 7q11.23 deletada na síndrome de Williams-Beuren. A localização e orientação dos blocos LCRs (A, B e C) centromérico (c), médios (m) e teloméricos (t) estão indicados por setas coloridas, nota-se que os genes estão representados nos blocos apenas uma vez. Abaixo, as deleções típicas de 1,5Mb e 1,8Mb estão representadas com pontos de quebra dentro dos blocos B centromérico e B medial e blocos A centromérico e A medial, respectivamente. Logo abaixo há a duplicação dos blocos de LCRs B medial, B centromérico e C medial; há também a representação da triplicação. Por último há a representação da inversão dos blocos A medial, B medial, C medial e B telomérico (Revisto e modificado de MERLA *et al.*, 2010).

As LCRs possuem uma alta similaridade de sequências homólogas o que leva à predisposição para a ocorrência de um pareamento não homólogo entre blocos diferentes (*non allelic homologous recombination* - NAHR). Caso ocorra uma recombinação neste NAHR acarretará em uma deleção em uma cromátide e duplicação da região na outra cromátide, (OSBORNE *et al.*, 2001; LUPSKI, 2009). Cerca de 95% dos pacientes com diagnóstico clínico de SWB apresentam uma deleção de ~ 1,5 Mb causada por uma recombinação meiótica desigual entre os blocos B-centromérico e B-medial, ~ 3–5% exibem uma deleção de ~ 1,8 Mb entre os blocos A-centromérico e A-medial, deleções maiores ou

menores que esses limites são consideradas atípicas e já foram descritas na literatura, porém com frequências baixas (<2%) (KORENBERG *et al.*, 2000; BAYÉS *et al.*, 2003; SCHUBERT; LACCONE, 2006; SCHUBERT, 2009) (Figura 1).

A SWB é considerada uma síndrome esporádica pois a deleção tem ocorrência *de novo* (ANTONELL *et al.*, 2006). Casos familiares onde um dos genitores é afetado e tiveram filho afetado (risco de 50%) já foram relatados (MORRIS; THOMAS; GREENBERG, 1993). Não existe predominância de origem parental (DUTLY; SCHINZEL, 1996; PÉREZ JURADO *et al.*, 1996; ROBINSON *et al.*, 1996; URBAN *et al.*, 1996; BAUMER *et al.*, 1998; BAYÉS *et al.*, 2003; THOMAS *et al.*, 2006;).

A ocorrência da deleção pode também ser devido à presença em um dos genitores de uma inversão paracêntrica hemizigótica na RCSWB, que pode levar ao pareamento desequilibrado dos cromossomos, devido a erro de pareamento entre *LCRs* de uma mesma cromátide ou cromossomo (OSBORNE *et al.*, 2001; BAYÉS *et al.*, 2003; SCHUBERT, 2009; HOBART *et al.*, 2010). Assim, um genitor portador da inversão tem um risco aumentado em relação a população de ter um filho com a SWB, com uma frequência de aproximadamente 5,4 vezes maior do que a observada na ausência da inversão (HOBART *et al.*, 2010).

Os genes envolvidos na deleção foram definidos através de marcadores de microssatélite em indivíduos portadores de SWB (PÉREZ JURADO *et al.*, 1996). Na região comumente deletada já foram identificados 28 genes, entretanto, a correlação genótipo-fenótipo das manifestações na SWB ainda não foi totalmente esclarecida para todos os genes deletados.

Dos 28 genes da RCSWB, o único gene cuja a correlação genótipo-fenótipo foi estabelecido é o gene da elastina (*ELN*). A haploinsuficiência do *ELN* é inequivocamente responsável pelos problemas cardiovasculares e outras anormalidades do tecido conjuntivo de pacientes com SWB (EWART *et al.*, 1993). A elastina forma as fibras elásticas da matriz extracelular do tecido conjuntivo por todo o corpo, além de regular a proliferação de células musculares lisas vasculares. A haploinsuficiência da elastina resulta em arteriopatias envolvendo artérias de médio e grande calibre, levando ao estreitamento da luz. A

hipertensão é observada comumente em pacientes com SWB com e sem estenose da artéria renal (BRODER *et al.*, 1999; GIORDANO *et al.*, 2001), e sua etiologia ainda é motivo de debate. Entretanto, a patogênese da arteriopatia na SWB pode ser mais complexa e possivelmente relacionado a outros genes na região crítica da SWB.

1.2. Diagnóstico clínico e laboratorial

Os portadores da SWB apresentam alterações nas características físicas e no comportamento. As características faciais típicas incluem microcefalia, fronte ampla, estreitamento bitemporal, edema periorbital, estrabismo, íris estrelada, sobrancelhas largas, ponte nasal baixa, nariz curto e arrebitado, hipoplasia malar, filtro nasal longo, orelhas em abano, bochechas proeminentes, queixo pequeno, micrognatismo, macrostomia e lábio inferior volumoso (WILLIAMS; BARRAT-BOYERS; LOWE, 1961; BEUREN; APITZ; HARMJANZ, 1962; MORRIS *et al.*, 1988). Os pacientes também apresentam alterações dentárias, sendo a maloclusão a mais frequente, (POBER, 2010). Nas crianças é mais evidente as pregas epicânticas, bochechas proeminentes e dentes pequenos e espaçados, enquanto nos adultos é mais evidente a face e o pescoço longo e os ombros caídos (MORRIS, 2018).

Dentre as anomalias cardiovasculares envolvidas na síndrome as mais frequentes (70% a 80%) são arteriopatias, que pode afetar qualquer artéria (MORRIS *et al.*, 1988). Das arteriopatias, a mais comum e grave é a estenose aórtica supra-valvar (EASV) (75%)(MORRIS, 2018). A estenose da artéria pulmonar (EAP), embora menos frequente, é mais comum na infância e geralmente melhora com o tempo (MORRIS, 2018). Os problemas cardíacos representam a maior parte da morbidade e mortalidade da SWB, que pode ser decorrentes de infarto do miocárdio, acidente vascular cerebral (AVC) e morte súbita (WESSEL *et al.*, 2004).

As alterações no tecido conjuntivo se apresentam no perfil facial, voz rouca, presença de hérnias (umbilical ou inguinal), frouxidão das articulações e anomalias cardiovasculares (MORRIS, 2018). As alterações musculoesqueléticas são observadas nas crianças como hipotonia e frouxidão das articulações, enquanto nos adolescentes e adultos há hipertonía e

contratura das articulações(KAPLAN *et al.*, 1989; MORRIS *et al.*, 1990; LOPEZ-RANGEL *et al.*, 1992).

Na primeira infância, as crianças podem apresentar refluxo gastro-esofágico, vômitos, dificuldade em se alimentar, dores abdominais, cólicas prolongadas, constipação e as alterações endócrinas, como a hipercalcemia idiopática infantil transitória, detectável no primeiro ano de vida presente em 6 a 15% (MORRIS *et al.*, 1988; FERRERO *et al.*, 2007).

Os pacientes com SWB possuem um padrão próprio de crescimento, tendo como características deficiência de crescimento pré-natal e baixo ganho de peso, principalmente nos primeiros 4 anos. As cólicas e a dificuldade para se alimentar levam a uma nutrição deficiente que resulta em baixo peso e interfere no crescimento, assim foram desenvolvidas curvas de crescimento e peso específicos para as crianças com a síndrome (AAP, 2001). Há deficiência de crescimento pós-natal é observada nos primeiros 4 anos de vida, após esse período o ganho de peso e o crescimento linear podem melhorar na infância, entretanto no adulto a estatura ainda é considerada baixa (MORRIS *et al.*, 1988).

A deficiência intelectual é de intensidade leve a moderada e está presente em 75% dos afetados, com quociente de inteligência (QI) em torno de 50-60 (SMOOT *et al.*, 2005). Indivíduos com SWB possuem perfil cognitivo específico com um padrão característico de debilidades e habilidades. As áreas que apresentam maiores debilidades são a construção visoespacial e as habilidades motoras finas, na escrita e em algumas atividades escolares como matemática (SMOOT *et al.*, 2005). Já as áreas com maiores habilidades estão relacionadas a linguagem, reconhecimento e memorização facial e o talento musical (POBER, 2010). Os portadores da síndrome possuem um perfil comportamental e de personalidade característico, sendo extremamente sociáveis e extrovertidos (SMOOT *et al.*, 2005). Além disso, a maioria apresenta déficit de atenção, hiperatividade, ansiedade, empatia excessiva, hiperacusia e distúrbios do sono (AAP, 2001).

Embora as manifestações clínicas na SWB sejam conhecidas, elas podem ser sutis a ponto de mascarar o diagnóstico e podem não se manifestar no início da vida tornando o diagnóstico mais difícil. Algumas das causas da dificuldade do diagnóstico podem ser: 1) as características faciais típicas podem não ser óbvias no nascimento, mas podem se tornar mais

evidentes com o tempo; 2) embora os bebês tenham sintomas que podem estar relacionados à hipercalcemia, os sintomas não são específicos e a dosagem de cálcio sérico não é realizada de rotina; 3) os atrasos no desenvolvimento são frequentemente atribuídos aos problemas crônicos, e o tamanho pequeno e as características faciais infantis das crianças com SWB contribuem para fazer com que os pacientes pareçam mais novos do que sua idade cronológica (MORRIS *et al.*, 1988). Em um estudo realizado pelo nosso grupo por Souza *et al.*, 2007, as crianças com SWB tiveram um diagnóstico tardio (com mais de sete anos) e apenas três delas foram identificadas com idade abaixo de três anos, todas com graves cardiopatias congênitas, corroborando assim o estudo de Morris *et al.*, 1988, onde a idade média do diagnóstico foi de 6,4 anos.

O diagnóstico clínico é confirmado pela técnica da FISH considerada “padrão ouro” mas devido seu alto custo foram elaborados sistemas de pontuação para auxiliar os pediatras no diagnóstico clínico da SWB e na indicação do teste da FISH. Os sistemas são baseados nos aspectos clínicos apresentados pelos pacientes, onde as características recebem pontuações segundo as referências de: Lowery *et al.*, (1995); Academia Americana de Pediatria (AAP, 2001); e Sugayama *et al.*, (2007).

Os três sistemas de pontuação foram avaliados em nosso grupo por Leme *et al.*, (2013) que encontram entre eles uma alta sensibilidade e baixa especificidade, além de demonstrar que a SWB pode ser diagnosticada clinicamente usando qualquer um dos sistemas avaliados. E assim, o uso da FISH em combinação com a avaliação clínica pode ajudar a estabelecer o diagnóstico mais preciso e específico.

A literatura e a experiência laboratorial têm demonstrado que 96% dos casos com diagnóstico clínico de SWB possuem FISH positivo (BAYÉS *et al.*, 2003; SCHUBERT; LACCONE, 2006; SOUZA *et al.*, 2007; SCHUBERT, 2009). Desta forma 4% de pacientes com o fenótipo clínico de síndrome de Williams não possuem a confirmação do diagnóstico laboratorial clássico para esta afecção. Isso pode ocorrer devido:

- A microdeleção ser do tipo atípica na região crítica da SWB não envolvendo o gene da elastina (ELN) (PANI *et al.*, 2010)
- Ter ocorrido mutação de ponto em genes da região crítica da SWB.

- Deleções ou mutações em outras regiões do genoma apresentando fenocópias da SWB.
- Diagnóstico clínico errôneo.

Em vista disso, novas técnicas de citogenética moleculares com maior poder de resolução têm sido utilizadas, como a amplificação multiplex de sondas dependentes de ligação (MLPA), microarranjos de alta densidade (arrayCGH) e sequenciamento de nova geração (SNG); possibilitando a detecção de alterações genéticas complexas que a técnica da FISH não foi capaz de identificar.

A MLPA é uma técnica de varredura genômica de alto rendimento, permitindo detectar alterações (perdas e ganhos) no número de cópias (CNVs) em até 50 sequências de DNA genômico alvo em uma única reação e também constatar rearranjos que não foram observados na análise padrão, sendo aplicada a ensaios específicos. As vantagens da técnica são a facilidade e rapidez na detecção de deleções, deleções atípicas e duplicações presentes no genoma e suas desvantagens estão na incapacidade de detectar rearranjos balanceados, mosaicismo em baixo grau e a sensibilidade em relação à qualidade do DNA utilizado (KOZLOWSKI; JASINSKA; KWIATKOWSKI, 2008).

Van Hagen *et al.*, 2007 confirmaram a eficácia da MLPA quando compararam a técnica com a FISH e dentre 63 pacientes com SWB, 52 tiveram a confirmação do diagnóstico com as duas técnicas, 10 pacientes não apresentaram a deleção em ambas as técnicas e um apresentou uma deleção atípica não detectada pela técnica da FISH, mas detectada pela técnica de MLPA. A técnica de MLPA foi utilizada por LAURITO *et al.*, 2013 para confirmar o diagnóstico clínico de um paciente com SWB na Argentina, comprovando a eficiência da técnica. Um grupo de pesquisadores espanhóis descobriram um novo ponto de quebra, entre os genes *LIMK1* e *EIF4H*, em três pacientes independentes. Esse rearranjo compartilhado pelos três pacientes foi revelado por um estudo de array-CGH e confirmado pela técnica de MLPA a qual detectou perdas e ganhos de genes importantes na RCSWB (PLAJA *et al.*, 2015). Um estudo realizado por Honjo *et al.*, (2015) analisaram 55 pacientes com SWB, dentre eles 2 possuíam resultado da FISH (-) e foram confirmados pela MLPA; os dois casos foram reavaliados pelo nosso grupo e revelaram na verdade serem FISH (+) (dados não publicados).

A técnica de array-CGH também tem sido uma poderosa ferramenta na detecção de microdeleções e identificação de novas anormalidades citogenéticas, embora esse método seja demorado e custoso dependendo da plataforma utilizada (SNIJDERS *et al.*, 2001; SHAFFER; BEJJANI, 2004).

2. OBJETIVOS

2.1. Geral

Detectar perdas ou ganhos de DNA por meio da técnica de MLPA na região crítica da SWB em pacientes com diagnóstico clínico estabelecido pela pontuação de escore da AAP, (2001) e com exame de FISH (-) realizado anteriormente pelo nosso grupo de pesquisa.

2.1.1. Específico

Correlacionar os achados de perdas ou ganhos de DNA com os já descritos na literatura e correlaciona-los aos fenótipos/genótipo descritos em bancos de dados público como DVG, DECIPHER, UCSC Genome Browser dentre outros.

3. MATERIAIS E MÉTODOS

3.1. Casuística

Foram selecionados 30 indivíduos com hipótese diagnóstica de SWB, sendo a maioria encaminhados pela Associação Brasileira de Síndrome de Williams (ABSW), São Paulo- SP (21), e os demais foram enviados por outros centros de genética, como o Hospital de Base da Faculdade de Medicina de São José do Rio Preto-SP (5); Universidade Federal do Rio de Janeiro-RJ (1); Conjunto Hospitalar de Sorocaba (1); Departamento de Genética Médica-FCM/UNICAMP (2).

Todos pacientes passaram por avaliações genético-clínicas e foi proposto aos pais participarem desta pesquisa. Após os responsáveis terem sido esclarecidos sobre a pesquisa e assinarem o termo de consentimento livre esclarecido em duas vias, os pacientes foram fotografados e o sangue foi coletado para a realização da técnica da FISH e extração do DNA. Para os pacientes encaminhados dos outros centros de genética foi solicitado o envio das amostras de sangue para realização da FISH e extração de DNA, juntamente com tabela de sinais clínicos preenchidos pelos geneticistas desses centros, além de fotografias e os termos de consentimento livre esclarecido assinado pelos pais ou responsáveis.

Critérios de inclusão

- Diagnóstico clínico para a SWB, estabelecido pela classificação de escore clínico $AAP \geq 3$ com base na ficha de anamnese genético-clínico do paciente (ANEXO I);
- Análise citogenética negativa para SWB estabelecida pela técnica da FISH com sondas para a região da síndrome envolvendo o gene da *ELN* segundo protocolo dos fabricantes (CYTOCELL®, VYSIS® e LIVE®).

Critérios de exclusão

- Contrapor-se à participação no estudo, não assinando o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE).

3.2. Aspectos éticos

O projeto possui aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) da Faculdade de Medicina de Botucatu (FMB-UNESP), sendo este o número de primeiro parecer: 2.370.344 (ANEXO II).

O Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE) com todas as informações necessárias sobre o estudo foi fornecido aos responsáveis quando o paciente era menor de 18 anos (ANEXO III) e aos próprios pacientes quando eram maiores de 18 anos (ANEXO IV). Aos pacientes maiores de 12 anos um termo de assentimento também apresentado com todas as informações compatíveis com a idade do paciente (ANEXO V). Uma vez aceita a participação no estudo, os termos foram assinados em duas vias, uma ficando com os responsáveis pela pesquisa e a outra com os pacientes ou responsáveis. Como o diagnóstico clínico é baseado na classificação do escore clínico AAP, é necessário o uso de imagens dos pacientes, com possibilidade futura de publicação. Em vista disso, a autorização foi solicitada juntamente aos TCLEs.

3.3. Avaliação clínica

A avaliação clínica dos pacientes foi realizada pelo geneticista do Serviço de Aconselhamento Genético (SAG) com base na ficha de anamnese genético-clínica, à qual foi adicionada ficha com as principais características clínicas da SWB (ANEXO VI) e para melhor documentação do caso, todos os pacientes foram fotografados (ANEXO VIII) (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 como peso, altura, e perímetro cefálico foram comparadas na tabela proposta pela AAP (2001).

Para este estudo foi preconizado como padrão ouro para o diagnóstico clínico da síndrome de Williams o sistema de pontuação da Associação Americana de Pediatria (AAP, 2001). Assim se a pontuação total for <3 , o diagnóstico é improvável, caso a pontuação seja ≥ 3 , deve ser realizado o teste da FISH.

3.4. Análise Molecular

3.4.1. Obtenção do DNA genômico.

O DNA foi extraído de uma alíquota de sangue do tubo de 5 ml com EDTA, com o kit comercial de extração de DNA da QIAGEN® (*Flexigene Genomic Purification Kit*), seguindo o protocolo fornecido pelo fabricante.

As amostras de DNA foram quantificadas e qualificadas através de leitura em espectrofotômetros NanoDrop 8000 (Thermo Fisher Scientific). Neste processo utilizou-se de 0,5 até 1,0µl da amostra. As amostras foram armazenadas em freezer a temperatura de -20°C.

3.4.2. Amplificação multiplex de sondas dependentes de ligação (MLPA)

Para a realização da técnica de MLPA foi utilizado o kit SALSA P029 com sondas específicas para os principais genes mapeados na região crítica da SWB: *ELN*, *CLIP2* (*CYLN2*), *LIMK1*, *TBL2*, *STX1A*, *RFC2*, *FZD9* e *FKBP6*, com sondas de outras regiões cromossômicas, que funcionam como sondas-controle (Figura 2).

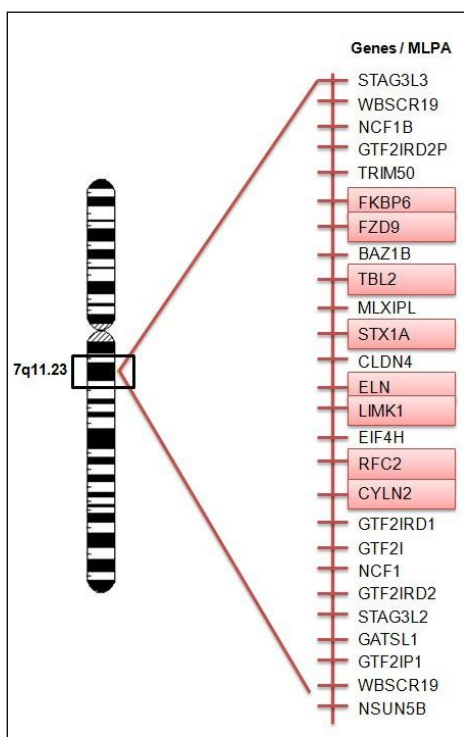


Figura 2. Localização das sondas do kit 029 (DUTRA et al., 2012).

Para as reações de MLPA® foi utilizado um termociclador com tampa aquecida, um controle “branco” (amostra sem DNA), um controle positivo de SWB (caso confirmado por FISH) e dois controles normais, ou seja, sem SWB.

A técnica foi efetuada de acordo com as instruções do fabricante (MRC-Holland, Amsterdam, The Netherlands) sem modificações (SCHOUTEN *et al.*, 2002). A separação dos fragmentos foi realizada em sequenciador automático ABI 3500 (*Applied Biosystems*). A análise dos resultados foi realizada utilizando-se o *software Coffalyser*.

4. RESULTADOS

Dos 30 pacientes avaliados clinicamente, 20 eram do sexo masculino e 10 do sexo feminino. A idade de primeira avaliação e do diagnóstico clínico da SWB variou de 8 meses a 38 anos, com mediana de 10 anos. O primeiro atendimento de 14 pacientes foi realizado com menos de 10 anos, para 14 pacientes se iniciou com 10 anos ou mais de idade, três pacientes com idade superior a 20 anos e dois pacientes não possuíam essa informação. Com relação a idade gestacional, 6 pacientes nasceram de ≤ 36 semanas, desses um paciente nasceu de 31 semanas de uma gestação gemelar, 15 pacientes nasceram de 38 a 40 semanas e para os demais pacientes não foi relatado o tempo gestacional.

Todas as descrições clínicas e fotos dos pacientes encontram-se nos anexos VIII e IX.

As frequências das características clínicas dos pacientes encontram-se na tabela 1 e bem como a revisão dos sinais clínicos da literatura.

Tabela 1. Tabela com as frequências das principais características clínicas avaliadas na presente casuística e a frequência e (%) nos casos observados na literatura de SWB FISH (-).

Características Clínicas	Presente Casuística N=30	FISH (+) Literatura* N=394	FISH (-) Literatura* N=141
Testa larga	23/30 (77%)	108 (27%)	41 (29%)
Boca grande	23/30 (77%)	108 (27%)	43 (30%)
Lábios proeminentes	28/30 (93%)	109 (28%)	45 (32%)
Edema periorbital	24/30 (80%)	106 (27%)	39 (28%)
Filtro longo	25/30 (83%)	103 (26%)	37 (26%)
Hipoplasia malar	11/30 (37%)	112 (28%)	94 (67%)
Ponte nasal baixa	22/30 (73%)	102 (26%)	93 (66%)
Anomalias dentárias	25/30 (83%)	74 (19%)	34 (24%)
Bochechas proeminentes	23/30 (77%)	97 (25%)	47 (33%)
Estreitamento bitemporal	10/30 (33%)	96 (24%)	34 (24%)
Estrabismo	10/30 (33%)	59(15%)	8 (6%)
Orelhas antevertidas	0/30 (0%)	7(2%)	1 (1%)
Microcefalia	18/30 (60%)	51 (13%)	39 (28%)
Queixo pequeno	20/30 (67%)	95 (24%)	45 (32%)
Íris estrelada	17/30 (57%)	42 (11%)	23 (16%)
Clinodactilia de 5º dedo	09/30(30%)	69 (18%)	43 (30%)
Deficiência Mental	28/30 (93%)	101 (26%)	69 (49%)

Características Clínicas	Presente Casuística N=30	FISH (+) Literatura* N=394	FISH (-) Literatura* N=141
Sociabilidade excessiva	22/30 (73%)	96 (24%)	38 (27%)
Pequeno para idade gestacional	10/21 (48%)	77(20%)	17 (12%)
Estatura (<5th)	2/30 (7%)	72 (18%)	40 (28%)
Peso (<5th)	04/30 (13%)	54 (14%)	35 (25%)
Dificuldades alimentares	16/30 (53%)	84 (21%)	24 (17%)
Constipação crônica	18/30 (60%)	69 (18%)	26 (18%)
Hiperatividade	25/30 (83%)	86 (22%)	47 (33%)
Hérnia inguinal/umbilical	08/30 (27%)	43 (11%)	20 (14%)
Loquacidade	20/30 (67%)	63 (16%)	14 (10%)
Voz grave	24/30 (80%)	82 (21%)	28 (20%)
Deficiência de Crescimento	22/30 (73%)	66 (17%)	43 (30%)
Hipotonia	26/30 (87%)	79 (20%)	58 (41%)
Problemas respiratórios	13/30 (43%)	7(2%)	2 (1%)
EASV	02/30 (7%)	66 (17%)	10 (7%)
Outras cardiopatias	09/30 (30%)	46 (12%)	32 (23%)
Vômitos	10/30 (33%)	78 (20%)	24 (17%)
Otitis média crônica	14/30 (47%)	33 (8%)	0
Problemas renais	04/30 (13%)	22 (6%)	8 (6%)

Literatura: Sugayama *et al.* (2004) e Souza *et al.* (2007).

Os pacientes foram submetidos ao sistema de pontuação desenvolvido pela AAP. No score elaborado pela AAP são considerados SWB clássicos os pacientes que obtiveram resultado ≥ 3 . Sendo assim, o menor resultado do score foi igual a 3 e o maior foi igual a 9, com uma mediana de 6, esse também foi o valor de score mais frequente (12/30).

A técnica de MLPA foi realizada para as 30 amostras. Em três casos não houve amplificação das amostras nos dois testes realizados. Nas 27 amostras com resultados da técnica de MLPA em nenhum foi detectada perda ou ganho de DNA na região crítica da SWB.

Foram localizados 26 artigos na literatura que descreveram 62 pacientes com SWB com deleções atípicas. Os artigos de deleções atípicas que não possuíam as descrições das características clínicas dos pacientes não foram incluídos nesta revisão da literatura.

Assim, compilamos e comparamos os dados dos sinais clínicos destes pacientes com as deleções, que se encontram na figura 3 e na tabela 2. Todos os sinais clínicos e análises moleculares desta revisão se encontram nos anexos X e XI.

Tabela 2. Tabela com as frequências das principais características clínicas observadas na revisão da literatura dos casos de deleções atípicas.

Características Gerais (AAP, 2001)	Frequência dos casos com del. atípicas N=62
Sexo:	
Masc.	23/62
Fem.	29/62
Idade ao 1º Atendimento	Média 12 anos (51/62)
Crescimento	
Pós-termo > 41 semanas	1/62 (2%)
Cólica prolongada > 4 m irritabilidade	0/62
Déficit de crescimento < p 5	3/62 (5%)
Constipação crônica	3/62 (5%)
Vômitos ou refluxo gastro-encefálico	3/62 (5%)
Comportamento e desenvolvimento	
Personalidade amigável	16/62 (26%)
Problema visuoespacial	6/62 (10%)
Hiperacusia	11/62 (18%)
Atraso de fala, excesso de fala	5/62 (8%)
Ansiedade	8/62 (13%)
Deficiência mental	25/62 (40%)
Craniofacial	
Estreitamento bitemporal	12/62 (19%)
Epicanto ou ponte nasal achatada	12/62 (19%)
Edema periorbitário	19/62 (31%)
Nariz curto ou narinas antevertidas	19/62 (31%)
Hipoplasia malar	15/62 (24%)
Filtro longo	11/62 (18%)
Dentes pequenos, espaçados	1/62 (2%)

Características Gerais (AAP, 2001)	Frequência dos casos com del. atípicas N=62
Boca grande	10/62 (16%)
Queixo pequeno	3/62 (5%)
Lóbulos da orelha proeminentes	5/62 (8%)
Sobrancelhas largas	1/62 (2%)
Nariz bulboso	6/62 (10%)
Bochechas proeminentes	14/62 (23%)
Lábios espessos	22/62 (35%)
Má oclusão	6/62 (10%)
Estrabismo	10/62 (16%)
Íris de padrão estrelado	4/62 (6%)
Cardiopatias	
Estenose aórtica supra valvular	37/62 (60%)
Estenose artéria pulmonar periférica	16/62 (26%)
Outras cardiopatias	
Hipertensão arterial	4/62 (6%)
Outras	7/62 (11%)
Tecido conectivo	
Voz rouca	10/62 (16%)
Hérnia inguinal	3/62 (5%)
Pescoço longo ou ombro caído	0/62
Limitação articular ou frouxidão	1/62 (2%)
Divertículo de bexiga ou intestino	0/62
Prolapso retal	0/62
Cálcio	
Hipercalcúria	1/62 (2%)
Hipercalcemia	9/62 (15%)

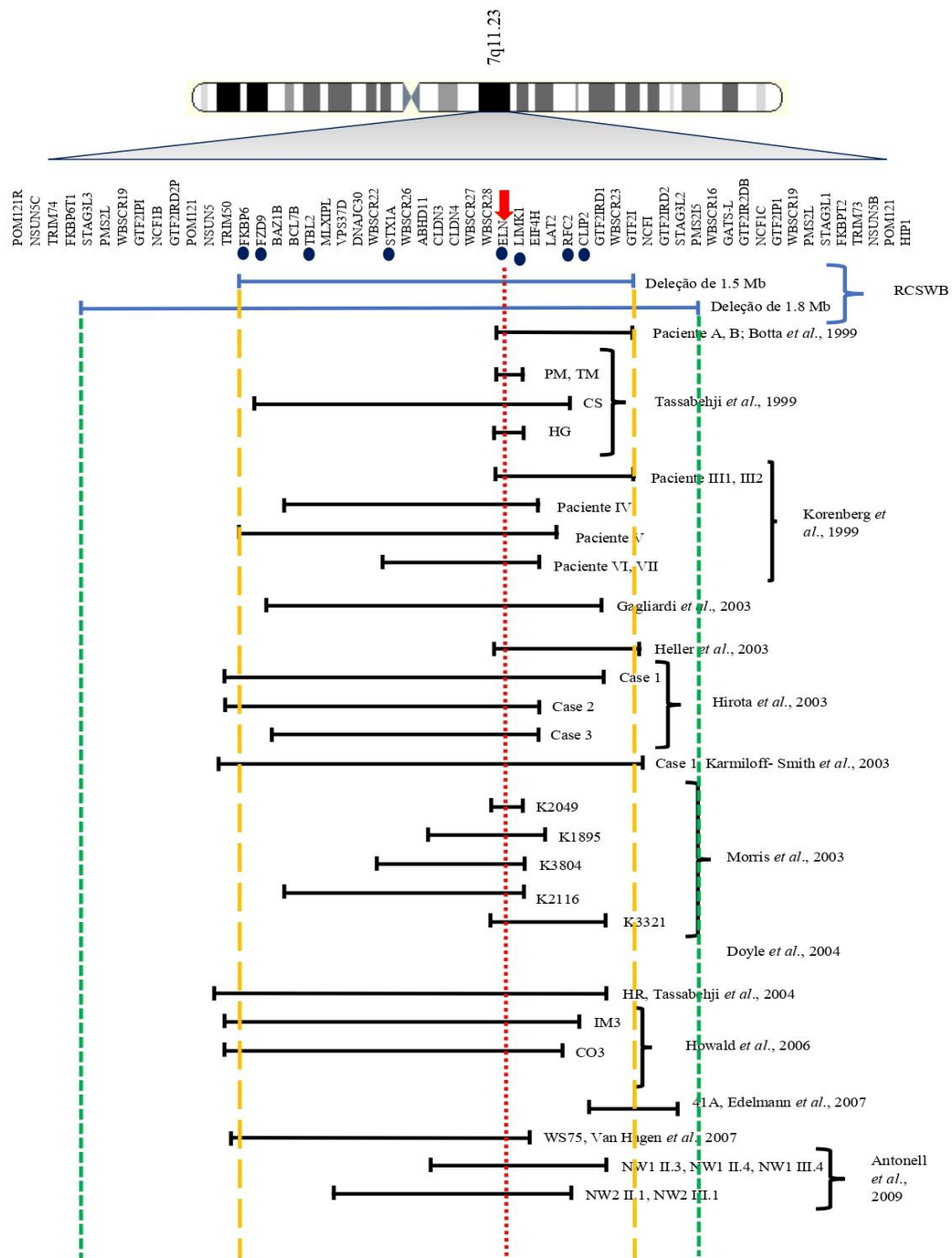


Figura 3. Região crítica da SWB com os genes encontrados na região e representação dos tamanhos das deleções atípicas dos pacientes relatados na literatura. A seta e a linha vermelha indicam a localização do gene da *ELN*. As linhas verdes delimitam a deleção típica de 1.8Mb, enquanto que as linhas amarelas delimitam a deleção típica de 1.5Mb.

5. DISCUSSÃO e CONCLUSÕES

Para a análise das principais características clínicas da SWB na nossa casuística, não foram utilizados cálculos estatísticos, devido ao pequeno número amostral (30 pacientes). Desta forma a comparação com os dados da literatura de casos com deleções atípicas torna-se muito importante.

A proporção sexual nesta amostra (2M:1F) diferiu da proporção esperada (1:1), mas pode ser devido ao tamanho amostral.

Com relação a idade gestacional, 15/22 das crianças nasceram dentro do esperado (37-40 semanas), 6/22 nasceram pré-termo e desses 1 nasceu com 31 semanas; esses dados diferem de estudos prévios, onde os pacientes tiveram nascimentos pós-termo. Dentre os antecedentes neonatais, observou-se uma elevada frequência de recém-nascidos com peso de nascimento <5 (23/30) e o comprimento ao nascimento de 10/30 eram ≤ 5 , tais dados corroboram com o estudo de Morris *et al.* (1988), onde 70% dos pacientes eram pequenos para a idade gestacional e diferem dos casos FISH (-).

A maioria dos pacientes iniciou a investigação com idade superior a 10 anos, sendo que três pacientes com idade superior aos 20 anos. A mediana da idade dos pacientes no 1º atendimento foi de 9,5 anos, tais dados são compatíveis com relatos prévios da literatura (MORRIS *et al.*, 1988; SOUZA *et al.*, 2007).

As características faciais como testa larga (23/30), boca grande (23/30), lábios proeminentes (28/30), edema periorbital (24/30), filtro longo (25/30), anomalias dentárias (25/30), bochechas proeminentes (23/30), queixo pequeno (20/30), microcefalia (18/30) e íris estrelada (17/30) caracterizam a face tida como típica na SWB e apresentaram alta incidência nesta casuística. Assim, tais características faciais têm auxiliado na hipótese diagnóstica de SWB, mesmo esses pacientes não apresentando as alterações de perdas e ganhos na RCSWB. Enquanto que na literatura dos FISH (-) essas mesmas características faciais apresentaram frequências menores e variadas.

Na nossa amostra 11/30 pacientes apresentavam cardiopatia, e desses apenas 2/11 apresentavam a EASV. A importância das alterações cardíacas se dá pelos estudos que estabeleceram a correlação fenótipo-genótipo, onde a deleção ou mutações envolvendo o

gene da elastina (*ELN*) resultaria nos problemas cardíacos e alterações de tecido conjuntivo observados na síndrome (EWART *et al.*, 1993). A casuística difere dos dados de correlação de genótipo-fenótipo do gene da *ELN*, uma vez que esses pacientes não apresentaram deleção para este gene. Mas esses dados se assemelham a a literatura dos FISH (-), que tiveram uma baixa prevalência de cardiopatias; e também aos estudos de deleções atípicas onde os pacientes não apresentavam deleções que englobavam o gene da *ELN*, mas sim deleções em outras regiões ainda dentro da RCSWB (LI *et al.*, 2016; HU *et al.*, 2017).

As alterações de tecido conectivo também podem estar relacionadas com a deleção do gene da *ELN*, (EWART *et al.*, 1993), em nosso grupo a hipotonia foi relatada em 26/30 casos e voz grave em 24/30 pacientes, tais sinais foram observadas na literatura de FISH (-) com frequências menores. A presença de hérnia inguinal/ umbilical se assemelham tanto na casuística (8/30), quanto na literatura dos casos de FISH (-). Assim, a presença de tais características pode não estar associadas apenas a deleção do gene da *ELN*, uma vez que foram observadas em pacientes que não possuem a deleção

A hipertensão foi relatada em três pacientes (3/30), sendo que o mais velho possuía 10 anos e o mais novo tinha oito meses. Vale ressaltar que dos três que apresentaram hipertensão apenas a paciente de 6 anos (SAG 8445) possuía uma alteração cardíaca já operada. Na literatura, a correlação genótipo-fenótipo foi estudada de modo que a hemizigose do gene *NCF1* pode ser um fator de proteção contra a hipertensão (DEL CAMPO *et al.*, 2006). A prevalência da hipertensão na SWB é 40-50% acometendo qualquer idade, assim a casuística difere que além da baixa incidência, é que a hipertensão pode ser secundária a alteração vascular (MORRIS, 2018).

Outro sistema acometido na SWB é o sistema gastrointestinal, assim neste estudo, 16/30 apresentaram dificuldades alimentares e 18/30 apresentaram constipação, já nos casos de FISH (-) essas características foram observadas com menor frequência. A constipação encontrada principalmente na primeira infância pode estar também relacionada com a hipercalcemia idiopática transitória (MORRIS *et al.*, 1988). A hipercalcemia transitória normalmente ocorre durante a primeira infância e pode apresentar mais sintomas, além da constipação, como vômitos e irritabilidade (MORRIS *et al.*, 1988). No nosso grupo de estudo a hipercalcemia foi relatada em apenas um paciente (SAG 6928). Assim, a baixa prevalência

na casuística pode ser porque a dosagem de cálcio não é realizada na rotina e os sintomas da hipercalcemia não são específicos.

A diabetes mellitus é uma alteração endócrina descrita na SWB com frequência maior na vida adulta, em nosso grupo amostral foi relatada em apenas uma paciente com 35 anos. A baixa incidência pode ser devido a casuística ter apenas 3/30 adultos.

Os problemas renais na nossa casuística tiveram baixa prevalência sendo a infecção urinária relatada em apenas um paciente (1/30), o refluxo urinário em dois (2/30) e estenose da artéria renal em um (1/30). Tais dados se assemelham aos observados na literatura, tanto para os casos de FISH (+), quanto para os de FISH (-).

O padrão diferenciado das habilidades encontradas na SWB recebe o nome de perfil cognitivo da SWB (*WSCP-Williams Syndrome Cognitive Profile*), esse perfil inclui o comprometimento da capacidade visoespacial prejudicada, a deficiência intelectual, sociabilidade excessiva, acompanhada por ansiedade, déficit de atenção, hiperatividade e hiperacusia (BELLUGI *et al.*, 1999). Na nossa amostra foi observado as seguintes características do WSCP: hiperatividade (25/30), a loquacidade (20/30), a sociabilidade excessiva (22/30) e deficiência intelectual (28/30). Essas características presentes na casuística estão de acordo com os relatos da literatura para o WSCP (MORRIS, 2018; POBER, 2010). Enquanto que nos dados de casos de FISH (-) as características do WSCP apresentaram frequências menores, tal fato concorda com alguns relatos de deleções atípicas, onde os pacientes possuíam apenas algumas características do WSCP (GAGLIARDI *et al.*, 2003).

Os estudos sobre o fenótipo da SWB baseiam-se principalmente em evidências de estudos funcionais de genes simples, modelos de animais e análise de indivíduos com SWB com deleções atípicas (FUSCO *et al.*, 2014).

As características clínicas da SWB nos casos de deleções atípicas apresentam grande variabilidade e frequências menores quando comparada a casuística e com a literatura de FISH (+). Nesses relatos os pacientes são descritos apresentando poucos dos sinais e sintomas típicos observados na SWB. Assim, os relatos de pacientes com deleções atípicas são de grande relevância, pois através desses estudos que as correlações de genótipo- fenótipo para

os demais genes da região crítica da SWB vêm sendo elaboradas, tendo como enfoque a busca por genes correlacionados as características craniofaciais, cognitivas e comportamentais (BOTTA *et al.*, 1999; TASSABEHJI *et al.*, 1999; KORENBERG *et al.*, 2000; GAGLIARDI, 2003; HELLER *et al.*, 2003; HIROTA *et al.*, 2003; KARMILOFF-SMITH *et al.*, 2003; MORRIS *et al.*, 2003; DOYLE *et al.*, 2004; TASSABEHJI *et al.*, 2005; HOWALD *et al.*, 2006; EDELMANN *et al.*, 2007; VAN HAGEN *et al.*, 2007; ANTONELL *et al.*, 2010; DAI; BELLUGI; CHEN, 2010; FERRERO *et al.*, 2010; HONJO, 2012; PORTER *et al.*, 2012; DELGADO *et al.*, 2013; EUTENEUER *et al.*, 2014; FUSCO *et al.*, 2014; LI *et al.*, 2016; STREATA *et al.*, 2016; GHAFARI *et al.*, 2017; HU *et al.*, 2017; XIA *et al.*, 2018)(Anexo X e XI).

Na revisão da literatura de deleções atípicas foram relatados 4 pacientes não apresentavam a deleção do gene da *ELN*, paciente 8,9 e 10 de Li *et al.* (2016) e o paciente de Hu *et al.* (2017). Dos casos do estudo de Li *et al.* (2016): paciente 8 (14 semanas gestacionais) tinha atresia duodenal e artéria umbilical única; paciente 9 tinha estenose aórtica, comunicação interventricular, atraso global do desenvolvimento, fissura palatina e luxação patelar; e paciente 10 era fenotipicamente normal. Já o paciente relatado por Hu *et al.* (2017) tinha dificuldades alimentares, fissura de palato e sopro cardíaco, EASV, persistência do canal arterial, moderado retardo de crescimento, hipercalcemia, nefrolit, comprometimento das capacidades visuoespaciais, autismo e severo comprometimento da linguagem expressiva. Vale notar que apesar deles não possuírem a deleção do gene da *ELN*, dois pacientes possuíam alterações cardíacas.

Na literatura há relatos de diversos estudos com pacientes com deleções atípicas que estão auxiliando na elaboração da correlação genótipo-fenótipo para o perfil cognitivo, assim as deleções envolvendo os genes *GTF2I* e *GTF2IRD1* poderiam contribuir tanto com as características craniofaciais quanto com o déficit intelectual global e com alguns aspectos do perfil cognitivo da SWB(TASSABEHJI *et al.*, 2005; ANTONELL *et al.*, 2010). Enquanto que apenas o gene *GTF2IRD1* pode ser importante para alguns aspectos da cognição visuomotora e possível contribuição com a sociabilidade excessiva observada na SWB (ANTONELL *et al.*, 2010; DAI; BELLUGI; CHEN, 2010).

Além da família *GTF2I*, outros genes da RCSWB também são estudados para a possível correlação genótipo- fenótipo, como o gene *LIMK1*, que pode ter um papel no desenvolvimento da cognição e construção visuoespacial, entretanto, a deleção apenas de *LIMK1* não seria capaz de gerar todo o perfil cognitivo (KARMILOFF-SMITH *et al.*, 2003; MORRIS *et al.*, 2003; ANTONELL *et al.*, 2010). Assim, Euteneuer *et al.* (2013) sugeriram que a deleção completa de *GTF2I*, *GTF2IRD1*, *CLIP2* e *LIMK1* possivelmente seja necessária para gerar WSCP típico.

A análise molecular nesta casuística (técnica de MLPA) não detectou nenhuma perda ou ganho de DNA na região crítica da SWB. Esta técnica foi escolhida para a realização desse estudo, pois estudos realizados na última década, conseguiram esclarecer o diagnóstico de pacientes com deleções atípicas. Assim, a técnica pode não ter detectado nenhuma perda ou ganho de DNA, porque as alterações estão presentes em regiões que não são cobertas pelas sondas presentes no kit comercial P029-C1. Tal fato já foi relatado no estudo realizado por Delgado *et al.* (2013), onde a MLPA não conseguiu detectar a deleção atípica do paciente pois o kit comercial não possuía sondas para a região localizado nos pontos mais distais. Assim, para os casos de FISH (-), não recomendamos o uso do MLPA, pois esse poderá na maioria ser negativo também, nesses casos outras técnicas como o array-CGH ou NGS devem ser utilizados.

O estudo terá seguimento com o uso de outras técnicas, como o aCGH, que como já observado foi frequentemente utilizado na literatura e possuiu uma assertividade maior na literatura dos casos atípicos. Relatórios anteriores já mostram que a abordagem do array-CGH pode identificar as CNVs patogênicas na WBS, demonstrando a identificação precisa dos genes deletados, que causam tanto os fenótipos típicos quanto os atípicos (EDELMANN *et al.*, 2007; ANTONELL *et al.*, 2010; DAI; BELLUGI; CHEN, 2010; PORTER *et al.*, 2012; EUTENEUER *et al.*, 2014; FUSCO *et al.*, 2014; LI *et al.*, 2016; STREATAȘ *et al.*, 2016; HU *et al.*, 2017; XIA *et al.*, 2019). Portanto, esses achados indicam que o array-CGH é um suplemento importante para o exame clínico para um diagnóstico preciso da SWB (HUSSEIN *et al.*, 2016).

Foi realizado o Aconselhamento genético dos familiares, informando esses resultados e comunicando-lhes que o estudo prosseguirá com aplicações de outras metodologias laboratoriais subsidiárias ao diagnóstico clínico do paciente.

6. ARTIGO

Artigo preparado com *short communication* a ser submetido para revista: Genetics and Molecular Biology (*Print version* ISSN 1415-4757; *On-line version* ISSN 1678-4685)

Aplicação da técnica de MLPA para os casos inconclusivos de SWB

Letícia Cassimiro Batista¹, Bruno Faulin Gamba², Deise Helena de Souza¹, Danilo Moretti-Ferreira¹

1-Departamento de Genética, IBB-Unesp, Botucatu- SP.

2- Instituto de Ciências Biológicas da Universidade Federal de Goiás – GO.

RESUMO

A síndrome de Williams-Beuren (SWB) é uma doença genética caracterizada por dismorfismos faciais, anomalias cardiovasculares, deficiência intelectual e perfil cognitivo típico. A SWB é causada por uma microdeleção hemizigótica da região cromossômica 7q11.23, de ~1,5Mb a 1,8Mb de genes de cópias únicas e deleções maiores ou menores que esses limites são considerados deleções atípicas. O objetivo do trabalho foi detectar perdas ou ganhos de DNA por meio da técnica de MLPA na região crítica da SWB em pacientes com diagnóstico clínico estabelecido pela pontuação de escore da AAP, (2001) e com exame de FISH (-). Foram selecionados 27 indivíduos com hipótese diagnóstica de SWB e análise citogenética negativa para SWB estabelecida pela técnica da FISH. O diagnóstico clínico de SWB “clássica” foi estabelecido pelo escore da Academia Americana de Pediatria (2001). Foi realizada a extração de DNA das amostras e foi aplicada a técnica de MLPA com o kit SALSA P029 (MRC-Holland, Amsterdam, The Netherlands) com sondas específicas para os principais

genes encontrados na região crítica da SWB. Apesar da casuística apresentar características típicas da SWB a análise molecular pela técnica de MLPA não detectou nenhuma perda ou ganho de DNA na região crítica da SWB. A técnica pode não ter detectado nenhuma perda ou ganho de DNA, porque as alterações podem estar presentes em regiões que não são cobertas pelas sondas presentes no kit comercial P029-C1. Assim, para os casos com diagnóstico clínico de SWB e FISH (-), sugerimos o uso de outras técnicas como o array-CGH ou NGS.

A síndrome de Williams-Beuren (SWB) (OMIM 194050) é uma doença genética caracterizada por dismorfismos faciais, anomalias cardiovasculares, deficiência intelectual e perfil cognitivo típico, acomete 1/7.500 nascidos vivos (MORRIS *et al.*, 1988a; AAP, 2001; STROMME; BJORNSTAD; RAMSTAD, 2002).

A SWB possui uma etiologia genética devido há hemizigose na região 7q11.23. Essa região crítica da síndrome de Williams Beuren (RCWB), em 7q11.23, possui uma região ~1,2 Mb de genes de cópias únicas; que está ligada a três regiões repetitivas, *LCR – Low Copy Repeats* (SCHUBERT, 2009). As *LCRs* são sequências homólogas de alta similaridade o que leva à predisposição para a ocorrência de um pareamento não homólogo entre blocos de *LCRs* diferentes (*non allelic homologous recombination - NAHR*). Cerca de 95% dos pacientes com diagnóstico clínico de SWB apresentam uma deleção de ~ 1,5 Mb, ~ 3–5% exibem uma deleção de ~ 1,8 Mb, deleções maiores ou menores que esses limites são consideradas atípicas e já foram descritas na literatura (<2%) (KORENBERG *et al.*, 2000; BAYÉS *et al.*, 2003; SCHUBERT; LACCONE, 2006; SCHUBERT, 2009). Dos 28 genes identificados na RCSWB, o mais estudado e que possui correlação genótipo-fenótipo estabelecido é o gene da elastina (*ELN*). A haploinsuficiência da *ELN* é responsável pelos

problemas cardiovasculares e outras anormalidades do tecido conjuntivo de pacientes com SWB (EWART *et al.*, 1993).

Os portadores da SWB apresentam características faciais típicas; anomalia cardiovascular, sendo a mais frequentes a estenose aórtica supra-valvar (EASV); alterações no tecido conjuntivo como a voz rouca, a presença de hérnias (umbilical ou inguinal) e a frouxidão das articulações (WILLIAMS; BARRAT-BOYERS; LOWE, 1961; BEUREN; APITZ; HARMJANZ, 1962; MORRIS *et al.*, 1988; MORRIS, 2018).

A deficiência intelectual observada na SWB é de intensidade leve à moderada e está presente em 75% dos afetados (SMOOT *et al.*, 2005). Indivíduos com SWB possuem perfil cognitivo específico com um padrão característico de debilidades e habilidades. As áreas que apresentam maiores debilidades são a construção visuoespacial e as habilidades motoras finas (SMOOT *et al.*, 2005). Já as áreas com maiores habilidades estão relacionadas a linguagem, reconhecimento e memorização facial e o talento musical (POBER, 2010). Os portadores da síndrome possuem um perfil comportamental e de personalidade característico, sendo extremamente sociáveis e extrovertidos (SMOOT *et al.*, 2005). Além disso, a maioria apresenta déficit de atenção, hiperatividade, ansiedade, empatia excessiva, hiperacusia e distúrbios do sono (AAP, 2001).

Para realização do diagnóstico clínico três sistemas de pontuação foram elaborados ao longo dos anos, sendo eles: Lowery *et al.*, (1995); Academia Americana de Pediatria (AAP, 2001); e Sugayama *et al.*, (2007). Os sistemas são baseados nos sinais clínicos apresentados pelos pacientes, onde cada característica recebe uma pontuação que somadas resultam no escore do paciente. Os três sistemas de pontuação foram avaliados por Leme *et al.*, (2013) que encontram entre eles uma alta sensibilidade e baixa especificidade, além de

demonstrar que a SWB pode ser diagnosticada clinicamente usando qualquer um dos sistemas avaliados.

A confirmação do diagnóstico clínico é realizada pela técnica da FISH, que considerada a técnica padrão ouro para o diagnóstico laboratorial da SWB. A literatura e a experiência laboratorial têm demonstrado que 96% dos casos com diagnóstico clínico de SWB possuem FISH positivo (BAYÉS *et al.*, 2003; SCHUBERT; LACCONE, 2006; SOUZA *et al.*, 2007; SCHUBERT, 2009). Desta forma 4% de pacientes com o fenótipo clínico de síndrome de Williams não possuem a confirmação do diagnóstico laboratorial clássico para esta afecção. Isso pode ocorrer devido: microdeleção ser do tipo atípica na região crítica da SWB e pode não envolver o gene da elastina (ELN) (PANI *et al.*, 2010); ter ocorrido mutação de ponto em genes da RCSWB; ou deleções ou mutações em outras regiões do genoma apresentando fenocópias da SWB.

Assim, nesses casos que possuem a clínica indicativa de SWB mas FISH (-), uma técnica que pode ser utilizada é a amplificação multiplex de sondas dependentes de ligação (MLPA). A MLPA é uma técnica de alto rendimento, permitindo detectar alterações (perdas e ganhos) no número de cópias (CNVs), em uma região específica (7q11.23 para SWB) e também constatar rearranjos que não foram observados na análise padrão, sendo aplicada a ensaios específicos. As vantagens da técnica são a facilidade e rapidez na detecção de deleções, deleções atípicas e duplicações presentes no genoma e suas desvantagens estão na incapacidade de detectar rearranjos balanceados, mosaicismo em baixo grau e a sensibilidade em relação à qualidade do DNA utilizado (KOZLOWSKI; JASINSKA; KWIATKOWSKI, 2008).

Neste estudo o objetivo foi aplicar a técnica de MLPA em 27 pacientes brasileiros com diagnóstico clínico da SWB com score AAP da SWB clássico (≥ 3), mas com FISH (-).

O projeto é aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) da Faculdade de Medicina de Botucatu (FMB-UNESP).

Eles foram escolhidos no banco de dados do Serviço de Aconselhamento Genético – IBB/UNESP (SAG). Os pacientes escolhidos já haviam passado pelo protocolo de atendimento, preenchimento da ficha de anamnese, fotografados e o sangue coletado para a extração de DNA (QIAGEN®). Durante a avaliação clínica dos pacientes foi utilizado o sistema de pontuação elaborado pela AAP (2001) para realizar o diagnóstico clínico da SWB. Assim se a pontuação total for <3 , o diagnóstico é improvável, caso a pontuação seja ≥ 3 , indicativo de SWB clássico, recomenda-se a aplicação da técnica da FISH.

As frequências das características clínicas dos pacientes encontram-se na tabela 1 e as fotos de alguns dos pacientes encontram-se na figura 1.

A análise molecular foi realizada com a técnica de MLPA, foi utilizado o kit SALSA P029 (MRC-Holland, Amsterdã, Holanda) sem modificação e seguindo todo o protocolo do fabricante (SCHOUTEN *et al.*, 2002). A separação dos fragmentos foi realizada no sequenciador automatizado ABI 3500 (Applied Biosystems). A análise dos resultados foi realizada utilizando o software Coffalyser.

A técnica de MLPA foi utilizada nas 27 amostras em nenhum foi detectada perda ou ganho de DNA na região crítica da SWB.

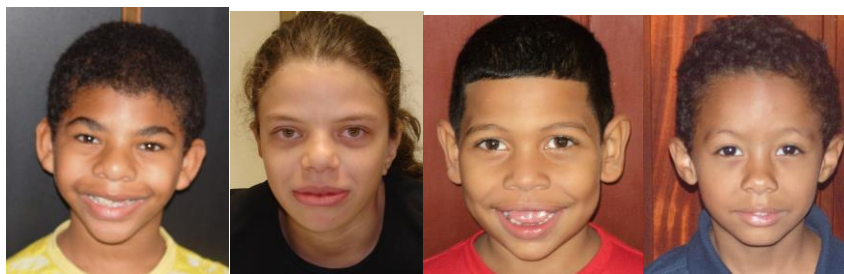


Figura 1. Fotos de 8/27 pacientes seleccionados para este estudio.

	Casos																											
	69 28	77 08	77 34	78 94	795 8	79 69	79 92	80 28	80 29	80 30	80 42	80 66	80 70	80 74	80 93	81 74	82 27	83 30	83 66	83 91	84 10	84 37	84 45	84 75	84 78	84 91	85 08	
Deficiência intelectual	+	+	+	+	+	+	NR	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+
Microcefalia	-	-	NR	+	+	+	-	-	+	+	+	+	-	-	+	+	+	+	NR	+	+	NR	+	+	+	+	-	+
Testa larga	+	+	NR	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	NR	+	-	+	+	NR	+	+	-	-	+	
Estreitament o bitemporal	+					+			+					+		+					+		+					
Orelhas antevertidas	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
Epicanto ou ponte nasal achatada	+	+	N R	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	-	+	-	-	+	+	-	-	+	+	+	+	
Edema periorbital	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	-	+	-	+	+	-	+	+	+	-	
Nariz curto ou narinas antevertidas	N R	N R	N R	-	N R	+	-	-	+	+	-	+	-	+	-	+	-	-	-	-	+	+	+	-	-	-	+	
Hipoplasia malar	N R	N R	+	-	+	+	-	-	+	-	+	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-	+	
Filtro longo	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	-	-	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	
Boca grande	+	+	+	+	+	+	+	-	+	-	+	+	+	-	+	-	+	+	-	N R	+	+	+	+	+	-	+	
Queixo pequeno	+	+	NR	-	+	+	-	+	+	+	-	+	+	-	+	-	+	+	-	-	+	+	-	+	+	-	+	

	Casos																											
	69 28	77 08	77 34	78 94	795 8	79 69	79 92	80 28	80 29	80 30	80 42	80 66	80 70	80 74	80 93	81 74	82 27	83 30	83 66	83 91	84 10	84 37	84 45	84 75	84 78	84 91	85 08	
Sobrance-lhas largas	N R	-	N R	-	N R	-	+	-	+	N R	+	-	-	+	-	-	-	-	+	-	-	+	-	-	-	-	-	
Estrabismo de íris	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	+	+	+	-	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	
padrão estrelado	-	+	+	+	+	+	-	+	-	+	-	+	+	-	+	+	+	N R	+	N R	+	-	-	-	+	NR	+	
Nariz bulboso		+	+				+							+							+	+						
Bochechas proeminentes	-	+	N R	+	+	+	-	+	+	+	-	+	+	-	+	+	+	+	-	-	+	+	+	+	+	+	+	
Lábios espessos	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	
Anomalias dentárias	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	-	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	
Estenose aórtica supra- valvular	-	N R	-	-	-	-	-	-	-	-	N R	-	-	-	-	-	+	-	-	+	-	-	-	NR	-	-	-	
Outras Cardiopatias	-	N R	+	-	-	-	+	+	-	-	NR	-	+	-	-	-	-	+	+	-	-	-	+	NR	+	-	+	
Voz grave	-	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	-	+	
Hipotonia	+	+	+	+	+	+	NR	-	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	
Hérnia inguinal/ Um bilical	-	N R	N R	-	-	-	+	-	-	+	-	+	-	-	-	+	-	+	-	+	-	-	-	+	-	-	-	

	Casos																											
	69 28	77 08	77 34	78 94	795 8	79 69	79 92	80 28	80 29	80 30	80 42	80 66	80 70	80 74	80 93	81 74	82 27	83 30	83 66	83 91	84 10	84 37	84 45	84 75	84 78	84 91	85 08	
Problemas respiratórios	-	N R	+	-	+	+	+	+	-	-	+	NR	+	-	+	-	-	-	+	-	-	+	+	NR	-	-	+	
Problemas renais	-	NR	NR	-	-	-	-	-	-	-	+	NR	-	-	+	-	-	-	+	-	+	-	-	-	-	-	-	
Otitis média crônica	-	N R	N R	+	-	+	+	+	+	-	+	+	-	-	+	-	+	+	+	-	-	+	-	+	-	-	+	
Clinodactilia de 5° dígito	NR	-	+	-	-	-	-	-	-	+	-	-	+	-	-	+	-	-	+	-	-	-	+	+	-	-	+	
Escore AAP	5	5	6	6	7	6	4	5	6	3	4	6	6	6	6	8	9	3	7	6	4	4	6	6	5	3	6	

+: presente; - : ausente ; NR: não relatado

As características faciais como testa larga, microcefalia, boca grande, lábios proeminentes, edema periorbital, estrabismo, íris estrelada, filtro longo, anomalias dentárias, bochechas proeminentes e queixo pequeno caracterizam a face tida típica na SWB e apresentaram alta incidência nesta casuística e diferem dos casos da literatura onde os pacientes FISH (-) apresentam frequências menores.

A cardiopatia congênita é muito observada na SWB, sendo a mais frequente a EASV, na nossa amostra 11/27 pacientes apresentavam alguma alteração cardíaca, e desses apenas 2/11 apresentavam a EASV. As deleções ou mutações envolvendo o gene da elastina (*ELN*) foram correlacionados as alterações cardíacas e de tecido conjuntivo (EWART et al., 1993). Das alterações de tecido conectivo na casuística foram observados a hipotonia em 23/27 casos e a voz grave em 22/27 pacientes, enquanto que nos casos de FISH (-) da literatura essas características possuem menores frequências. A presença de hérnia inguinal/ umbilical foi observada em 7/27, o que também foi visto pra os FISH(-). A hipertensão arterial foi relatada em três pacientes (3/27). A prevalência da hipertensão na SWB é 40-50% acometendo qualquer idade (MORRIS, 2018).

Das alterações do sistema gastrointestinal, na nossa casuística, 14/27 apresentaram dificuldade alimentar e 16/27 apresentaram constipação. Essas duas características gástricas diferem das observadas nos FISH (-), neles as frequências são menores. A constipação encontrada principalmente na primeira infância pode estar também relacionada com a hipercalcemia idiopática transitória (MORRIS et al., 1988a). A hipercalcemia transitória normalmente ocorre durante a primeira infância e pode apresentar mais sintomas, além da constipação, como vômitos e irritabilidade (MORRIS et al., 1988a). Entretanto, a dosagem de cálcio não é feita na rotina, de modo que os pacientes podem manifestar mas o diagnóstico pode não ser realizado. No nosso grupo de estudo a hipercalcemia foi relatada em apenas um paciente.

O perfil cognitivo da SWB (*WSCP-Williams Syndrome Cognitive Profile*) inclui o comprometimento da capacidade visuoespacial, a deficiência intelectual, sociabilidade excessiva, acompanhada por ansiedade, déficit de atenção, hiperatividade e hiperacusia (BELLUGI *et al.*, 1999). Na nossa amostra foi observado as seguintes características do WSCP: hiperatividade (22/27), a loquacidade (19/27), a sociabilidade excessiva (18/27) e deficiência intelectual (24/27). Essas características presentes na casuística diferem dos dados de casos de FISH (-), onde as características do WSCP apresentaram frequências menores.

Consideramos aqui que a casuística deste trabalho foi avaliada clinicamente já conhecendo o resultado de FISH (-) o que direcionou a uma investigação mais criteriosa dos sinais clínicos presentes nos pacientes, o que pode justificar a diferença na frequência dos sinais encontradas neste estudo. O que mostra ser útil a realização de revisão dos sinais clínicos nos casos portadores de SWB com FISH (-).

A análise molecular nesta casuística a técnica de MLPA não detectou nenhuma perda ou ganho de DNA na região crítica da SWB. Essa técnica possui como vantagens a facilidade e rapidez na detecção de deleções, deleções atípicas e duplicações presentes no genoma. Esta técnica foi escolhida para a realização desse estudo, já há estudos que demonstram que a MLPA é útil na detecção de deleções clássicas da SWB, e também estudos realizados na última década que conseguiram esclarecer o diagnóstico de pacientes com deleções atípicas utilizando a MLPA.

Assim, a técnica pode não ter detectado nenhuma perda ou ganho de DNA, porque as alterações estavam presentes em regiões que não são cobertas pelas sondas presentes no kit comercial P029-C1. Tal fato já foi relatado no estudo realizado por Delgado *et al.* (2013), onde a MLPA não conseguiu detectar a deleção atípica do paciente pois o kit comercial não possuía sondas para a região localizado nos pontos mais distais.

Van Hagen *et al.* (2007) realizaram um estudo onde para 10 pacientes tanto FISH quanto MLPA apresentaram resultados negativos para SWB. Nesses 10 casos eles utilizaram posteriormente o escore AAP (2001), e descreveram que todos os 10 pacientes possuíam escore <3, o que os classificam como improváveis SWB.

O estudo sugere o uso de outras técnicas, como o aCGH, que como já observado foi frequentemente utilizado na literatura e possuiu uma assertividade maior na literatura dos casos atípicos. Relatórios anteriores já mostram que a abordagem do array-CGH pode identificar as CNVs patogênicas na WBS, demonstrando a identificação precisa dos genes deletados, que causam tanto os fenótipos típicos quanto os atípicos (ANTONELL *et al.*, 2010; DAI; BELLUGI; CHEN, 2010; EDELMANN *et al.*, 2007; EUTENEUER *et al.*, 2014a; FUSCO *et al.*, 2014; HU *et al.*, 2017; LI *et al.*, 2016; PORTER *et al.*, 2012; STREATAȘ *et al.*, 2016; XIA *et al.*, 2019). Portanto, esses achados indicam que o array-CGH é um suplemento importante para o exame clínico para um diagnóstico preciso da SWB (HUSSEIN *et al.*, 2016).

Sugerimos com este trabalho o uso da técnicas o array-CGH. para os pacientes que possuírem diagnóstico clínico da SWB e diagnóstico laboratorial de FISH (-), deste modo, não recomendamos o uso da técnica de MLPA como alternativa para se realizar o diagnóstico genético, pois essa técnica possivelmente também terá resultado negativo para SWB.

Referências

- AAP (2001) Health Care Supervision for Children With Williams Syndrome. *Pediatrics* 107:1192–204.
- Antonell A, *et al.* (2010) Partial 7q11.23 deletions further implicate GTF2I and GTF2IRD1 as the main genes responsible for the Williamse-Beuren syndrome neurocognitive profile. *J Med Genet* 47:312–20.

Bayés M, Magano LF, Rivera N, Flores R, Jurado LP (2003) Mutational Mechanisms of Williams-Beuren Syndrome Deletions. *Am. J. Hum. Genet* 73:131–151.

BELLUGI U, et al. (1999). Bridging cognition, the brain and molecular genetics: evidence from Williams syndrome. *Trends Neurosci.* 22:197–207.

Beuren A, Apitz J, Harmjanz D (1962) Supravalvular Aortic Stenosis in Association with Mental Retardation and a Certain Facial Appearance. *Circulation* 26:1235 – 40.

Dai L, *et al.* (2010). Is it Williams Syndrome? GTF2IRD1 implicated in Visual-Spatial Construction and GTF2I in Sociability Revealed by High Resolution Arrays. *Am J Med Genet* 3:302–14.

Delgado LM, Gutierrez M, Augello B, Fusco C, Micale L, Merla G, Pastene EA (2013) A 1.3-Mb 7q11.23 atypical deletion identified in a cohort of patients with williams-beuren syndrome. *Mol Syndromol* 4:143–7.

Edelmann L, *et al* (2007) An atypical deletion of the Williams-Beuren syndrome interval implicates genes associated with defective visuospatial processing and autism. *J Med Genet* 44:136–43.

Euteneuer J, Carvalho CMB, Kulkarni S, Vineyard M, Grady RM, Lupski JR, Shinawi M (2014) Molecular and phenotypic characterization of atypical Williams-Beuren syndrome. *Clin Genet [Internet]* 86:487–91.

Ewart a K, Morris C a, Atkinson D, Jin W, Sternes K, Spallone P, Stock AD, Leppert M, Keating MT (1993) Hemizygosity at the elastin locus in a developmental disorder, Williams syndrome. *Nat Genet* 5:11–6.

FUSCO C, *et al* (2014) Smaller and larger deletions of the Williams Beuren syndrome region implicate genes involved in mild facial phenotype, epilepsy and autistic traits. *Eur J Hum Genet* 22:64–70.

Hu S, Yang Y, Liu L, Tan Z, Zhao T (2017) High-resolution single nucleotide polymorphism arrays identified an atypical microdeletion of the Williams-Beuren syndrome interval in a patient presenting with a different phenotype. *Mol Med Rep* 15:2709–12.

Hussein IR, et al (2016). Genome wide array-CGH and qPCR analysis for the identification of genome defects in Williams ' syndrome patients in Saudi Arabia. *Molecular Cytogenetics*, 9:65.

Korenberg JR, Chen XN, Hirota H, Lai Z, Bellugi U, Burian D, Roe B, Matsuoka R (2000) Genome structure and cognitive map of Williams syndrome. *J Cogn Neurosci* 1:89–107.

Kozlowski P, Jasinska A, Kwiatkowski DJ (2008). New applications and developments in the use of multiplex ligation-dependent probe amplification. *Electrophoresis* 29:4627–4636.

Leme DES, et al (2013). Assessment of clinical scoring systems for the diagnosis os Williams-Beuren syndrome. *Genetics and Molecular Research*, 12:3407-11.

Li L, Huang L, Luo Y, Huang X, Lin S, Fang Q (2016) Differing Microdeletion Sizes and Breakpoints in Chromosome 7q11 . 23 in Williams-Beuren Syndrome Detected by Chromosomal Microarray Analysis 510080:268–75.

Lowery MC, Morris CA, Ewart A, Brothman LJ, Zhu XL, Leonard CO, Carey JC, Keating M, Brothman AR (1995) Strong correlation of elastin deletions, detected by FISH, with Williams syndrome: evaluation of 235 patients. *Am J Hum Genet* [Internet] 57:49–53.

Morris CA, Demsey SA, Leonard CO, Dilts C, Blackburn BL (1988) Natural history of Williams syndrome: physical characteristics. *J Pediatr* 113:318–26.

Morris CA. Williams Syndrome. Seattle (WA): University of Washington, Seattle; 1993-2019. Disponível <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK1249/>>, Acesso: julho de 2018.

PANI A M, et al (2010). Genome Rearrangements Detected by SNP Microarrays in Individuals with Intellectual Disability Referred with Possible Williams Syndrome. PLoS One 5(8):e12349.

POBER BR (2010) Williams–Beuren Syndrome. N Engl J Med 362:239-252.

Porter MA, Dobson-Stone C, Kwok JB, Schofield PR, Beckett W, Tassabehji M (2012) A Role for Transcription Factor GTF2IRD2 in Executive Function in Williams-Beuren Syndrome. PLoS ONE 7:e47457.

Schouten JP, McElgunn CJ, Waaijer R, Zwiijnenburg D, Diepvens F, Pals G (2002) Relative quantification of 40 nucleic acid sequences by multiplex ligation-dependent probe amplification. Nucleic Acids Res 30:e57.

Schubert C, Laccone F (2006) Williams-Beuren syndrome: Determination of deletion size using quantitative real-time PCR Int J Mol Med18:799–806.

Schubert C (2009) The genomic basis of the Williams - Beuren syndrome. Cell Mol Life Sci 66:1178–97.

Smoot L, Zhang H, Klaiman C, Schultz R, Pober B (2005) Medical overview and genetics of Williams-Beuren syndrome. Prog Pediatr Cardiol 20:195–205.

Souza DH, Ferreira DM, Rugolo LMSS. (2007) Fluorescent in situ hybridization (FISH) as a diagnostic tool for Williams-Beuren syndrome. Genet Mol Biol [Internet] 30:17–20.

Streăță I, Șerban-Șoșoi S, Budișteanu M, Pîrvu A, Burada F, Mixich F, Ioana M (2016) Array CGH - A Powerful Tool in Molecular Diagnostic of Pathogenic Microdeletions - Williams-Beuren Syndrome - A Case Report. Curr Health Sci J 42:207–12.

Stromme P, Bjornstad PG, Ramstad K (2002). Prevalence estimation of Williams syndrome.

Journal of child neurology 17:269–71.

Sugayama SMM, Leone C, Chauffaille MDLLF, Okay TS, Kim CA (2007) Williams Syndrome: development of a new scoring system for clinical diagnosis. Clinics (Sao Paulo) 62:159–66.

van Hagen JM, *et al* (2007) Contribution of CYLN2 and GTF2IRD1 to neurological and cognitive symptoms in Williams Syndrome. Neurobiol Dis 26:112–24.

Williams JCP, Barrat-Boyers BG, Lowe J (1961) Supravalvular aortic stenosis. Circulation 24:1311–18.

Xia Y, Huang S, Wu Y, Yang Y, Chen S, Li P, Zhuang J (2019) Clinical application of chromosomal microarray analysis for the diagnosis of Williams–Beuren syndrome in Chinese Han patients. Mol Genet Genomic Med 7:1–8.

7. REFERÊNCIAS

AAP. Health Care Supervision for Children With Williams Syndrome. **PEDIATRICS**, v. 107, n. 5, p. 1192–1204, 2001.

ANTONELL, A. et al. Williams syndrome: its clinical aspects and molecular bases. **Revista de neurologia**, v. 42 Suppl 1, p. S69-75, jan. 2006.

ANTONELL, A. et al. Partial 7q11.23 deletions further implicate GTF2I and GTF2IRD1 as the main genes responsible for the Williams-Beuren syndrome neurocognitive profile. **Journal of Medical Genetics**, v. 47, n. 5, p. 312–320, 2010.

BAUMER, A. et al. High level of unequal meiotic crossovers at the origin of the 22q11.2 and 7q11.23 deletions. **Human Molecular Genetics**, v. 7, n. 5, p. 887–894, 1998.

BAYÉS, M. et al. Mutational Mechanisms of Williams-Beuren Syndrome Deletions. **Am. J. Hum. Genet**, v. 73, p. 131–151, 2003.

BELLUGI, U. et al.) Bridging cognition, the brain and molecular genetics: evidence from Williams syndrome. **Trends Neurosci**. v. 22, n. 5, p. 197–207, 1999.

BEUREN, A.; APITZ, J.; HARMJANZ, D. Supravalvular Aortic Stenosis in Association with Mental Retardation and a Certain Facial Appearance. **Circulation**, v. 26, n. 6, p. 1235 LP – 1240, 1962.

BOTTA, A. et al. Detection of an atypical 7q11.23 deletion in Williams syndrome patients which does not include the STX1A and FZD3 genes. **Journal of medical genetics**, v. 36, n. 6, p. 478–80, 1999.

BOUCHIREB, K. et al. Clinical features and management of arterial hypertension in children with

Williams-Beuren syndrome. **Nephrology Dialysis Transplantation**, v. 25, n. 2, p. 434–438, 2010.

BRODER, K. et al. Elevated ambulatory blood pressure in 20 subjects with Williams syndrome. **American Journal of Medical Genetics**, v. 83, n. 5, p. 356–360, 1999.

DAI, L.; BELLUGI, U.; CHEN, X. NIH Public Access. **American Journal of Medical Genetics**, n. 3, p. 302–314, 2010.

DEL CAMPO, M. et al. Hemizyosity at the NCF1 gene in patients with Williams-Beuren syndrome decreases their risk of hypertension. **American journal of human genetics**, v. 78, n. 4, p. 533–42, 2006.

DELGADO, L. M. et al. A 1.3-Mb 7q11.23 atypical deletion identified in a cohort of patients with williams-beuren syndrome. **Molecular Syndromology**, v. 4, n. 3, p. 143–147, 2013.

DOYLE, T. F. et al. "Everybody in the world is my friend?" hypersociability in young children with Williams syndrome. **American Journal of Medical Genetics**, v. 124A, n. 3, p. 263–273, 2004.

DUTLY, F.; SCHINZEL, A. Unequal interchromosomal rearrangements may result in elastin gene deletions causing the Williams-Beuren syndrome. **Human molecular genetics**, v. 5, n. 12, p. 1893–1898, 1996.

DUTRA, R. L. et al. Copy number variation in Williams-Beuren syndrome: Suitable diagnostic strategy for developing countries. **BMC Research Notes**, v. 5, n. 1, p. 13, 2012.

EDELMANN, L. et al. An atypical deletion of the Williams-Beuren syndrome interval implicates genes associated with defective visuospatial processing and autism. **Journal of Medical Genetics**, v. 44, n. 2, p. 136–143, 2007.

ERONEN, M. et al. Cardiovascular manifestations in 75 patients with Williams syndrome. **Journal**

of **medical genetics**, v. 39, p. 554–558, 2002.

EUTENEUER, J. et al. Molecular and phenotypic characterization of atypical Williams – Beuren syndrome. **Clinical genetics**, v.86, n. 5, p. 487–491, 2014.

EWART, A K. et al. Hemizygosity at the elastin locus in a developmental disorder, Williams syndrome. **Nature genetics**, v. 5, n. 1, p. 11–16, 1993.

FERRERO, G. B. et al. Presenting phenotype and clinical evaluation in a cohort of 22 Williams-Beuren syndrome patients. **European Journal of Medical Genetics**, v. 50, n. 5, p. 327–337, 2007.

FERRERO, G. B. et al. An atypical 7q11.23 deletion in a normal IQ Williams–Beuren syndrome patient. **European Journal of Human Genetics**, v. 18, n. January 2009, p. 33–38, 2010.

FUSCO, C. et al. Smaller and larger deletions of the Williams Beuren syndrome region implicate genes involved in mild facial phenotype, epilepsy and autistic traits. **European Journal of Human Genetics**, v. 22, n. 1, p. 64–70, 2014.

GAGLIARDI, C. Unusual cognitive and behavioural profile in a Williams syndrome patient with atypical 7q11.23 deletion. **Journal of Medical Genetics**, v. 40, n. 7, p. 526–530, 2003.

GHAFFARI, M. et al. Genotype–phenotype correlation and the size of microdeletion or microduplication of 7q11.23 region in patients with Williams-Beuren syndrome. **Annals of Human Genetics**, v. 82, n. 6, p. 469–476, 2018.

GIORDANO, U. et al. Exercise testing and 24-hour ambulatory blood pressure monitoring in children with Williams syndrome. **Pediatric Cardiology**, v. 22, n. 6, p. 509–511, 2001.

HELLER, R. et al. Partial deletion of the critical 1.5 Mb interval in Williams-Beuren syndrome. **Journal of medical genetics**, v. 40, n. 8, p. e99, 2003.

HIROTA, H. et al. Williams syndrome deficits in visual spatial processing linked to GTF2IRD1 and GTF2I on chromosome 7q11.23. **Genetics in Medicine**, v. 5, n. 4, p. 311–321, 2003.

HOBART, H. H. et al. Inversion of the Williams syndrome region is a common polymorphism found more frequently in parents of children with Williams syndrome. **American Journal of Medical Genetics, Part C: Seminars in Medical Genetics**, v. 154, n. 2, p. 220–228, 2010.

HONJO, R. Detecção da microdeleção 7q11 . 23 por MLPA ® e estudo clínico dos pacientes com síndrome de Williams-Beuren. 2012.

HONJO, R. S. et al. Williams-beuren syndrome: A clinical study of 55 Brazilian patients and the diagnostic use of MLPA. **BioMed Research International**, v. 2015, 2015.

HOWALD, C. et al. Two high throughput technologies to detect segmental aneuploidies identify new Williams-Beuren syndrome patients with atypical deletions. **Journal of Medical Genetics**, v. 43, n. 3, p. 266–273, 2006.

HU, S. et al. High-resolution single nucleotide polymorphism arrays identified an atypical microdeletion of the Williams-Beuren syndrome interval in a patient presenting with a different phenotype. **Molecular Medicine Reports**, v. 15, n. 5, p. 2709–2712, 2017.

HUSSEIN, I. R. et al. Genome wide array-CGH and qPCR analysis for the identification of genome defects in Williams ' syndrome patients in Saudi Arabia. **Molecular Cytogenetics**, p. 1–13, 2016.

INOUE, K.; LUPSKI, J. R. Molecular mechanisms for genomic disorders. **Annual review of genomics and human genetics**, v. 3, p. 199–242, jan. 2002.

KAPLAN, P. et al. Contractures in patients with Williams syndrome. **Pediatrics**, v. 84, n. 5, p. 895–899, 1989.

KARMILOFF-SMITH, A et al. Using case study comparisons to explore genotype-phenotype correlations in Williams-Beuren syndrome. **Journal of medical genetics**, v. 40, p. 136–140, 2003.

KORENBERG, J. R. et al. VI. Genome structure and cognitive map of Williams syndrome. **Journal of cognitive neuroscience**, v. 12 Suppl 1, p. 89–107, jan. 2000.

KOZLOWSKI, P.; JASINSKA, A. J.; KWIATKOWSKI, D. J. New applications and developments in the use of multiplex ligation-dependent probe amplification. **Electrophoresis**, v. 29, n. 23, p. 4627–4636, 2008.

KRUSZKA, P. et al. Williams–Beuren syndrome in diverse populations. **American Journal of Medical Genetics, Part A**, v. 176, n. 5, p. 1128–1136, 2018.

LAURITO, S. et al. Detection of a Williams Beuren syndrome case by MLPA. **Medicina**, v. 73, n. 1, p. 47–50, 2013.

LEME, D.E.S. et al. Assessment of clinical scoring systems for the diagnosis os Williams-Beuren syndrome. **Genetics and Molecular Research**, v.12, n.3, p.3407-11, 2013.

LI, L. et al. Differing Microdeletion Sizes and Breakpoints in Chromosome 7q11.23 in Williams-Beuren Syndrome Detected by Chromosomal Microarray Analysis. **Molecular Syndromology**, v. 6, n. 6, p. 268–275, 2016.

LOPEZ-RANGEL, E. et al. Williams syndrome in adults. *Am J Med Genet*, v. 44, n. 6, p. 720–729, 1992.

LOWERY, M. C. et al. Strong correlation of elastin deletions, detected by FISH, with Williams syndrome: evaluation of 235 patients. **American journal of human genetics**, v. 57, n. 1, p. 49–53, 1995.

LUPSKI, J. R. Genomic disorders ten years on. **Genome Medicine**, v. 1, n. 4, p. 42, 2009.

MERLA, G. et al. Copy number variants at Williams-Beuren syndrome 7q11.23 region. **Human Genetics**, v. 128, n. 1, p. 3–26, 2010.

MORRIS, C. A. et al. Natural history of Williams syndrome: Physical characteristics. **The Journal of Pediatrics**, v. 113, n. 2, p. 318–326, 1988.

MORRIS, C. A. et al. Adults with Williams syndrome. **American Journal of Medical Genetics Supplement**, v. 6, p. 102–107, 1990.

MORRIS, C. A.; THOMAS, I. T.; GREENBERG, F. Williams syndrome: autosomal dominant inheritance. **American journal of medical genetics**, v. 47, n. 4, p. 478–81, set. 1993.

MORRIS, C. A. et al. GTF2I hemizyosity implicated in mental retardation in Williams syndrome: Genotype-phenotype analysis of five families with deletions in the Williams syndrome region. **American Journal of Medical Genetics**, v. 123A, n. 1, p. 45–59, 2003.

Morris CA. Williams Syndrome. Seattle (WA): University of Washington, Seattle; 1993-2019. Disponível <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK1249/>>, Acesso: julho de 2018.

OSBORNE, L. R. et al. A 1.5 million-base pair inversion polymorphism in families with Williams-Beuren syndrome. **Nature genetics**, v. 29, n. 3, p. 321–5, 2001.

PANI, A. M. et al. Genome Rearrangements Detected by SNP Microarrays in Individuals with Intellectual Disability Referred with Possible Williams Syndrome. v. 5, n. 8, 2010.

PÉREZ JURADO, L. A. et al. Molecular definition of the chromosome 7 deletion in Williams syndrome and parent-of-origin effects on growth. **American journal of human genetics**, v. 59, p. 781–792, 1996.

PLAJA, A. et al. A Novel Recurrent Breakpoint Responsible for Rearrangements in the Williams-Beuren Region. **Cytogenetic and Genome Research**, v. 146, n. 3, p. 181–186, 2015.

POBER, B. R. Williams–Beuren Syndrome. **New England Journal of Medicine**, v. 362, n.3, p.239-252, 2010.

PORTER, M. A. et al. A Role for Transcription Factor GTF2IRD2 in Executive Function in Williams-Beuren Syndrome. **PLoS ONE**, v. 7, n. 10, p. e47457, 2012.

ROBINSON, W. P. et al. Delineation of 7q11.2 deletions associated with Williams-Beuren syndrome and mapping of a repetitive sequence to within and to either side of the common deletion. **Genomics**, v. 34, n. 1, p. 17–23, 1996.

SCHOUTEN, J. P. et al. Relative quantification of 40 nucleic acid sequences by multiplex ligation-dependent probe amplification. **Nucleic acids research**, v. 30, n. 12, p. e57, 2002.

SCHUBERT, C.; LACCONE, F. Williams-Beuren syndrome: Determination of deletion size using quantitative real-time PCR. **International Journal of Molecular Medicine**, v. 18, n. 5, p. 799–806, 2006.

SCHUBERT, C. The genomic basis of the Williams - Beuren syndrome. **Cellular and Molecular Life Sciences**, v. 66, n. 7, p. 1178–1197, 2009.

SHAFFER, L. G.; BEJJANI, B. A. A cytogeneticist's perspective on genomic microarrays. **Human Reproduction Update**, v. 10, n. 3, p. 221–226, 2004.

SMOOT, L. et al. Medical overview and genetics of Williams-Beuren syndrome. **Progress in Pediatric Cardiology**, v. 20, n. 2, p. 195–205, 2005.

SNIJDERS, A. M. et al. Assembly of microarrays for genome-wide measurement of DNA copy

number. **Nature Genetics**, v. 29, n. 3, p. 263–264, 2001.

SOUZA, D. H. DE; MORETTI-FERREIRA, D. Fluorescent in situ hybridization (FISH) as a diagnostic tool for Williams-Beuren syndrome. **Genetics and Molecular Biology**, v. 30, n. 1, p. 17–20, 2007.

STREȚĂ, I. et al. Array CGH - A Powerful Tool in Molecular Diagnostic of Pathogenic Microdeletions - Williams-Beuren Syndrome - A Case Report. **Current health sciences journal**, v. 42, n. 2, p. 207–212, 2016.

STROMME, P.; BJORNSTAD, P. G.; RAMSTAD, K. Prevalence estimation of Williams syndrome. **Journal of child neurology**, v. 17, n. 4, p. 269–71, abr. 2002.

SUGAYAMA, S. M. M. et al. Williams-Beuren syndrome. Cardiovascular abnormalities in 20 patients diagnosed with fluorescence in situ hybridization. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia**, v. 81, n. 5, p. 468–473, 2003.

SUGAYAMA, S. M. M. et al. Renal and urinary findings in 20 patients with Williams-Beuren syndrome diagnosed by fluorescence in situ hybridization (FISH). **Revista do Hospital das Clínicas**, v. 59, n. 5, p. 266–272, 2004.

SUGAYAMA, S. M. M. et al. Williams Syndrome: development of a new scoring system for clinical diagnosis. **Clinics (Sao Paulo, Brazil)**, v. 62, n. 2, p. 159–166, 2007.

TASSABEHJI, M. et al. A transcription factor involved in skeletal muscle gene expression is deleted in patients with Williams syndrome. **Eur J Hum Genet**, v. 7, n. 7, p. 737–747, 1999.

TASSABEHJI, M. et al. Genetics: GTF2IRD1 in craniofacial development of humans mice. **Science**, v. 310, n. 5751, p. 1184–1187, 2005.

THOMAS, N. S. et al. Parental and chromosomal origins of microdeletion and duplication syndromes involving 7q11.23, 15q11-q13 and 22q11. **European Journal of Human Genetics**, v. 14, n. 7, p. 831–837, 2006.

URBAN, Z. et al. Letters to the Editor. **Am. J. Hum. Genet**, v. 59, p. 958–962, 1996.

VAN HAGEN, J. M. et al. Contribution of CYLN2 and GTF2IRD1 to neurological and cognitive symptoms in Williams Syndrome. **Neurobiology of Disease**, v. 26, n. 1, p. 112–124, 2007.

WESSEL, A. et al. Risk of sudden death in the Williams-Beuren syndrome. **American Journal of Medical Genetics**, v. 127A, n. 3, p. 234–237, 2004.

WILLIAMS, JCP; BARRAT-BOYERS, BG; LOWE, J. Supravalvular aortic stenosis. **Circulation**, v. 24, p. 1311–1318, 1961.

XIA, Y. et al. Clinical application of chromosomal microarray analysis for the diagnosis of Williams–Beuren syndrome in Chinese Han patients. **Molecular Genetics and Genomic Medicine**, v. 7, n. 2, p. 1–8, 2019.

YAGIHASHI, T. et al. Clinical utility of an array comparative genomic hybridization analysis for Williams syndrome. **Congenital Anomalies**, v. 54, n. 4, p. 225–227, 2014.

8. ANEXOS

8.1. Anexo I. Ficha de Anamnese.

FICHA DE ANAMNESE GENÉTICO-CLÍNICA

Síndrome de Williams-Beuren

DATA DE HOJE: ____/____/____



1. IDENTIFICAÇÃO:

Nome: _____

Idade: _____ Nasc.: ____/____/____ Local de nasc.: _____

RG-HC: _____ SAG: _____

Mãe: _____

Idade: _____ Profissão: _____ Escolaridade: _____

Pai: _____

Idade: _____ Profissão: _____ Escolaridade: _____

Separados: ()SIM ()NÃO

Endereço: _____

Bairro: _____ CEP: _____

Cidade: _____ Estado: _____

Telefone(s): () _____ Res. () _____ Cel. _____

Telefone para recado: () _____ Com: _____

ENCAMINHAMENTO:

Médico: _____

Instituição: _____ Especialidade: _____

Profissional (não médico): _____ Especialidade: _____

2. ANTECEDENTES GESTACIONAIS:

Pré-natal: ()SIM ()NÃO - Início: _____ meses Duração da gravidez: _____

Início dos movimentos fetais: _____ meses Intensidade: _____

Ganho de peso com a gravidez: _____ kg PA: _____

() Hemorragia - Período: _____

() Febre - Período: _____

() Contágio () Edema () Convulsões () Polidrâmnio () Oligodrâmnio

Enfermidades agudas/crônicas: _____

Fatores físicos/químicos: _____

Obs.: _____

3. PARTO:

() Hospitalar () Domiciliar () Outro – Especificar: _____

() Normal () Cesariana

Obs.: _____

4. CONDIÇÕES DO RN

Peso: _____ g (%) Comprimento: _____ cm (%) PC: _____ cm (%)

PT: _____ cm (%) APGAR _____ / _____ / _____ Chorou: ()SIM ()NÃO

Cianose: _____ Sucção: _____ Tônus: _____

() Icterícia: () Fototerapia () Exsanguineotransfusão

Permanência na maternidade: _____ dias Febre: _____ Convulsões _____

Obs.: _____

5. EVOLUÇÃO PEDIÁTRICA

Firmou cabeça: _____ Sorriso social: _____ Sentou: COM apoio _____ e SEM apoio _____ Andou: _____ 1ºs Palavras: _____ Frases: _____

Fechou fontanela: _____ Controle (esfintariano): Urinário: _____ Fecal: _____

Escolaridade: _____

Doenças próprias da Infância: _____

Complicações: _____

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

Obs.: _____

6. ANTECEDENTES FAMILIAIS

Deficiência mental: () SIM () NÃO - Qual: _____

Casos semelhantes na família: () SIM () NÃO - Parentesco: _____

Caso de malformação na família: () SIM () NÃO - Qual: _____

Parentesco: _____

Casos de alguma outra doença na família: () SIM () NÃO - Qual: _____

Parentesco: _____

Consangüinidade entre os pais? () Tipo: _____

O casal deseja mais filhos? () SIM () NÃO

Método contraceptivo utilizado: () Anticoncepcional: () Oral () Injetável - Qual: _____

() Dispositivo intrauterino () Preservativos () Laqueadura () Vasectomia

HEREDOGRAMA

EXAME FÍSICO

1. BIOMETRIA

Peso: _____g (%) Estatura: _____cm (%) Seg. inf.: _____cm Seg. Sup. _____cm

Envergadura: _____cm PT: _____cm (%) PC: _____cm (%) DII: _____mm (%)

DIE: _____mm (%) DIP: $0,7 + (0,59 \times \text{DII}) + (0,41 \times \text{DIE}) =$ _____mm (%)

Fontanelas: Anterior: _____cm Posterior: _____cm AP: _____cm BP: _____cm

IC: $\frac{\text{BP} \times 100}{\text{AP}} =$ _____cm

AP

CARACTERÍSTICAS DA SWB
Idade ao 1º Atendimento
Motivo da Consulta
EVOLUÇÃO:
Atraso DNPM / DM
Hipotonia
Sociabilidade Excessiva
Hiperatividade
Loquacidade
Voz grave
Deficiência de crescimento

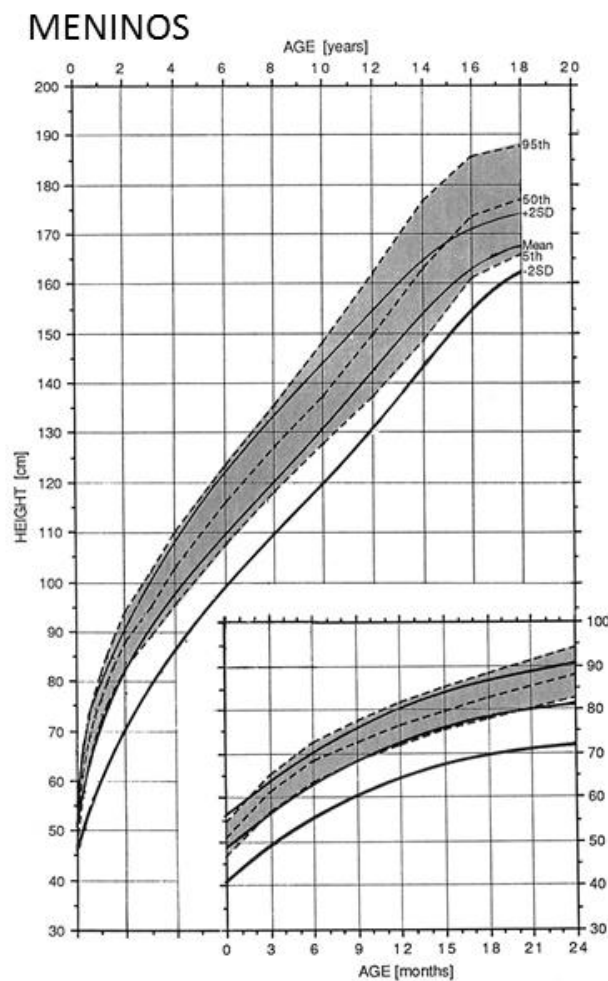
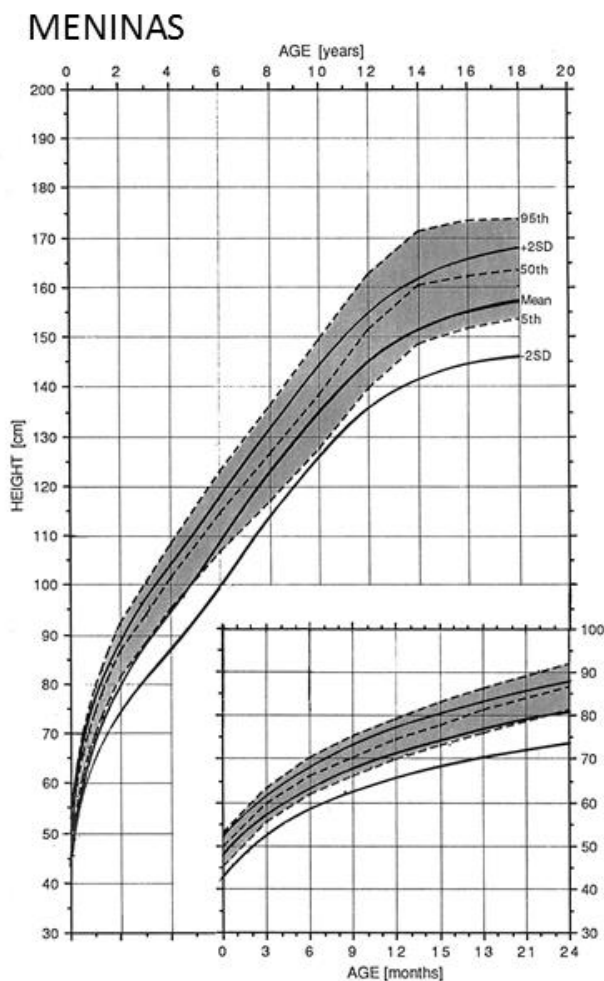
Dificuldade Alimentar
Vômitos
Constipação Intestinal
Hérnia inguinal e/ou umbilical
Problemas cardíacos especifiquem
Problemas respiratórios especifiquem
Otitis de Repetição
Problemas renais
Hipertensão arterial
CARACTERÍSTICAS FÍSICAS
Microcefalia
Fronte Alargada
Orelhas grandes em abano
Edema periorbital
Estrabismo
Íris estrelada
Ponte nasal baixa
Filtro nasal longo
Boca de carpa
Lábio inferior grosso

Anomalias dentárias especificarem
Bochechas proeminentes
Micrognatismo
Clinodactilia de 5º dígito
Halux valgo
Hipoplasia unguial
Hipercalcemia

Exames Solicitados e Resultados de Exames:**Atendido por:**

GRÁFICOS DE PARÂMETROS FÍSICOS

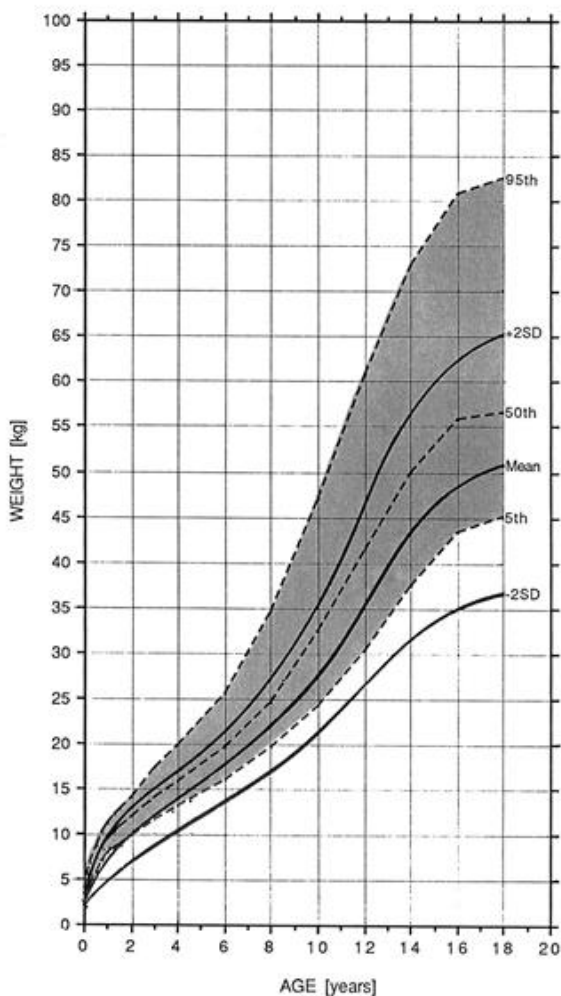
CRESCIMENTO



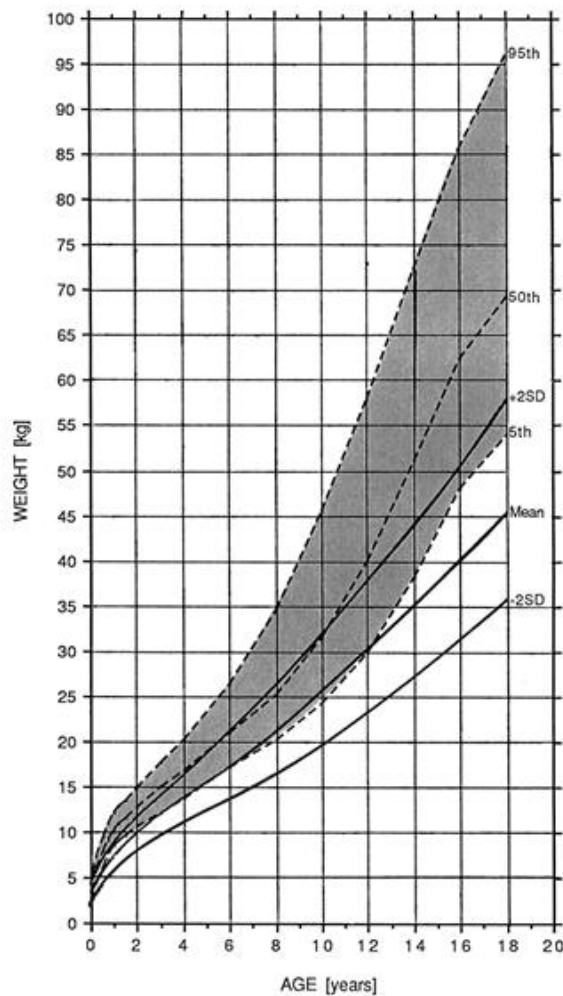
Legenda: Estatura na síndrome de Williams-Beuren, em ambos os sexos, do nascimento aos 20 anos, com parada com a normalidade. Linhas tracejadas (- - -): crescimento padrão; Linhas sólidas (-----): pacientes afetados. Referência: American Academy of Pediatrics. Health Care Supervision for Children with Williams Syndrome. **PEDIATRICS**, v.107, n.5, p.1192-1204, 2001.

PESO

MENINAS

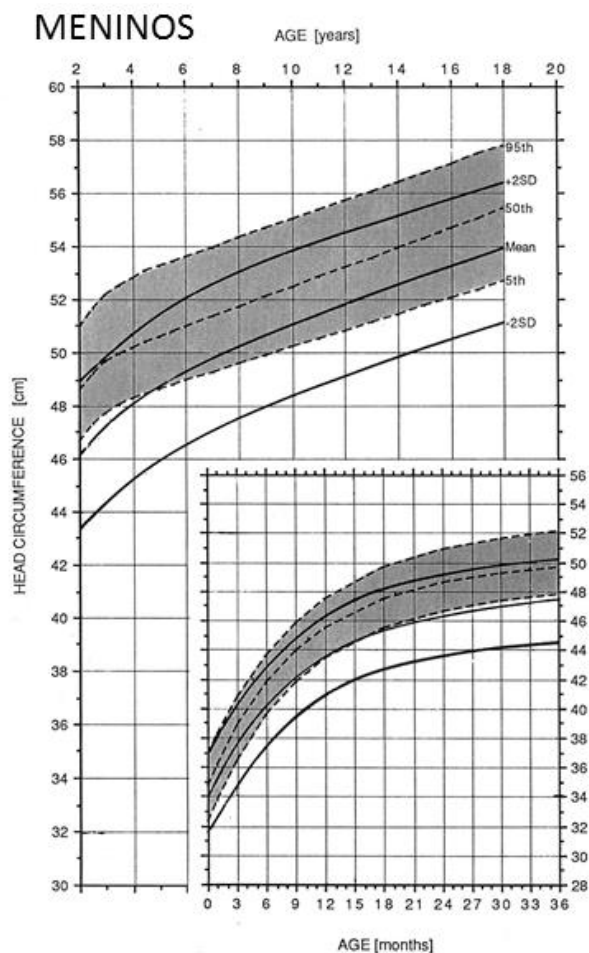
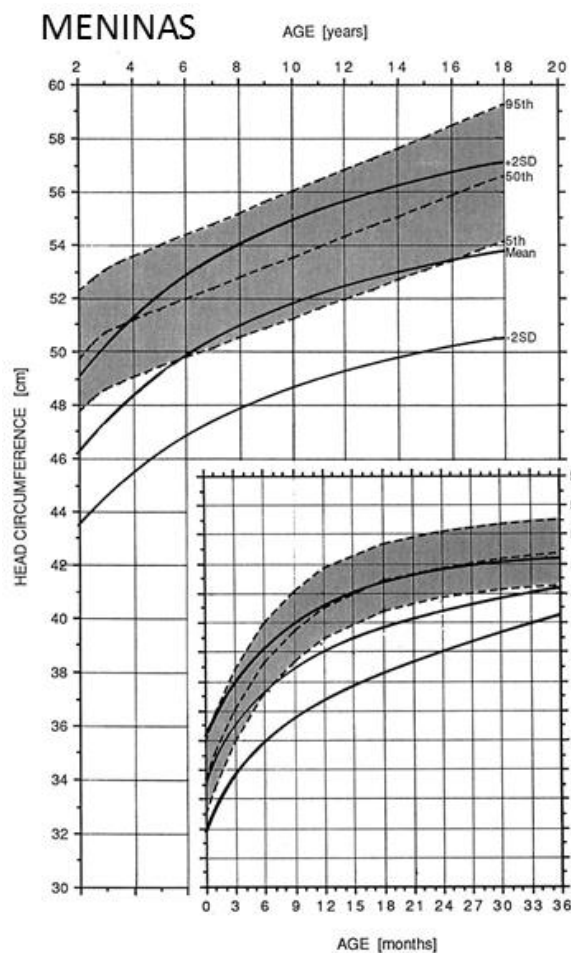


MENINOS



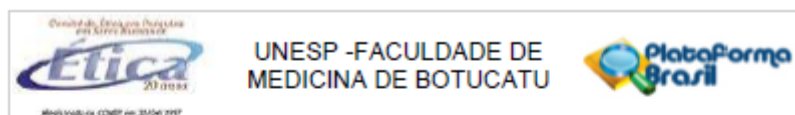
Legenda: Peso na síndrome de Williams-Beuren, em ambos os sexos, do nascimento aos 20 anos, comparada com a normalidade. Linhas tracejadas (- - -): peso padrão; Linhas sólidas (-----): pacientes afetados. Referência: American Academy of Pediatrics. Health Care Supervision for Children with Williams Syndrome. **PEDIATRICS**, v.107, n.5, p.1192-1204, 2001.

PERÍMETRO CEFÁLICO



Legenda: Perímetro cefálico (PC) na síndrome de Williams-Beuren, em ambos os sexos, do nascimento aos 20 anos, comparada com a normalidade. Linhas tracejadas (- - -): perímetro cefálico padrão; Linhas sólidas (-----): pacientes afetados. Referência: American Academy of Pediatrics. Health Care Supervision for Children with Williams Syndrome. **PEDIATRICS**, v.107, n.5, p.1192-1204, 2001.

8.2. Anexo II. Aprovação do Comitê de Ética e Pesquisa.



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DA EMENDA

Título da Pesquisa: Triagem de alterações genéticas em indivíduos com diagnóstico clínico de Síndrome de Williams-Beuren e com exame de FISH (-)

Pesquisador: Danilo Moretti Ferreira

Área Temática: Genética Humana:

(Trata-se de pesquisa envolvendo Genética Humana que não necessita de análise ética por parte da CONEP);

Versão: 2

CAAE: 56874416.0.0000.5411

Instituição Proponente: Departamento de Genética

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

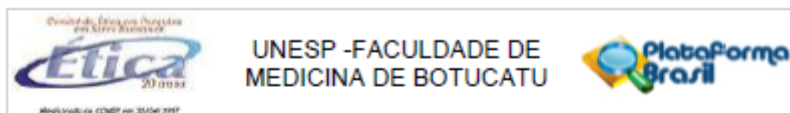
DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 2.370.344

Apresentação do Projeto:

A deleção hemizigótica de aproximadamente 1,5Mb a 1,8Mb da região do cromossomo 7 (7q11.23) acarreta em uma doença de perfil genético raro e multissistêmico. Faces típicas, doenças cardíacas congênitas, alterações do tecido conjuntivo combinados com déficit de aprendizado e crescimento, personalidade e perfil cognitivo característicos representam o conjunto de sinais clínicos que caracterizam a síndrome de Williams-Beuren (SWB). A etiologia genética compreendem uma região de genes de cópia única, com cerca de 28 genes, ligadas a duas regiões repetitivas (LCR – Low Copy Repeats). O diagnóstico clínico, dado pela técnica da hibridização in situ por fluorescência (FISH), pode não detectar o principal gene envolvido na síndrome (ELN), entretanto outras possibilidades podem falhar a detecção: a deleção pode não englobar o ELN; ou a deleção pode ter ocorrido em genes adjacentes à ELN na região 7q11.23; ou as características semelhantes à SWB podem se manifestar por influência ambiental, ou pode apresentar uma mutação de ponto em outros genes da região crítica da SWB, ou o indivíduo pode possuir outra síndrome, ou mesmo pode ter sido diagnosticado erroneamente. Em vista disso, esse trabalho pretende realizar um

Endereço: Chácara Butgnoli, s/n
Bairro: Rubião Junior **CEP:** 18.618-970
UF: SP **Município:** BOTUCATU
Telefone: (14)3880-1608 **E-mail:** capelup@fmb.unesp.br



Continuação do Parecer: 2.370.344

diagnóstico laboratorial correto de pacientes com diagnóstico clínico de SWB e exame de FISH (-) através de hierarquização de testes moleculares excludentes com maior rendimento, partindo de um diagnóstico diferencial para síndrome de Allaglie por FISH, seguido pela técnica de amplificação de múltiplas sondas dependentes de ligação

(MLPA), hibridização genômica comparativa em microarranjos (aCGH) e, por fim, realizando um sequenciamento de nova geração (SNG) de exomas de cinco genes ligados ao comportamento.

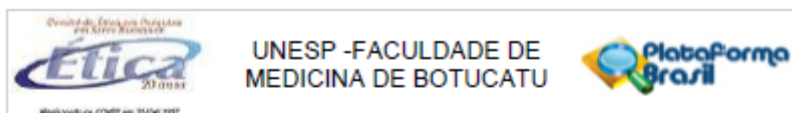
Serão incluídos 20 indivíduos que possuem registro junto ao Serviço de Aconselhamento Genético (SAG) do Departamento de Genética do Instituto de Biociências (IBB) da UNESP de Botucatu-SP. Culturas temporárias de linfócitos serão realizadas com

linfócitos do sangue periférico para obtenção de cromossomos metafásicos. Com isso a técnica da FISH (Hibridização in situ por fluorescência) será realizada utilizando uma sonda para deleção do gene JAG1 na Síndrome de Allaglie (AGS) para região 20p12. Para cada indivíduo, 20 metafases serão analisadas e foto documentadas em um microscópio de fluorescência (OLYMPUS BX61). As análises serão efetuadas pela presença ou ausência da hibridização, dada pela emissão ou não da fluorescência. A obtenção do DNA genômico, que será utilizado nas demais técnicas, será obtida a partir do sangue total. Após a extração, as amostras de DNA serão quantificadas em espectrofotômetro (NanoDrop 8000 - Thermo Fisher Scientific) e serão armazenadas em freezer (-20°C) para usos futuros. A técnica de MLPA (amplificação de múltiplas sondas dependentes de ligação), que permite detectar o número de cópias das sequências dos oito genes em uma única reação. A técnica de aCGH (hibridização genômica comparativa em microarranjos) consiste na comparação de dois genomas, amostra e referência (1:1), pela técnica de hibridização, com uma resolução de 5 a 10 Mb. Essa técnica verifica alterações no número de cópias (CNV) de cada cromossomo em uma única reação. Um painel customizado com exomas de cinco genes (LIMK1, GTF2I, GTF2IRD1, CLIP2, FZD9) envolvidos com o comportamento será desenhado e a reação de sequenciamento será realizada utilizando-se a plataforma MiSeq (Illumina®) a partir de uma estratégia de sequenciamento por síntese. Para cada exame proposto, se os mesmos forem positivos, um aconselhamento genético será elaborado pelo responsável do SAG-IBB a fim de informar os pacientes e seus familiares sobre a natureza, herança e implicações genéticas com intuito de auxiliá-los a respeito dos cuidados médicos e riscos para gerações futuras.

Objetivo da Pesquisa:

Fornecer diagnóstico clínico de 20 pacientes com suspeita clínica de síndrome de Williams-Beuren

Endereço: Chácara Butignoli, s/n
Bairro: Rubião Junior CEP: 18.618-970
UF: SP Município: BOTUCATU
Telefone: (14)3880-1608 E-mail: capeliup@fmb.unesp.br



Continuação do Parecer: 2.370.344

(SWB) com sinais clínicos confirmados por escore clínico APP não apresentaram a deleção da região 7q11.23 na análise citogenética - exame de FISH (Hibridização In situ por fluorescência) negativo.

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Descrito no projeto e nos termos apresentados.

Riscos:

A coleta de sangue pode causar algum desconforto físico e existe uma chance de ocorrer uma mancha roxa (hematoma) na região da coleta que desaparecerá bem rapidamente.

Benefícios:

Para cada exame proposto, se os mesmos forem positivos, um aconselhamento genético será elaborado pelo responsável do Serviço de Aconselhamento Genético (SAG) do Departamento de Genética do Instituto de Biociências (IBB) a fim de informar os pacientes e seus familiares sobre a natureza, herança e implicações genéticas com intuito de auxiliá-los a respeito dos cuidados médicos e riscos para gerações futuras.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

Cronograma do estudo adequado, com início previsto para 2018.

Pesquisa seguindo os critérios da ética em pesquisa.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Apresentados Termos de consentimento para o participante ou responsável e termo de assentimento - linguagem clara e com preceitos éticos seguidos.

Inclui os riscos e benefícios, o material a ser coletado, e solicita autorização para armazenamento do mesmo, em banco próprio do SAG.

Termos de autorização para o estudo apresentados adequadamente.

Recomendações:

Aprovação, sem necessidade de envio à CONEP.

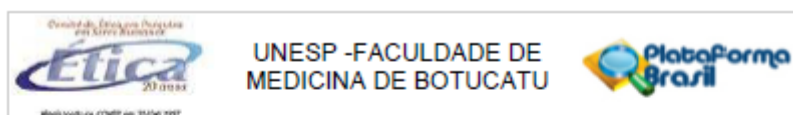
Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Não há.

Considerações Finais a critério do CEP:

O CEP em reunião ordinária de 06/11/2017, APROVA os documentos abaixo enviados na forma de "EMENDA", sem necessidade de envio à CONEP.

Endereço: Chácara Butignoli, s/n
Bairro: Rubião Junior CEP: 18.518-970
UF: SP Município: BOTUCATU
Telefone: (14)3880-1608 E-mail: capelup@fmb.unesp.br



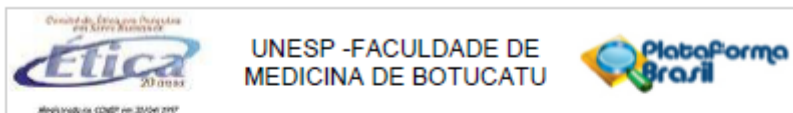
Continuação do Parecer: 2.370.344

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_1000251_E1.pdf	09/10/2017 19:43:53		Acelto
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	Termo_de_Assentimento_2017.pdf	05/10/2017 20:59:02	Danilo Moretti Ferreira	Acelto
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLE_responsaveis_2017.pdf	05/10/2017 20:58:51	Danilo Moretti Ferreira	Acelto
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLE_maiores_de_18_anos_2017.pdf	05/10/2017 20:58:37	Danilo Moretti Ferreira	Acelto
Folha de Rosto	Folha_de_rosto_2017.pdf	05/10/2017 20:58:09	Danilo Moretti Ferreira	Acelto
Cronograma	CRONOGRAMA.docx	08/06/2016 15:38:57	Priscila Medeiros	Acelto
Orçamento	Orcamento.docx	08/06/2016 15:37:10	Priscila Medeiros	Acelto
Declaração de Instituição e Infraestrutura	declaracaoSAG.pdf	08/06/2016 15:27:37	Priscila Medeiros	Acelto
Declaração de Instituição e Infraestrutura	declaracaoIB.pdf	08/06/2016 15:25:47	Priscila Medeiros	Acelto
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	Projeto_de_Pesquisa.pdf	08/06/2016 15:24:09	Priscila Medeiros	Acelto
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLEresponsaveis2016.doc	08/06/2016 15:14:48	Priscila Medeiros	Acelto
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	Termo_de_Assentimento_2016.doc	08/06/2016 15:12:47	Priscila Medeiros	Acelto
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLE_maiores_de_18_anos_2016.doc	08/06/2016 15:11:47	Priscila Medeiros	Acelto

Situação do Parecer:

Endereço: Chácara Butgnoll, s/n
 Bairro: Rubião Junior CEP: 13.619-970
 UF: SP Município: BOTUCATU
 Telefone: (14)3880-1608 E-mail: capelup@fmb.unesp.br



Continuação do Parecer: 2.370.344

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

BOTUCATU, 08 de Novembro de 2017

Assinado por:
SILVANA ANDREA MOLINA LIMA
(Coordenador)

Endereço: Chácara Butignoli, s/n
Bairro: Rubião Junior CEP: 18.518-970
UF: SP Município: BOTUCATU
Telefone: (14)3880-1608 E-mail: capelup@fmb.unesp.br

8.3. Anexo III. Termo de Consentimento Livre e Esclarecido para menores de 18 anos.



TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO - TCLE

Gostaríamos de saber se você, que apresenta um (a) filho (a) com resultado de FISH (-) para a Síndrome de Williams-Beuren (SWB), permite a participação do (a) mesmo (a) no projeto de pesquisa intitulado “**Triagem de alterações genéticas em indivíduos com diagnóstico clínico de Síndrome de Williams- Beuren e com exame de FISH (-)**” que será conduzido pelo Prof. Dr. Danilo Moretti-Ferreira do Serviço de Aconselhamento Genético (SAG) – IBB.

Gostaríamos que vocês soubessem que:

- Participar deste projeto é uma opção pessoal, podendo participar ou não;
- Caso vocês decidirem não participar ou desistirem de participar a qualquer momento seu filho (a) não perderão nenhum benefício ou tratamento que estiverem fazendo nesta instituição;
- A qualquer momento vocês terão a liberdade de buscar junto aos responsáveis pelo projeto, esclarecimentos de qualquer natureza, inclusive os relativos à metodologia do trabalho;
- Você receberá uma cópia deste Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE);
- O presente trabalho tem por objetivo fornecer um diagnóstico clínico fidedigno aos pacientes que apresentam sinais clínicos compatíveis com a SWB mas não apresentam deleção do gene da elastina, conforme análise-citogenética padrão ouro (FISH). Este projeto de pesquisa pretende buscar um diagnóstico através da hierarquização de testes laboratoriais excludentes.
- Caso vocês autorizem a participação do (a) seu filho (a) gostaríamos de informar-lhes que:
 - a) Serão coletados 5ml de sangue do (a) paciente, nos quais será utilizado nos seguintes exames: técnica de hibridização *in situ* por fluorescência (FISH), técnica de amplificação de múltiplas sondas dependentes de ligação (MLPA), hibridização genômica comparativa em microarranjos (aCGH) e sequenciamento de nova geração (SNG).
 - b) A coleta de sangue pode causar algum desconforto físico e existe uma chance de ocorrer

uma mancha roxa (hematoma) na região da coleta que desaparecerá bem rapidamente.

c) O material biológico (DNA) do (a) paciente que não for utilizado será armazenado em nossos bancos de estoque e poderá ser usado em futuras pesquisas de genes, relacionados com a Síndrome de Williams-Beuren, diante de novo TCLE, desde que seja autorizado por vocês.

d) Vocês estarão colaborando para aumentar os nossos conhecimentos sobre os casos de diagnóstico clínico para a Síndrome de Williams-Beuren com FISH (-).

e) Os resultados deste estudo talvez não sejam de benefício imediato para você ou sua família.

f) Os resultados poderão demorar meses para ficarem prontos.

g) Assim que existam resultados, laudos de aconselhamento genético serão emitidos e explicados detalhadamente a você pelo responsável do SAG, Prof. Dr. Danilo Moretti-Ferreira.

h) Os resultados deverão ser publicados em revistas científicas que circulem entre os profissionais da saúde que tenham interesse nesta área inclusive com fotos descritivas do (a) paciente.

i) Sempre que ocorrerem publicações científicas a sua identidade e do (a) seu filho (a) será mantida em absoluto sigilo.

j) Somente pesquisadores envolvidos com o projeto terão acesso aos dados completos, não sendo permitido, em nenhuma hipótese, o acesso dos dados por terceiros. Todo material é codificado tendo, cada participante, recebido um número de registro no SAG.

Todos os resultados de exames de FISH, MLPA, aCGH e SNG estarão disponíveis no prontuário do (a) paciente, seu filho (a), no SAG de Botucatu.

Eu, _____ Portador do R.G. N° ____
a)

Autorizo a participação do seu filho (a) no projeto de pesquisa “**Triagem de alterações genéticas em indivíduos com diagnóstico clínico de Síndrome de Williams-Beuren e com exame de FISH (-)**”. Declaro haver recebido as devidas explicações sobre o referido projeto, estar ciente sobre os itens acima mencionados e a participação é voluntário por opção própria.

- ☐ Autorizo a manutenção do DNA de meu filho (a) no Banco de DNA do SAG.
- ☐ Não autorizo a manutenção do DNA de meu filho (a) no Banco de DNA do SAG.

Assinatura do responsável

Data: ____/____/____

Nome do paciente: _____

Endereço:

Prof. Dr. Danilo Moretti-Ferreira

Fone: (14) 3880-0376 / 9754-5963

Endereço: Rubião Junior S/N – UNESP – Campus de Botucatu - Depto. de Genética – Serviço de Aconselhamento Genético

Botucatu/SP – CEP: 18618 000 sag@ibb.unesp.br

Qualquer dúvida adicional você poderá entrar em contato com o Comitê de Ética em Pesquisa, através do fone (14) 3880-1608/3880-1609 ou pelo endereço Chácara Butignoli s/n, Rubião Júnior - Botucatu - São Paulo CEP: 18618-970 (Próximo a FAMESP). Horário de funcionamento das 08:00 às 11:30/ 13:30 às 17:00.

8.4. Anexo IV. Termo de Consentimento Livre e Esclarecido para maiores de 18 anos.



TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO - TCLE

Gostaríamos de convidar o (a) Sr (a), que apresenta resultado de FISH (-) para a Síndrome de Williams- Beuren (SWB), para participar do projeto de pesquisa intitulado **“Triagem de alterações genéticas em indivíduos com diagnóstico clínico de Síndrome de Williams-Beuren e com exame de FISH (-)”**, que será conduzido pelo Prof. Dr. Danilo Moretti-Ferreira do Serviço de Aconselhamento Genético (SAG) – IBB.

Gostaríamos que o (a) Sr. (a) soubesse que:

- Participar deste projeto é uma opção pessoal, podendo participar ou não;
- Caso o (a) Sr (a) decida não participar ou desistir de participar a qualquer momento, você não perderá nenhum benefício ou tratamento que estiver fazendo nesta instituição;
- A qualquer momento o (a) Sr (a) terá a liberdade de buscar junto aos responsáveis pelo projeto, esclarecimentos de qualquer natureza, inclusive os relativos à metodologia do trabalho;
- O (a) Sr (a) receberá uma cópia deste Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE); sendo que a 2 vias ficara em arquivo pelos pesquisadores por 5 anos após o termino da pesquisa.
- O presente trabalho tem por objetivo fornecer um diagnóstico clínico fidedigno aos pacientes que apresentam sinais clínicos compatíveis com a SWB mas não apresentam deleção do gene da elastina, conforme análise-citogenética padrão ouro (FISH). Este projeto de pesquisa pretende buscar um diagnóstico através da hierarquização de testes laboratoriais excludentes.
- Caso o (a) Sr(a) aceite participar, gostaríamos de informar-lhe que:
 - a) Serão coletados 5ml de sangue, nos quais será utilizado nos seguintes exames: técnica de hibridização *in situ* por fluorescência (FISH), técnica de amplificação de múltiplas sondas dependentes de ligação (MLPA), hibridização genômica comparativa em microarranjos (aCGH) e sequenciamento de nova geração (SNG).
 - b) A coleta de sangue pode causar algum desconforto físico e existe uma chance de ocorrer

uma mancha roxa (hematoma) na região da coleta que desaparecerá bem rapidamente.

c) O material biológico (DNA) que não for utilizado será armazenado em nossos bancos de estoque e poderá ser usado em futuras pesquisas de genes, relacionados com a Síndrome de Williams- Beuren, diante de novo TCLE, desde que seja autorizado por você.

d) O (a) Sr (a) estará colaborando para aumentar os nossos conhecimentos sobre os casos de diagnóstico clínico para a Síndrome de Williams-Beuren com FISH (-).

e) Os resultados deste estudo talvez não sejam de benefício imediato para o (a) Sr (a) ou sua família.

f) Os resultados poderão demorar meses para ficarem prontos.

g) Assim que existam resultados, laudos de aconselhamento genético serão emitidos e explicados detalhadamente ao (à) Sr (a) pelo responsável do SAG, Prof. Dr. Danilo Moretti-Ferreira.

h) Os resultados deverão ser publicados em revistas científicas que circulem entre os profissionais da saúde que tenham interesse nesta área inclusive com fotos descritivas do (a) paciente.

i) Sempre que ocorrerem publicações científicas a sua identidade será mantida em absoluto sigilo.

j) Somente pesquisadores envolvidos com o projeto terão acesso aos dados completos, não sendo permitido, em nenhuma hipótese, o acesso dos dados por terceiros. Todo material é codificado tendo, cada participante, recebido um número de registro no SAG.

k) Todos os resultados de exames de FISH, MLPA, aCGH e SNG estarão disponíveis no seu prontuário no SAG de Botucatu.

Eu, _____ portador do R.G. Nº _____

Autorizo participar no projeto de pesquisa “**Triagem de alterações genéticas em indivíduos com diagnóstico clínico de Síndrome de Williams-Beuren e com exame de FISH (-)**”.

Declaro haver recebido as devidas explicações sobre o referido projeto, estar ciente sobre os itens acima mencionados e a participação é voluntário por opção própria.

- ☐ Autorizo a manutenção do meu DNA no Banco de DNA do SAG.
- ☐ Não autorizo a manutenção do meu DNA no Banco de DNA do SAG.

Assinatura

Data: ____/____/____

Nome: _____

Endereço:

Responsável pela Pesquisa:

Prof. Dr. Danilo Moretti-Ferreira

Fone: (14) 3880-0376 / 9754-5963

Endereço: Rubião Junior S/N – UNESP – Campus de Botucatu - Depto. De Genética – Serviço de Aconselhamento Genético

Botucatu/SP – CEP: 18618-000 sag@ibb.unesp.br

Qualquer dúvida adicional você poderá entrar em contato com o Comitê de Ética em Pesquisa, através do fone (14) 3880-1608/3880-1609 ou pelo endereço Chácara Butignoli s/n, Rubião Júnior - Botucatu - São Paulo CEP: 18618-970 (Próximo a FAMESP). Horário de funcionamento das 08:00 às 11:30/ 13:30 às 17:00.

8.5. Anexo V. Termo de Assentimento para maiores de 12 anos.



TERMO DE ASSENTIMENTO

Projeto de Pesquisa: Triagem de alterações genéticas em indivíduos com diagnóstico clínico de Síndrome de Williams-Beuren e com exame de FISH (-).

Pesquisador responsável: Prof. Dr. Danilo Moretti-Ferreira.

Por você ter mais de 11 anos, você já tem capacidade de entender e autorizar algumas coisas. Nós somos do Serviço de Aconselhamento Genético (SAG) do Instituto de Biociências de Botucatu (IBB- Unesp) e estamos realizando uma pesquisa que propõe fornecer diagnóstico clínico aos pacientes que apresentam sinais clínicos compatíveis com a Síndrome de William-Beuren (SWB) mas que apresentam o exame de FISH negativo.

Você possui características compatíveis com essa síndrome (SWB), mas no exame genético, realizado aqui no nosso Serviço de Aconselhamento Genético (SAG), você não foi diagnosticado (a) como portador (a) da deleção do gene da elastina.

Nós iremos aplicar alguns testes laboratoriais que irão nos ajudar a caracterizar o seu genótipo comportamental e cognitivo. Para isso, vamos estudar moléculas DNA que são obtidas a partir do sangue. Por esse motivo, nós iremos coletar 5 ml do seu sangue (equivalente a duas colheres de sopa) para que assim possamos obter o seu DNA. Esse material coletado poderá ser utilizado em outro projeto, portanto, quando nós formos utilizar novamente esse material você irá receber um comunicado e receberá outro Termo de Assentimento para que possa autorizar a utilização novamente desse material.

Nós não falaremos para outras pessoas que você está nesta pesquisa e também não compartilharemos informações sobre você para qualquer um que não trabalhe na pesquisa. Porém, quando nós tivermos um resultado nós poderemos contar sobre essa pesquisa a outros

cientistas e pesquisadores. Faremos isso escrevendo, compartilhando relatórios e indo a conferências e reuniões com pessoas que estão interessadas neste trabalho que estamos fazendo, porém sempre mantendo o absoluto sigilo sobre você.

Seus pais já concordaram com a sua participação nesta pesquisa. Mas agora queremos saber se você aceita participar e nos ajudar para que possamos estudar e obter mais conhecimento sobre suas características comportamentais e cognitivas compatíveis com a SWB.

Os seus pais, ao permitirem a pesquisa, assinaram um documento chamado de Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE). Queremos que você leia este documento também, e tendo qualquer dúvida, questão, ou não tenha entendido alguma coisa nos dois documentos, pergunte tudo o que queira saber para nós.

Somente depois de ler os dois documentos e tirar todas suas dúvidas você pode assinar ou não esse Termo de Assentimento.

Eu, entendi que a pesquisa é sobre minhas características comportamentais e cognitivas compatíveis com a síndrome de Williams-Beuren e que deverei doar meu sangue para realizar alguns testes laboratoriais nessa pesquisa. Entendi também que não gastarei ou pagarei qualquer coisa por participar desta pesquisa e que concordo, por vontade própria, em participar.

- ☐ Sim, desejo receber toda e qualquer informação genética decorrente deste projeto.
- ☐ Não desejo receber nenhuma informação genética decorrente deste projeto.

Armazenamento:

- ☐ Autorizo a manutenção do DNA de meu filho (a) no Banco de DNA do SAG.
- ☐ Não autorizo a manutenção do DNA de meu filho (a) no Banco de DNA do SAG.

Assinatura do adolescente
responsável

Assinatura do pai (mãe) ou

Data: ____ / ____ / ____

Responsável pela Pesquisa:

Prof. Dr. Danilo Moretti-Ferreira

Fone: (14) 3880-0376 / 9754-5963

Endereço: Rubião Junior S/N – UNESP – Campus de Botucatu - Depto. De Genética – Serviço de Aconselhamento Genético

Botucatu/SP – CEP: 18618-000 sag@ibb.unesp.br

Qualquer dúvida adicional você poderá entrar em contato com o Comitê de Ética em Pesquisa, através do fone (14) 3880-1608/3880-1609 ou pelo endereço Chácara Butignoli s/n, Rubião Júnior - Botucatu - São Paulo CEP: 18618-970 (Próximo a FAMESP). Horário de funcionamento das 08:00 às 11:30/ 13:30 às 17:00.

8.6. Anexo VI. Ficha com as principais características da SWB.

CARACTERÍSTICAS DA SWB
Idade ao 1º Atendimento
Motivo da Consulta
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 especifcarem
Problemas respiratórios especifcarem
Otites de Repetição
Problemas renais
Hipertensão arterial

CARACTERÍSTICAS FÍSICAS
Microcefalia
Fronte Alargada
Orelhas grandes em abano
Edema periorbital
Estrabismo
Íris estrelada
Ponte nasal baixa
Filtro nasal longo
Boca de carpa
Lábio inferior grosso
Anomalias dentárias especificarem
Bochechas proeminentes
Micrognatismo
Clinodactilia de 5º dígito
Hálux valgo
Hipoplasia ungueal
Hipercalcemia

8.7. Anexo VII. Tabela das Sondas do Kit SALSA MLPA P029-C1 WBS *probemix*, lote C1 0517.

<i>Length (nt)</i>	<i>SALSA MLPA probe</i>	<i>Chromosomal position</i>		
		<i>Reference</i>	<i>ELN</i>	<i>7q11.23</i>
64-70-76-82	<i>Q-fragments: DNA quantity; only visible with less than 100 ng sample DNA</i>			
88-92-96	<i>D-fragments: Low signal of 88 or 96 nt fragment indicates incomplete denaturation</i>			
100	<i>X-fragment: Specific for the X chromosome</i>			
105	<i>Y-fragment: Specific for the Y chromosome</i>			
132		5q31		
	<i>Reference probe 00797-L21698</i>			
142	<i>HSPB1 probe 09538-L09961</i>	Exon 1		
148	<i>HSPB1 probe 09540-L09963</i>	Exon 3		
154	<i>Reference probe 14924-L16657</i>	6q22		
160	<i>ELN probe 17573-L21523</i>	Exon 4		
166 *	<i>Reference probe 10904-L11573</i>	9q34		
178	<i>POR probe 13768-L21866</i>	Exon 11		
183 ¥ «	<i>STX1A probe 20987-L21869</i>	Exon 3		
192	<i>ELN probe 17575-L21525</i>	Exon 16		

197	Reference probe 05525-L04953	20q13
208	HSPB1 probe 09539-L09962	Exon 2
214	<i>LIMK1</i> probe 17576-L21868	Exon 13
227 ¥	<i>LIMK1</i> probe 08235-L29891	Exon 9
234	<i>TBL2</i> probe 17578-L21872	Exon 2
240 ¥ «	<i>FZD9</i> probe 21191-L29979	Exon 1
247	<i>CLIP2</i> probe 17580-L21530	Exon 10
254 *	Reference probe 05223-L26271	2q32
261	<i>ELN</i> probe 17579-L21529	Exon 9
274 «	<i>STX1A</i> probe 17582-L21880	Exon 7
281 «	<i>LIMK1</i> probe 17584-L21534	Exon 2
287	Reference probe 03926-L20793	15q21
293	<i>ELN</i> probe 17583-L21881	Exon 26
308	<i>ELN</i> probe 16350-L21883	Exon 27
315 *	Reference probe 20425-L27907	18q11
323	<i>ELN</i> probe 17585-L21884	Exon 3
330	<i>RFC2</i> probe 17586-L21885	Exon 10
337	<i>ELN</i> probe 01334-L21886	Exon 6

346 «	<i>ELN</i> probe 01335-L00879	Exon 33
355	POR probe 12692-L13770	Exon 12
364	Reference probe 06489-L06015	1p13
373	<i>ELN</i> probe 01336-L21887	Exon 20
382 «	<i>TBL2</i> probe 17587-L21537	Exon 7
390 «	<i>LIMK1</i> probe 01337-L21889	Exon 4
398	<i>CLIP2</i> probe 17588-L21888	Exon 4
407	<i>RFC2</i> probe 17589-L21890	Exon 3
418	<i>CLIP2</i> probe 01339-L00885	Exon 14
427	Reference probe 07817-L07547	3p22

8.8. Anexo VIII. Fotos do grupo de estudo.



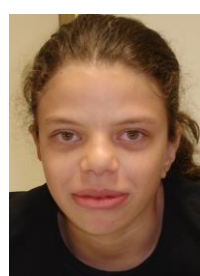
6928



7647



7708



7734



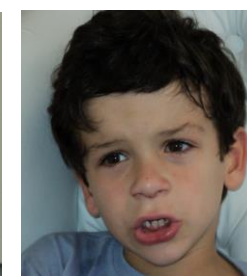
7894



7958



7959



7969



7992



8028



8029



8030



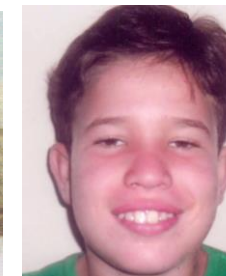
8042



8066



8070



8074



8093



8174



8224



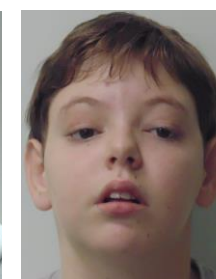
8227



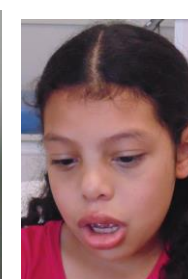
8330



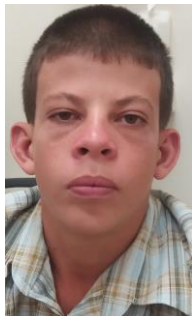
8366



8391



8410



8437



8445



8475



8478



8491



8508

8.9. Anexo IX. Perfil Clínico do grupo de estudo.

Casos																
	6928	7647	7708	7734	7894	7958	7959	7969	7992	8028	8029	8030	8042	8066	8070	
Características Gerais																
Sexo	Masc.	Mas c.	Mas c.	Fem.	Masc.	Fem.	Masc.	Masc.	Masc.	Fem.	Fem.	Masc.	Fem.	Masc.	Fem.	
Idade Gestacional (semanas)	40s	-	-	40s	9m (40s)	40s	7m (gêmeos) (30s)	36s	9m (40s)	40s	9m (40s)	8m (35s)	40s	-	39s	
Peso RN (percentil)	3350	3200	-	3300	3200	3000	-	2200	3450	3600	2600	1910	3300	-	2400	
Comprimento RN (percentil)	53		-	48	51	50	59	44	52	49	-	41	49	-	47	
Idade ao 1º Atendimento	1 ano	11 anos	11 anos	14 anos	7 anos	35 anos	25 anos	5 anos	9 anos	11 anos	8 anos	1 ano	10 anos	7 anos	8 anos	
Estatura (percentil)	73	138	137	142	127	162	183	115	134	146	137	68	144	123	-	
Peso (percentil)	9400 g	34kg	32	32	30,12	61,00	60	19,5	30,55	39,7	28,6	-	35	22,55	-	
P.C. (percentil)	47	52,5	52	-	52	52	54	-	51	53,5	51	41	54	49,5	-	
Crescimento																
Déficit de crescimento < p 5	-	+	+	+	+	+	-	+	-	-	+	+	-	+	+	

	Casos														
	6928	7647	7708	7734	7894	7958	7959	7969	7992	8028	8029	8030	8042	8066	8070
Nariz curto ou narinas antevertidas	NR	+	NR	NR	-	NR	+	+	-	-	+	+	-	+	-
Hipoplasia malar	NR	+	NR	+	-	+	+	+	-	-	+	-	+	-	-
Filtro longo	+	NR	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	-
Dentes pequenos, espaçados	+								+				+		
Boca grande	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	-	+	+	+
Queixo pequeno	+	NR	+	NR	-	+	retrognatismo	+	macrognatismo /prognatismo	+	+	+	-	+	+
Sobrancelhas largas	NR	+	-	NR	-	NR	+	-	+	-	+	NR	+	-	-
Estrabismo	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+
Íris de padrão estrelado	-	NR	+	+	+	+	+	+	-	+	-	+	-	+	+
Nariz bulboso		+	+	+			+		+						

	Casos															
	6928	7647	7708	7734	7894	7958	7959	7969	7992	8028	8029	8030	8042	8066	8070	
Bochechas proeminentes	-	+	+	NR	+	+	+	+	-	+	+	+	-	+	+	
Lábios espessos	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
Má oclusão	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
Lóbulos da orelha proeminentes									+							
Cardiopatias																
Estenose aórtica supra valvular	-	-	NR	-	-	-	-	-	-	-	-	-	NR	-	-	
Estenose artéria pulmonar periférica	-	-	NR	-	-	-	-	-	-	-	-	-	NR	-	-	
Outras cardiopatias																
Hipertensão arterial	-	-	NR	NR	-	-	-	-	-	-	-	-	Já referi u episódio	NR	NR	
Sopro cardíaco	-	-	NR	NR	-	-	+	-	+	-	-	-	-	NR	NR	

	Casos															
	6928	7647	7708	7734	7894	7958	7959	7969	7992	8028	8029	8030	8042	8066	8070	
Outras	-	-	NR	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	NR	+	
Tecido conectivo																
Voz rouca	-	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+	+	+	
Hérnia inguinal e ou umbilical	-	+	NR	NR	-	-	-	-	+	-	-	Umbilical	-	+	-	
Pescoço longo ou ombro caído	NR	-	NR	NR	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
Limitação articular ou frouxidão	NR	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	-	-	+	+	
Cálcio																
Hipercalciuria																
Hipercalcemia	+	NR	-	NR	-	-	-	-	-	NR	-	-	NR	NR	-	
Escore AAP	5	5	5	6	6	7	8	6	4	5	6	3	4	6	6	

Casos															
	8074	8093	8174	8224	8227	8330	8366	8391	8410	8437	8445	8475	8478	8491	8508
Características Gerais															
Sexo	Mas c.	Masc .	Masc.	Masc.	Masc.	Masc.	Masc.	Masc	Fem.	Masc.	Fem.	Masc.	Fem.	Fem.	Masc.
Idade Gestacional (semanas)	38s	8m (35s)	35s	40s	39s	9m (40s)	-	36s	9m (40s)	-	-	-	-	40s	-
Peso RN (percentil)	3400	2215	2750	2750	2815	3100	3200	2300	3140	3400	-	-	-	2,85	-
Comprimento RN (percentil)	49	30	46	53	48	49	48	46	-	-	-	-	-	45	-
Idade ao 1º Atendimento	8 anos	12 anos	8 meses	3 anos e 11m	12 anos	14 anos	19.5m	10 anos	10 anos	-	6 anos	8 anos	38anos	1 ano e 8 meses	-
Estatura (percentil)	122	144	p 50- 75	95	148	152	179	144	126,5	155	104,5	?	152	72	-
Peso (percentil)	23,8	39,6	P 75	15,00	36,40	33,4	58	44	26,7	43	15,3	29,7	41,1	7,905	-
P.C. (percentil)	54,5	52	menos 2 SD	46	53	53	52	46	48	53,5	45	50,5	50	44,5	-
Crescimento															
Déficit de crescimento < p 5	+	+	-	-	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+

Casos															
	8074	8093	8174	8224	8227	8330	8366	8391	8410	8437	8445	8475	8478	8491	8508
Características															
Gerais															
Constipação crônica	-	NR	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-
Vômitos ou refluxo gastro encefálico	+	+	+	+	-	-	-	+	-	-	+	-	-	-	-
Comportamento e desenvolvimento															
Personalidade amigável	+	+	+	+	+	-	*	NR	+	+	+	+	+	-	+
Atraso de fala, excesso de fala	+	+	+	-	+	-	+	NR	+	+	+	+	+	-	+
Deficiência mental *	+	+	adequa do com dificuldade escolar	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+
Craniofacial															
Estreitamento bitemporal	+		+	+					+		+				

Casos															
	8074	8093	8174	8224	8227	8330	8366	8391	8410	8437	8445	8475	8478	8491	8508
Características Gerais															
Hipertensão arterial	-	-	+	-	-	-	-	-	NR	-	+	-	-	-	-
Sopro cardíaco	-	-	-	-	-	+	-	-	NR	-	-	-	-	-	+
Outras	-	-	-	-	-	-	+	-	NR	-	+	-	+	-	-
Tecido conectivo															
Voz rouca	+	+	+	-	+	+	+	-	+	+	+	+	+	-	+
Hérnia inguinal ou umbilical	-	-	-/+	-	-	-/+	-	+	-	-	-	-/+	-	-	-
Pescoço longo ou ombro caído	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+
Limitação articular ou frouxidão	+	+	+	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	+
Cálcio															
Hipercalciúria															
Hipercalcemia	-	-	-	-	-	-	-	-	-	NR	NR	-	-	-	-

Casos															
	8074	8093	8174	8224	8227	8330	8366	8391	8410	8437	8445	8475	8478	8491	8508
Características Gerais															
Escore AAP	6	6	8	5	9	3	7	6	4	4	6	6	5	3	6

8.10. Anexo X. Tabela com as características clínicas dos pacientes dos artigos com deleções atípicas.

Artigo	Paciente	Sexo	Idade	Tamanho da Deleção	Características Clínicas	Correlação Genótipo-Fenótipo
Antonell et al., 2009	NW1 II.3	F	22 anos	817kb	Estreitamento bitemporal, edema periorbital, lábios espessos, boca grande, lóbulos proeminentes nas orelhas, atraso na fala, hipersociabilidade, EASV, hipertensão e voz grossa.	Comparações clínicas e moleculares de nossos pacientes com relação aos indivíduos da SWB reforçam ainda mais que a deleção de <i>LIMK1</i> sozinha não seria suficiente para causar o comprometimento das capacidades visuoespaciais e de construção como proposto, e que a deleção de <i>GTF2I</i> e <i>GTF2IRD1</i> pode contribuir para algumas das características craniofaciais, o déficit intelectual global e alguns aspectos do perfil cognitivo, como a cognição construtiva visuoespacial. Nossos dados confirmam que a hemizigose apenas para <i>GTF2IRD1</i> não é suficiente para causar o déficit de construção visuoespacial, mas pode contribuir para a personalidade hipersociável.
	NW1 II.4	F	20 anos	817kb	Testa larga, estreitamento bitemporal, edema periorbital, filtro longo, lábios espessos, boca grande, lóbulos proeminentes nas orelhas, atraso na fala, fobias e ansiedade, hipersociabilidade e voz grave.	
	NW1 III.4 *	M	18 meses	817kb	Testa larga, estreitamento bitemporal, edema periorbital, pregas epicânticas, ponte nasal baixa, filtro longo, hipoplasia malar, bochechas proeminentes, lóbulos proeminentes nas orelhas, atraso na fala, EASV e voz grave.	
	NW2 II.1	F	30 anos	610kb	Dolicocefalia, testa larga, estreitamento bitemporal, nariz curto arrebicado com ponta bulbosa, filtro longo, hipoplasia malar, bochechas proeminentes, lóbulos proeminentes nas orelhas, hipersociabilidade e EPP.	
	NW2 III.1 *	NR	4 meses	610kb	Testa larga, estreitamento bitemporal, edema periorbital, ponta nasal baixa, nariz curto arrebicado com ponta bulbosa, filtro longo, hipoplasia malar, bochechas proeminentes, lóbulos proeminentes nas orelhas, queixo pequeno (+/-), EASV e EPP.	

Artigo	Paciente	Sexo	Idade	Tamanho da Deleção	Características Clínicas	Correlação Genótipo-Fenótipo
Botta et al., 1999	Paciente A	F	6 anos	850kb	Edema periorbital, pregas epicânticas, íris estrelada, hipoplasia malar, nariz curto com narinas antevertidas, lábios grossos e úvula bífida. EASV e valva pulmonar displásica. Dificuldades de articulação leves, dificuldades nas habilidades motoras perceptuais e visuais. Hiperatividade com hiperestímia. Ansiedade.	Os pacientes descritos exibem todo o espectro do fenótipo da SWB, mas abrigam deleções aproximadamente metade do tamanho das deleções típicas observadas nos pacientes com SWB. Apenas dois genes (<i>STX1A</i> e <i>FZD3</i>) foram mapeados na região não deletada em nossos pacientes. A haploinsuficiência para estes dois genes na síndrome de SWB tem sido postulada como contribuindo para vários aspectos do fenótipo de SWB, particularmente os sintomas neurológicos. Esses dois pacientes com deleções que não incluem esses genes, mas com um fenótipo clássico incluindo retardo mental, colocam questões adicionais na compreensão da correlação genótipo-fenótipo em SWB. Nossa observação sugere que os genes centroméricos conhecidos para o <i>ELN</i> podem estar envolvidos apenas na hipercalcemia e não no restante do fenótipo da SWB. Estas conclusões implicariam genes entre o <i>ELN</i> e o marcador polimórfico D7S489A na maioria dos aspectos fenotípicos dos SWB.
	Paciente B	M	2 anos	850kb	Sobrançelas esparsas, edema periorbital, hipertelorismo, uma ponte nasal plana, um nariz curto com narinas antevertidas e uma boca grande com lábios grossos, hérnia inguinal bilateral, EAP esquerda. Comportamento amigável, alegre e um pouco hiperativo. Leve retardo mental.	
Dai et al., 2009	Paciente 5889	M	14 meses	~1.4Mb	Estreito bitemporal, íris estrelada, pregas epicânticas, edema periorbitário, sobrançela medial, hipoplasia malar, bochechas proeminentes, nariz curto, ponta nasal bulbosa, filtro longo, lábios proeminentes, queixo pequeno, anormalidades dentárias, má oclusão, EASV, PPS, estenose da artéria renal, hipertensão, pescoço longo ou ombros inclinados, tronco longo e hiperflexibilidade.	Estes resultados permitem a conclusão de que a deleção do gene para <i>GTF2IRD1</i> está associada às características faciais de SWB observadas em 5889. O sujeito 5889 teve desempenho ruim em alguns dos testes espaciais é similar àquele de SWB típico, sugerindo que <i>GTF2IRD1</i> pode ser importante para aspectos específicos da cognição visuoespacial, como a integração visual-motora. Sugerimos que a deleção do <i>GTF2IRD1</i> não é suficiente para perturbar todo o desempenho visual-espacial, mas é mais importante para os déficits motores típicos na construção visuoespacial, uma característica marcante da disfunção cognitiva do SWB. Neste relatório, o comportamento social do SWB atípico foi associado à deleção atípica preservando o <i>GTF2I</i> .
Delgado et al., 2013	WBS269-023A1	F	5 meses	~1.3Mb	EPP, comunicação interventricular, face mediana achatada, ponte nasal baixa, narinas antevertidas, estreitamento bitemporal, edema periorbital, filtro longo, lábios grossos e micrognatia discreta, perfil de desenvolvimento levemente atrasado para sua idade cronológica e atrasos principalmente no desenvolvimento motor.	O fenótipo do paciente relatado aqui está de acordo com Dai et al. [2009], que descreveu um paciente portador de uma deleção completa do gene <i>GTF2IRD1</i> , mas preservando o gene <i>GTF2I</i> . É digno de nota que essas manifestações clínicas não se encaixam completamente nos dados relatados por outros autores que mostraram que pacientes com SWB e pequenas deleções preservando os genes <i>GTF2IRD1</i> e <i>GTF2I</i> tinham características craniofaciais leves.

Artigo	Paciente	Sexo	Idade	Tamanho da Deleção	Características Clínicas	Correlação Genótipo-Fenótipo
Doyle <i>et al.</i> , 2004	5889	F	2 anos e 6 meses	Região centromérica da deleção comum e inclui os genes <i>FKBP6</i> e <i>FZD9</i>	Características físicas de WS, incluindo baixa estatura, aparência facial típica, estenose aórtica supra-valvar e pouco da hipersociabilidade.	Dados obtidos de uma criança pequena com SWB que tem uma deleção menor e muitas características físicas de SWB, mas que não demonstra hipersociabilidade, fornecendo pistas intrigantes para uma base genética de social comportamento nesta síndrome. Estes dados sugerem o envolvimento de uma predisposição genética na expressão de hipersociabilidade em SWB.
Edelmann <i>et al.</i> , 2007	41A	F	6 anos e 6 meses	2.4 - 3.1 Mb	Dentes amplamente espaçados, uma boca larga e lábios proeminentes. Estrabismo decorrente de uma cirurgia.	Nossos resultados mostram que a hemizigose dos fatores de transcrição do <i>GTF2I</i> é suficiente para produzir múltiplos aspectos do perfil cognitivo-comportamental, incluindo habilidades de construção visuoespacial prejudicadas, uma personalidade excessivamente amigável, acompanhada por ansiedade excessiva não-social e atraso de linguagem.
Euteneuer <i>et al.</i> , 2013		F	20 meses	81.8 kb	Sopro de ejeção sistólica, EASV, estenose grave da via de saída do ventrículo direito, pequeno forame oval patente e aumento da velocidade no arco descendente da aorta. Hipercalcemia, dismorfia facial leve, inchaço periorbitário, palato alto arqueado, dificuldades de alimentação, fenda glútea alta e clinodactilia no quinto dedo do pé. Atrasos em suas habilidades motoras finas	As anormalidades cardiovasculares em nosso paciente foram marcantes e mais graves em comparação com as relatadas nos outros casos, apesar de terem deleções semelhantes. Isso implica que outros fatores podem estar contribuindo para esse fenótipo. Este relatório sugeriu que a heterozigosidade do <i>LIMK1</i> sozinho não é suficiente para o WSCP. Esses resultados sugerem que a deleção de <i>GTF2I</i> e <i>GTF2IRD1</i> pode contribuir para algumas das características craniofaciais, o déficit intelectual global e alguns aspectos do perfil cognitivo na SWB. Também é possível que a deleção completa de <i>GTF2I</i> , <i>GTF2IRD1</i> , <i>CLIP2</i> e <i>LIMK1</i> seja necessária para gerar o WSCP típico e que a deleção parcial desses genes resulte em um fenótipo mais suave. O mecanismo de hipercalcemia na SWB não é compreendido, embora um relatório recente tenha sugerido insuficiência de <i>GTF2I</i> , um gene não deletado em nosso paciente, pode desempenhar um papel através da superexpressão dos canais potenciais do receptor transiente C3 (<i>TRPC3</i>).
Ferrero <i>et al.</i> , 2010	WBS207	M	11 anos	≈1Mb (0.84–0.94Mb)	EASV, estenose pulmonar valvular, estreitamento bitemporal, nariz arrebitado curto, ponta nasal bulbosa, filtro longo, lábios espessos, hipotireoidismo subclínico, enurese, estrabismo, hipermetropia, sinostose radioulnar, hérnia umbilical e voz rouca.	Nossos resultados são consistentes com a hipótese de que a hemizigocidade dos genes <i>GTF2IRD1</i> e <i>GTF2I</i> pode estar envolvida nos distúrbios faciais e nos déficits motor e cognitivo específicos observados em pacientes com SWB.

Artigo	Paciente	Sexo	Idade	Tamanho da Deleção	Características Clínicas	Correlação Genótipo-Fenótipo
Fusco et al., 2014	WBS 179	F	5.5 anos	≈ 4.15 Mb	Incapacidade intelectual grave, EPP, estenose pulmonar valvular, boca larga, testa larga, microcefalia, edema periorbital, pregas epicânticas, hipoplasia malar, nariz curto arrebitado, filtro longo, lábios espessos, bochechas proeminentes, anormalidades dentárias / má oclusão, dificuldades alimentares, ganho de peso anormal, constipação, refluxo gastro-esofágico, estrabismo, cifose, hérnia umbilical, voz rouca e hiperacusia.	A correlação genótipo-fenótipo nos pacientes descritos sugere que a haploinsuficiência de <i>HIP1</i> e <i>YWHAG</i> pode causar déficits neurológicos e neuropsicológicos graves, incluindo epilepsia e traços autistas, e que a preservação dos genes <i>BAZ1B</i> e <i>FZD9</i> pode estar relacionada às características faciais leves e déficits neuropsicológicos moderados. Este relatório destaca a importância de caracterizar pacientes adicionais com 7q11.23 deleções atípicas comparando características neuropsicológicas e clínicas entre esses indivíduos para lançar luz sobre o papel patogênico dos genes dentro e flanqueando a região da SWB.
	WBS 160	F	14.6 anos	≈ 4.22 Mb	Incapacidade intelectual grave, boca larga, microcefalia, estreitamento bitemporal, edema periorbital, pregas epicânticas, íris estrelada, hipoplasia malar, nariz curto arrebitado, filtro longo, lábios espessos, bochechas proeminentes, anormalidades dentárias / má oclusão, dificuldades de alimentação, ganho de peso anormal, refluxo gastro-esofágico, estrabismo, cifose, hiperlordose, voz rouca, hiperacusia, epilepsia e escoliose.	
	WBS 154	F	15 anos	1.04 Mb	Incapacidade intelectual moderada, microcefalia, estreitamento bitemporal, edema periorbital, hipoplasia malar, filtro longo, lábios espessos, bochechas proeminentes, estrabismo, cifose e hiperacusia.	
	WBS 166	M	6.6 anos	≈1Mb (0.84–0.94Mb)	Incapacidade intelectual moderada, EASV, EPP, hipertensão, edema periorbital, pregas epicânticas, hipoplasia malar, bochechas proeminentes, constipação, refluxo gastro-esofágico, estrabismo, voz rouca e hiperacusia.	

Artigo	Paciente	Sexo	Idade	Tamanho da Deleção	Características Clínicas	Correlação Genótipo-Fenótipo
Gagliardi et al., 2003		M	5 anos	1Mb (0.84–0.94Mb)	EASV, refluxo vesico uretérico com megaureter direito. Dismorfismo facial: discreto espessamento das características faciais, estreitamento bitemporal, sobrancelhas esparsas, fendas palpebrais inclinadas para baixo, olhos profundos, bochechas proeminentes, ponta triangular bulbosa nasal, filtro labial longo e <i>leatureless</i> e macrostomia, tônus musculares levemente diminuídos, hipertonia das articulações e aumento dos reflexos tendinosos profundos".	Nossos resultados sugerem que a deleção do <i>CYLN2</i> pode causar comprometimento cognitivo, mas não é suficiente para produzir o perfil cognitivo típico da síndrome de Williams. O gene <i>GTF2I</i> localizado na porção telomérica da região crítica SWB pode ser responsável por algumas das características cognitivas e comportamentais da doença. Nossos dados também mostram que a hemizigose para <i>LIMK1</i> e <i>CYLN2</i> , embora não seja suficiente para gerar o perfil cognitivo da síndrome de Williams, pode causar alterações no perfil cognitivo. Muito provavelmente, a deleção de <i>GTF2I</i> , <i>GTF2IRD1</i> e <i>CYLN2</i> (e talvez <i>LIMK1</i>) é necessária para causar o perfil cognitivo típico da síndrome de Williams. Quando, como no caso de nosso paciente, um ou mais desses genes é preservado, o resultado é um fenótipo mais leve, com algum comprometimento cognitivo (QI limítrofe) e uma perda variável de habilidades visuais e construtivas.
Heller et al., 2003		M		< 1.5Mb	EASV, estenose da válvula pulmonar, retardo de desenvolvimento, natureza muito amigável e características faciais características, hipersensibilidade ao ruído ambiental.	O paciente relatado aqui é o terceiro caso e, portanto, suporta a ideia de que as características dismórficas, cardiovasculares e pelo menos algumas das características comportamentais do fenótipo da SWB são causadas pela haploinsuficiência de genes na parte do intervalo de 1,5 Mb que é telomérico. Nossa conclusão é que a RCSWB é mais provável ser um intervalo de 50950 kb contendo possivelmente 12 genes de <i>WBSCR21</i> no lado centromérico para o <i>GTF2I</i> no lado telomérico. Esta hipótese é importante, pois limita o número de genes que potencialmente determinam o fenótipo da SWB e exclui <i>STX1A</i> como um possível gene candidato. A falta de mutações no gene <i>STX1A</i> em cinco pacientes, que têm SWB, mas nenhuma microdeleção detectável no 7q11.23, apoia essa ideia.
Hirota et al., 2003	Case 1	F	23 anos	NR	Anormalidades dentárias / maloclusão, EASV, estenose pulmonar periférica e estrabismo	Os resultados do presente estudo fornecem evidências para apoiar a associação de dois genes com o desempenho espacial visual em SWB. Esses dados apoiam a proposta de que a falta de deleção de <i>GTF2IRD1</i> e <i>GTF2I</i> está associada a alguns aspectos preservados da função espacial visual e, inversamente, que os déficits nessas funções são, em parte, devidos à exclusão desses genes em SWB típicos. Para outras características físicas, é necessário um exame mais detalhado.
	Case 2	F	14 anos	NR	Anormalidades dentárias / maloclusão, EASV, estenose pulmonar periférica e voz rouca, filtro liso longo e lábios cheios (+/-)	A observação de que todos os três indivíduos apresentaram déficits cognitivos globais e nenhum mostrou a características faciais características da SWB sugere que, ao contrário de relatos anteriores, a deleção de genes dentro da região <i>BAZ1B</i> através da elastina pode

Artigo	Paciente	Sexo	Idade	Tamanho da Deleção	Características Clínicas	Correlação Genótipo-Fenótipo
Honjo et al., 2012	Case 3	F	10 anos	~1.2Mb	Ponta nasal completa, hipoplasia malar, bochechas proeminentes, anormalidades dentárias / má oclusão e EASV, nariz curto e arrebitado e lábios espessos (+/-).	ser responsável por déficits globais significativos na função cognitiva. Além disso, esses resultados fornecem evidências que ajudam a definir a região associada à fraqueza característica da SWB na construção espacial da região telomérica para <i>CYLN2</i> , embora este e outros genes possam também contribuir ".
		M	19 anos	163kb e 281kb	EASV, problemas de aprendizagem, face longa, fosseta preauricular unilateral, fissuras oculares com inclinação antimongoloide, hipoplasia malar, nariz amplo proeminente, filtro labial plano, lábios finos, pectus excavatum, mamilo supranumerário e sopro cardíaco grau 3/6.	Nosso paciente apresenta uma deleção parcial na região da SWB com um tamanho máximo de 281 kb e não exibe o facial clássico ou fenótipos comportamentais da SWB. A EASV relatada em nosso paciente pode ser explicada pela deleção do <i>ELN</i> , que é o principal gene envolvido nas manifestações cardiovasculares da SWB. Na SWB, manifestações do tecido conjuntivo também têm sido relacionadas à hemizigose do <i>ELN</i> . A <i>LIMK1</i> foi implicada no déficit de cognição espacial na SWB. O gene <i>EIF4H</i> foi estudado em camundongos. Essas deficiências na proteína codificada por este gene exibem retardo de crescimento, alterações cerebrais e comportamentais. A <i>RFC2</i> pode afetar os processos de replicação do DNA, o que poderia levar a déficits de crescimento e outros problemas de desenvolvimento. O papel exato da deleção de <i>RFC2</i> no fenótipo da SWB não é completamente claro. Nosso paciente não apresenta déficit de crescimento.
	IM3	F	11 anos	66180bp	EASV, estenose da artéria pulmonar periférica, dificuldades com habilidades não linguísticas e visuomotora, excesso de simpatia, anomalias faciais leves, incluindo edema periorbital, lábio inferior espesso, voz rouca, íris estrelada, hipoplasia malar e estrabismo.	O status da expressão relativa do gene <i>CYLN2</i> adjacente permanece incerto, pois podemos supor que a hemizigocidade das sequências que precedem esse gene possa ter um papel importante na regulação de sua expressão. Esses pacientes atípicos podem fornecer informações importantes para o genótipo e para o fenótipo. Em particular, foi relatado um indivíduo que possuía uma deleção atípica que se estendia da LCR centromérico para o <i>CYLN2</i> ou o gene <i>GTF2IRD1</i> e apresentou um perfil cognitivo incomum, estenose aórtica supra-avalvar, características faciais mais leves, baixa estatura e um QI de 83, mas não o comprometimento visuoespacial específico de pacientes com SWB.
Howald et al., 2006	CO3	M	30 anos	13011bp	EASV, dificuldades com habilidades não linguísticas e visuomotora, excesso de simpatia, anomalias faciais leves, edema periorbital leve e lábio inferior espesso.	
Karmiloff-Smith et al., 2003	Case 1 PS	F	43 anos	1.4 Mb	Dismorfologia facial típica da SWB, íris estrelada e estrabismo discreto, pequena em estatura, tem amídistico na área da aorta, hiperacusia, ansiedade, voz rouca e monótona. Quando criança, hipercalcemia e dificuldades típicas de coordenação mão-olho, é inadequadamente amigável com estranhos.	A comparação sugere que as características da SWB, além da EASV, são causadas pela deleção de genes na região <i>CYLN2</i> - <i>NCF1</i> na extremidade telomérica da região crítica da SWB. Pensamos que ela mostra que a deleção do <i>LIMK1</i> não produz por si só o perfil cognitivo da SWB. Ainda é possível que o perfil resulte da deleção de <i>LIMK1</i> juntamente com a exclusão de um ou mais genes da parte da região crítica da SWB que não é excluída no caso.

Artigo	Paciente	Sexo	Idade	Tamanho da Deleção	Características Clínicas	Correlação Genótipo-Fenótipo
Korenberg et al., 2000	Paciente III1	F	6 anos	NR	Ponta nasal bulbosa / curta, lábio inferior espesso, hipoplasia malar, edema periorbital, íris estrelada, pregas epicânticas, EASV, marcos moderados retardados e hipersocial.	O gene para o <i>LIMK1</i> foi implicado (Frangiskakis et al., 1996), mas não substanciada (Tassabehji et al., 1999) como uma causa das características visuais-espaciais da SWB, e os genes para <i>STX1A</i> e <i>FZD9</i> foram implicados simplesmente por sua expressão genética específica do cérebro na sistema nervoso central em desenvolvimento (<i>FZD9</i>) ou adulto (<i>STX1A</i>). Quando isso realizado observa-se que a exclusão desses genes não está associada aos efeitos significativos sobre a cognição geral que são característicos da SWB. É provável que os genes responsáveis por grande parte do retardo mental e outras características estejam localizados na região telomérica de <i>RFC2</i> a <i>GTF2I</i> na borda telomérica da deleção.
	Paciente III2	M	2 anos	NR	Ponta nasal bulbosa / curta, lábio inferior espesso, hipoplasia malar, edema periorbital, estenose da artéria pulmonar e marcos retardados.	
	Paciente IV	F	13 anos	NR	Ponta nasal bulbosa / curta, lábio inferior espesso, anomalias dentárias, EASV e marcos moderados retardados.	
	Paciente V	F	7,8 anos	NR	EASV	
	Paciente VI	M	19 anos	NR	EASV	
	Paciente VII	M	29/26 anos	NR	EASV e hérnia	
	Paciente 10	F	32 anos	145kb	Fenotipicamente normal, seu bebê teve epilepsia, espasmo, tremor muscular e morreu aos 4 meses.	
Li et al., 2015	Paciente 6	F	1 ano	4.16Mb	EASV, atraso global no desenvolvimento, insuficiência valvar mitral, fístula urinária e características faciais distintas.	Supomos que a haploinsuficiência dos produtos codificados por <i>GTF2IRD1</i> não é suficiente para causar as características fenotípicas, o tamanho diferente e a dose de deleções, determinando a expressividade variável e o efeito dos genes envolvidos. É possível que as deleções em pacientes 8 e 9 foram causadas pela inversão, pois cada uma delas continha 2 deleções interrompidas entre os LCR centroméricos e mediais.
	Paciente 7	F	7 anos	9.88Mb	Retardo mental, dificuldades de alimentação, interação social prejudicada e edema da pálpebra superior	
	Paciente 8	M	14 semanas	78kb e 96kb	Atresia duodenal e artéria umbilical única.	

Artigo	Paciente	Sexo	Idade	Tamanho da Deleção	Características Clínicas	Correlação Genótipo-Fenótipo
Mahsa Ghaffari <i>et al.</i> 2017	Paciente 9	M	5 anos	44kb e 96kb	Estenose aórtica, comunicação interventricular, atraso global do desenvolvimento, fissura palatina e luxação patelar.	No estudo, todos os pacientes tinham EASV e uma exclusão do gene <i>ELN</i> foi detectada em todos eles. Entre os 10 pacientes incluídos, P1, P6 e P7 merecem atenção especial por causa de seus fenótipos especiais. P1 apresentava hipocalcemia infantil, mas o resultado do teste MLPA mostrou microdeleção com o mesmo tamanho, semelhante ao restante dos casos. Em descobertas anteriores, a hipercalcemia encontrada na SWB parece ser atribuída ao mau funcionamento do WSTF, outro relatório sugeriu que a haploinsuficiência do <i>GTF2I</i> pode desempenhar um papel através da superexpressão dos canais potenciais do receptor transitório C3 (<i>TRPC3</i>). No nosso caso, o <i>BAZ1B</i> foi excluído e a exclusão do <i>GTF2I</i> não foi confirmada, mas o paciente apresentava hipocalcemia em vez de hipercalcemia. Sugerimos que provavelmente outros genes também possam estar envolvidos na alteração do nível sérico de cálcio. P6 tinha um QI normal e, de acordo com a análise do MLPA, o gene associado à deficiência intelectual parece estar fora da região excluída de 1,2 Mb. Dados os dados anteriores e o P6 em nosso estudo, a deficiência intelectual é fortemente afetada pela exclusão do <i>GTF2I</i> . O P7 com deleções de 1,55 Mb não apresentou características faciais distintas, contrastando P8 e P10 com as mesmas deleções. Dois genes, <i>GTF2IRD1</i> e <i>BAZ1B</i> , deveriam estar envolvidos principalmente nas características craniofaciais da WBS. Ao contrário desses relatos, em nosso estudo, <i>GTF2IRD1</i> e <i>BAZ1B</i> foram excluídos no P7, que tinha uma face normal.
	P1	M	6 anos	1.2 ≤ Mb	EASV, hipocalcemia infantil, anormalidade do tecido conjuntivo, características únicas de personalidade	
	P2	M	11 anos	1.2 ≤ Mb	EASV, anormalidade do tecido conjuntivo, retardo de crescimento, retardo mental características únicas de personalidade, características faciais distintas "	
	P3	F	8 anos	1.2 ≤ Mb	EASV, hipercalcemia, características únicas de personalidade, características faciais distintas	
	P4	F	8 anos	1.2 ≤ Mb	EASV, estenose pulmonar, anormalidade do tecido conjuntivo, características únicas de personalidade, características faciais distintas	
	P5	F	10 anos	1.2 ≤ Mb	EASV, características faciais distintas	
	P6	F	7 anos	1.2 ≤ Mb	EASV, hipercalcemia, QI normal (86)	
	P9	F	3 anos	1.2Mb	EASV, retardo de crescimento, estenose pulmonar, deficiência intelectual leve a moderada.	

Artigo	Paciente	Sexo	Idade	Tamanho da Deleção	Características Clínicas	Correlação Genótipo-Fenótipo
Morris <i>et al.</i> , 2003	K2049			83. kb	Embora todas as famílias tenham sido avaliadas devido à EASV, havia alguns indivíduos com deleções (14%) que não tinham doença cardiovascular detectável. Além da doença cardiovascular documentada em 86% dos indivíduos afetados, outras anormalidades no tecido conectivo foram voz rouca em 50%, prolapso valvar em 10%, hérnia em 32%, anormalidade da coluna (cifose, lordose ou escoliose) em 18% e frouxidão ou contraturas articulares em 23%. Além disso, 14% tinham estrabismo. Outras características da SWB de menor frequência foram encontradas em uma única pessoa diferente no estudo; estes eram pequenos dentes espaçados, um sulco sacral extra, limitação da supinação no cotovelo, um rim pélvico e diverticulose. Um achado inesperado foi uma história de um distúrbio convulsivo em 27% dos indivíduos afetados.	Avaliações de cinco famílias com deleções parciais variadas da região da SWB no cromossomo 7 forneceram evidências de associações genótipo-fenótipo. A mutação da <i>ELN</i> , que mostrou anteriormente causar a arteriopatia, também está associada a algumas das características faciais, especialmente edema periorbitário, bochechas proeminentes e filtro longo. A hemizigose da <i>ELN</i> sozinha não leva em consideração as características craniofaciais clássicas da SWB. A presença de déficits de construção visuoespaciais em três famílias adicionais de EASV com pequenas deleções, incluindo a <i>LIMK1</i> , suporta o papel desse gene no desenvolvimento da cognição construtiva visuoespacial normal. A hemizigose de <i>LIMK1</i> em SWB contribui para a cognição construtiva visuoespacial prejudicada, resultando no <i>WSCP</i> . A deleção da <i>GTF2I</i> está provavelmente associada ao retardo mental encontrado em 75% dos indivíduos com SWB. Como indivíduos com SWB que têm inteligência normalmente têm QI mais baixo do que suas famílias, é provável que o <i>GTF2I</i> também esteja impactando negativamente sua inteligência. Todas as cinco famílias relatadas aqui têm inteligência normal. As cinco deleções quase se estendem pela região WS; apenas <i>FKBP6</i> (centromérico) e <i>GTF2I</i> (telomérico) não estão incluídos em nenhuma das deleções. Embora qualquer um desses genes possa estar relacionado ao retardo mental em SWB baseado em nosso estudo atual, nossos resultados combinados com achados relatados anteriormente implicam fortemente o <i>GTF2I</i> .
	K1895			≈350kb		
	K3804			≈6000kb		
	K2116			≈850kb		
	K3321			≈750kb		
Porter <i>et al.</i> , 2012	112LL			≈ 2 Mb	Limítrofe ao comprometimento leve, dismorfologia facial, anormalidade cardíaca, baixa estatura, hipercalcemia, hiperacusia, hipersociabilidade, ansiedade, medos ou fobias e atraso no desenvolvimento.	Este estudo fornece a primeira evidência de um papel para o <i>GTF2IRD2</i> na cognição, comportamento e desenvolvimento cerebral. Os fatores de transcrição do <i>GTF2I</i> parecem ser fundamentais para o fenótipo neurológico da SWB, mas suas propriedades complexas e pleiotrópicas significam que um papel claro para eles no desenvolvimento do cérebro humano ainda precisa emergir. Os achados deste estudo e de outros pacientes com deleção parcial sugerem um efeito aditivo na exclusão de todos os três genes da família <i>GTF2I</i> , levando a fenótipos neurológicos mais graves.
	187LLL			≈ 3.3 Mb	Comprometimento leve a moderado, dismorfologia facial, anormalidade cardíaca, baixa estatura, hipercalcemia, hiperacusia, hipersociabilidade, ansiedade, medos ou fobias e atraso no desenvolvimento.	
	WBS0231			≈ 0.78Mb	Comprometimento limítrofe, dismorfologia facial, anormalidade cardíaca, hipercalcemia, hiperacusia, hipersociabilidade, ansiedade, medos ou fobias e atraso no desenvolvimento.	

Artigo	Paciente	Sexo	Idade	Tamanho da Deleção	Características Clínicas	Correlação Genótipo-Fenótipo
Shijun Hu <i>et al.</i> 2017	WBS425			≈ 0.78 Mb	Limítrofe ao comprometimento leve, dismorfologia facial, anormalidade cardíaca, hipercalcemia, hiperacusia, hypersociabilidade, ansiedade, medos ou fobias e atraso no desenvolvimento.	
		M	5 anos	≈ 1.5Mb	Dificuldades alimentares, fissura de palato e sopro cardíaco, EASV, persistência do canal arterial, moderado retardo de crescimento, hipercalcemia, nefrolit, comprometimento das capacidades visuoespaciais, autismo e severo comprometimento da linguagem expressiva "	O paciente no presente estudo apresentou certas características fenotípicas típicas da SWB, incluindo EASV, hipercalcemia e retardo de crescimento e inteligência. Foi previamente sugerido que a deleção do <i>ELN</i> contribui para EASV, e o gene <i>BAZ1B</i> foi sugerido para contribuir para a hipercalcemia. A família <i>GTF2I</i> , incluindo o domínio de repetição <i>GTF2I</i> contendo 1, foi sugerida para contribuir para o déficit cognitivo específico exibido em indivíduos afetados. No entanto, o autismo e o medo de estranhos não eram considerados fenótipos da SWB. Em conclusão, de acordo com o nosso conhecimento, o presente estudo é o primeiro a descrever um caso de SWB onde EASV, autismo e fissura de palato também estão presentes, e uma deleção atípica de 7q11.23 foi identificada. Os arranjos de SNP de alta resolução demonstraram ser um método eficaz para fornecer um diagnóstico específico de SWB, apesar da presença de fenótipos atípicos.

Artigo	Paciente	Sexo	Idade	Tamanho da Deleção	Características Clínicas	Correlação Genótipo-Fenótipo
Streat et al., 2016		M	3 anos	1.35Mb	Malformação cardíaca congênita grave: coarctação do arco aórtico associada à estenose da artéria pulmonar e ducto patente arteriosus. Atraso no desenvolvimento psicomotor, atraso na fala e distúrbio comportamental. Crescimento reduzido, episódios hipercinéticos com autoagressão, características do espectro autista, nomeadamente estereótipos e brincadeiras repetitivas, hipercalcemia transitória, estrabismo e dismorfismo facial característico por testa larga, ponte nasal achatada, nariz curto arrebicado, filtro labial longo e boca larga com lábios cheios e mandíbula pequena.	Esses resultados revelaram que as microdeleções transportadas por nosso paciente estão localizadas na região genômica comumente afetada na SWB. Mostrou também evidências de que as deleções envolveram o gene da <i>ELN</i> , o que pode explicar em parte as graves anomalias cardíacas identificadas neste caso. <i>FKBP6</i> , <i>BAZ1B</i> e <i>WBSCR22</i> são outros genes contidos na região deletada, fortemente expressos nas estruturas cardiovasculares, que podem explicar a patogênese dos defeitos cardíacos descritos. Outro gene afetado pela microdeleção detectada em nosso caso foi <i>LIMK1</i> , associado com a formação e manutenção de memória e aprendizado, o comprometimento de <i>LIMK1</i> pelas microdeleções relatadas em nosso caso poderia parcialmente explicar o fenótipo neurocomportamental anormal. Esses achados clínicos também podem ser explicados pelo comprometimento funcional dos genes <i>FZD9</i> , <i>STX1</i> , <i>GTF2I</i> , <i>GTF2IRD2</i> ou <i>EIF4H</i> contidos na região genômica afetada. A haploinsuficiência ou variações genéticas desses polimorfismos de nucleotídeo único (SNPs) do <i>GTF2I</i> foram relatadas como associadas ao fenótipo cognitivo-comportamental da SWB. Estudos experimentais mostraram que o receptor de superfície celular transmembrana codificado pelo gene <i>FZD9</i> está envolvido no desenvolvimento do hipocampo e os defeitos deste gene estão associados a distúrbios de aprendizagem e memória. Nosso relato clínico sustenta as hipóteses levantadas por estudos prévios de que os genes mencionados acima do gene poderiam ser genes candidatos responsáveis pelo desenvolvimento do perfil neurocognitivo da SWB.

Artigo	Paciente	Sexo	Idade	Tamanho da Deleção	Características Clínicas	Correlação Genótipo-Fenótipo
Tassabehji et al., 2005	HR	F	4.5 anos	~1.1Mb	Edema periorbital, filtro labial longo, nariz arrebitado, estenose da artéria pulmonar, atraso na aquisição da linguagem e déficits na cognição espacial	Nossos achados mostram que a perda homozigótica de <i>Gtf2ird1</i> em camundongos resulta em anormalidades craniofaciais remissivas daquelas observadas na SWB, juntamente com o retardo de crescimento e anormalidades neurológicas. Dos outros genes deletados na HR, o <i>CYLN2</i> provavelmente contribui, mas não é o único responsável pelo fenótipo neurológico na SWB. A haploinsuficiência apenas para <i>CYLN2</i> e <i>GTF2IRD1</i> não consegue explicar todas as características clínicas da SWB, porque a HR exibe um perfil clínico mais moderado. Os fenótipos facial e cognitivo / comportamental mais pronunciados associados à deleção maior implicam outros genes teloméricos nessas características, especificamente o <i>GTF2I</i> , que se encontra distal ao <i>GTF2IRD1</i> e é deletado em casos clássicos de SWB. Nenhum gene isolado é responsável pelas características craniofaciais ou cognitivas da SWB. Sugerimos que a dosagem cumulativa dos genes da família TFII-1 explica os principais fenótipos.
	PM	M	29 anos	~ 90kb	Sopro cardíaco, EASV leve e hérnia inguinal bilateral (reparada aos 3 anos de idade)	
Tassabehji et al., 1999	TM	M	26 anos	~ 90kb	Irmão de PM, SVAS leve, reparo de hérnia inguinal como glicosúria adulta e benigna.	Nossos resultados sugerem que nem a hemizigose de <i>LIMK1</i> (ao contrário de um relatório anterior) nem a hemizigosidade de <i>STX1A</i> podem contribuir para qualquer parte do fenótipo de SWB, e enfatizam a importância desses pacientes para dissecar fenótipos sutis, mas altamente penetrantes. Nossos dados sugerem que a exclusão de <i>LIMK1</i> é irrelevante para o WSCP ou que, no máximo, é necessária, mas não suficiente.
	CS	F	7 anos e 8 meses	~ 800 kb	Constipado como um lactente, EASV grave e estenose arterial pulmonar periférica (Cirurgia).	
	HG	M	19 anos	~ 170kb	EASV (reparado cirurgicamente aos 7 anos de idade).	

Artigo	Paciente	Sexo	Idade	Tamanho da Deleção	Características Clínicas	Correlação Genótipo-Fenótipo
van Hagen et al., 2007	Paciente WS75	M	16,8anos	NR	EASV, estenoses arteriais pulmonares periféricas múltiplas, aparência tímida.	Os achados no WS75 apoiam fortemente a possibilidade de que deleções de <i>CYLN2</i> e / ou <i>GTF2IRD1</i> e / ou <i>GTF2I</i> desempenhem um papel crucial nas anormalidades motoras e cognitivas da SWB, mas eles não descartam a possibilidade de que outros genes como o <i>LIMK1</i> também contribuam igualmente e não nos permitem discriminar entre as contribuições diferenciais de <i>CYLN2</i> e <i>GTF2IRD1</i> . Assim, nossos resultados obtidos nos mutantes de camundongos sugerem que o <i>CYLN2</i> , ao invés do <i>GTF2RD1</i> , contribui significativamente para as disfunções cerebelares e hipocampais na SWB. Em conjunto, os achados em nosso paciente atípico e nos camundongos mutantes sugerem um papel proeminente, mas não exclusivo, para o <i>CYLN2</i> nas características motoras e cognitivas da SWB.
Yu Xia et al. 2018	15	M	31 anos	7,340bp	Estenose da artéria pulmonar, estenose da artéria pulmonar esquerda, estenose da artéria pulmonar direita e atraso no desenvolvimento	NR*

*NR= não relatado.

8.11. Anexo XI. Tabela com as características genéticas dos pacientes dos artigos com deleções atípicas.

Artigo	Paciente	Tamanho da Deleção	Genes da Região Crítica da SWB envolvidos	Técnica
Antonell <i>et al.</i> , 2009	NW1 II.3	817kb	<i>CLDN3, CLDN4, WBSCR27, WBSCR28, ELN, LIMK1, EIF4H, LAT2, RFC2, CLIP2 e GTF2IRD1.</i>	MLPA, aCGH e PCR quantitativa com transcriptase reversa em tempo real
	NW1 II.4	817kb	<i>CLDN3, CLDN4, WBSCR27, WBSCR28, ELN, LIMK1, EIF4H, LAT2, RFC2, CLIP2 e GTF2IRD1.</i>	
	NW1 III.4 *	817kb	<i>CLDN3, CLDN4, WBSCR27, WBSCR28, ELN, LIMK1, EIF4H, LAT2, RFC2, CLIP2 e GTF2IRD1.</i>	
	NW2 II.1	610kb	<i>VPS37D, DNAJC30, WBSCR22, STX1A, ABHD11, CLDN3, CLDN4, WBSCR27, WBSCR28, ELN, LIMK1, EIF4H, LAT2 e RFC2.</i>	
	NW2 III.1 *	610kb	<i>VPS37D, DNAJC30, WBSCR22, STX1A, ABHD11, CLDN3, CLDN4, WBSCR27, WBSCR28, ELN, LIMK1, EIF4H, LAT2 e RFC2.</i>	
Botta <i>et al.</i> , 1999	Paciente A	850kb	<i>ELN, LIMK1, WSCR1, RFC2, WSCR5, WSCR3 E GTF21</i>	FISH- ONCOR
	Paciente B	850kb	<i>ELN, LIMK1, WSCR1, RFC2, WSCR5, WSCR3 E GTF21</i>	

Artigo	Paciente	Tamanho da Deleção	Genes da Região Crítica da SWB envolvidos	Técnica
Dai <i>et al.</i> , 2009	Paciente 5889	~1.4Mb	<i>NSUN5, TRIM50, FZD9, BAZ1B, BCL7B, TBL2, VPS37D, MLXIPL, WBSCR22, STX1A, WBSCR18, ABHD11, CLDN3, CLDN4, WBSCR28, ELN, LIMK1, EIF4H, LAT2, RFC2, CLIP2 e GTF2IRD1.</i>	FISH (BACs 1008H17; 592D8; 1184P14; P195H06; 1148G03; 054H15 e PACs 1186P10; 239C10; e cosmids 182B11 e 183E1), PCR, Híbridos de células somáticas e custom high resolution isothermal oligonucleotide DNA tiling array (Roche NimbleGen)
Delgado <i>et al.</i> , 2013	WBS269-023A1	~1.3Mb	<i>POM121L1, NSUN5, TRIM50, FKBP6, FZD9, BAZ1B, BCL7B, TBL2, VPS37D, MLXIPL, DNAJC30, WBSCR22, STX1A, WBSCR26, ABHD11, CLDN3, CLDN4, WBSCR27, WBSCR28, ELN, LIMK1, EIF4H, LAT2, RFC2 e CLIP2.</i>	MLPA (SALSA kit P029 MRC Holland) e qPCR (Power SYBR Green PCR Master Mix Applied Biosystems).
Doyle <i>et al.</i> , 2004	5889	Começa na região centromérica da deleção comum e inclui os genes FKBP6 e FZD9	Começa na região centromérica da deleção comum e inclui os genes FKBP6 e FZD9	BAC probes com FISH
Edelmann <i>et al.</i> , 2007	41A	2.4 - 3.1 Mb	<i>Íntron 1 do GTF2IRD1, GTF2I, NCF1 e GTF2IRD2</i>	aCGH (Spectral Chip 2600), FISH (Spectral Genomics e BAC PAC Resources) e PCR quantitativa
Euteneuer <i>et al.</i> , 2013		81.8 kb	<i>ELN (exceto éxons 1 e 2) e LIMK1 (exceto os três últimos éxons)</i>	SNP Array (Affymetrix) e PCR

Artigo	Paciente	Tamanho da Deleção	Genes da Região Crítica da SWB envolvidos	Técnica
Ferrero <i>et al.</i> , 2010	WBS207	≈1Mb (0.84–0.94Mb)	Parcial BAZ1B, BCL7B, TBL2, VPS37D, MLXIPL, DNAJC30, WBSCR22, STX1A, WBSCR26, ABHD11, CLDN3, CLDN4, WBSCR27, WBSCR28, ELN, LIMK1, EIF4H, LAT2, RFC2 e CLIP2.	FISH (LSI ELN, D7S486 e D7S522 probes Vysis) e qPCR
Fusco <i>et al.</i> , 2014	WBS 179	≈ 4.15 Mb	LOC100093631, GTF2IP1, NCF1B, GTF2IRD2P1, NSUN5, TRIM50, FKBP6, FZD9, BAZ1B, BCL7B, TBL2, MLXIPL, VPS37D, DNAJC30, WBSCR22, STX1A, MIR4284, WBSCR26, ABHD11, CLDN3, CLDN4, WBSCR27, WBSCR28, ELN, LIMK1, EIF4H, MIR590, LAT2, RFC2, CLIP2, GTF2IRD1, GTF2I, NCF1, GTF2IRD2, STAG3L2, PMS2P5, GATSL1, WBSCR16, GTF2IRD2B, NCF1C, GTF2IP1, LOC100093631, POM121C, SPDYE5, PMS2P3, HIP1, CCL26, CCL24, RHBDD2, POR, SNORA14A, TMEM120A, STYXL1, MDH2, SRRM3, HSPB1, YWHAG, SRCRB4D, ZP3, DTX2, FDPSL2A, UPK3B, LOC100133091, POMZP3, PMS2P11, LOC100132832	MLPA (SALSA kit P029), qPCR a CytoScan HD array (Affymetrix)

Artigo	Paciente	Tamanho da Deleção	Genes da Região Crítica da SWB envolvidos	Técnica
			STAG3L3, PMS2L2, SPDYE8P, LOC100093631, GTF2IP1, GTF2IRD2P1, NSUN5, TRIM50, FKBP6, FZD9, BAZ1B, BCL7B, TBL2, MLXIPL, VPS37D, DNAJC30, WBSCR22, STX1A, MIR4284, WBSCR26, ABHD11, CLDN3, CLDN4, WBSCR27, WBSCR28, ELN, LIMK1, EIF4H, MIR590, LAT2, RFC2, CLIP2, GTF2IRD1, GTF2I, NCF1, GTF2IRD2, STAG3L2, PMS2P5, GATSL1, WBSCR16, GTF2IRD2B, NCF1C, GTF2IP1, LOC100093631, POM121C, SPDYE5, PMS2P3, HIP1, CCL26, CCL24, RHBDD2, POR, SNORA14A, TMEM120A, STYXL1, MDH2, SRRM3, HSPB1, YWHAG, SRCRB4D, ZP3, DTX2, FDPSL2A, UPK3B, LOC100133091, POMZP3, PMS2P11, LOC100132832	
	WBS 160	≈ 4.22 Mb	DNAJC30, WBSCR22, STX1A, MIR4284, WBSCR26, ABHD11, CLDN3, CLDN4, WBSCR27, WBSCR28, ELN, LIMK1, EIF4H, MIR590, LAT2, RFC2, CLIP2, GTF2IRD1, GTF2I, NCF1, GTF2IRD2, STAG3L2, PMS2P5, GATSL1, WBSCR16, GTF2IRD2B, NCF1C, GTF2IP1, LOC100093631, POM121C, SPDYE5, PMS2P3, HIP1, CCL26, CCL24, RHBDD2, POR, SNORA14A, TMEM120A, STYXL1, MDH2, SRRM3, HSPB1, YWHAG, SRCRB4D, ZP3, DTX2, FDPSL2A, UPK3B, LOC100133091, POMZP3, PMS2P11, LOC100132832	
	WBS 154	1.04 Mb	DNAJC30, WBSCR22, STX1A, MIR4284, WBSCR26, ABHD11, CLDN3, CLDN4, WBSCR27, WBSCR28, ELN, LIMK1, EIF4H, MIR590, LAT2, RFC2, CLIP2, GTF2IRD1, GTF2I	

Artigo	Paciente	Tamanho da Deleção	Genes da Região Crítica da SWB envolvidos	Técnica
Gagliardi <i>et al.</i> , 2003	WBS 166	1.03Mb	<i>TBL2, MLXIPL, VPS37D, DNAJC30, WBSCR22, STX1A, MIR4284, WBSCR26, ABHD11, CLDN3, CLDN4, WBSCR27, WBSCR28, ELN, LIMK1, EIF4H, MIR590, LAT2, RFC2, CLIP2, GTF2IRD1</i>	FISH (Vysis), FISH BAC e PAC e análise de microssatélite
		1.1-1.2 Mb	A deleção varia desde a região de ponto de quebra comum centromérico até além do marcador <i>D7S613</i> e inclui <i>ELN, LIMK1, RFC2</i> e pelo menos uma parte de <i>CYLN2</i>	
Heller <i>et al.</i> , 2003		< 1.5Mb	<i>ELN, LIMK1, EIF4H, WBSCR15, RFC2, CYLN2, GTF2IRD1, WBSCR23 e GTF2I</i>	FISH (Qbiogene Alexis e Vysis)
Hirota <i>et al.</i> , 2003	Case 1	?	<i>FKBP6, FZD9, BAZ1B, BCL7B, TBL2, WBSCR14, STX1A, CLDN3, CLDN4, ELN, LIMK1, EIF4H, LAT2, RFC2 e CYLN2.</i>	FISH (BAC: B1008H17, B315H11, B592D8, B155B1, B363B4, B118AP14, B239C10; PAC: P632N4, P391G2, P195h6, P267N24; Cosmid clone: C12915, C82c2, C34b3, C 152a8, C128d2, C102f12, C135f3, C82b11, C209c11, C47d1, C160g4, C183e1, C15e11) e análise da dosagem gênica
	Case 2	?	<i>FKBP6, FZD9, BAZ1B, BCL7B, TBL2, WBSCR14, STX1A, CLDN3, CLDN4, ELN e LIMK1.</i>	
	Case 3	~1.2Mb	<i>BAZ1B, BCL7B, TBL2, WBSCR14, STX1A, CLDN3, CLDN4, ELN e LIMK1.</i>	
Honjo <i>et al.</i> , 2012		163kb e 281kb	<i>ELN (ÉXON 33), LIMK1, EIF4H, LAT2 e RFC2</i>	MLPA (kit P029)

Artigo	Paciente	Tamanho da Deleção	Genes da Região Crítica da SWB envolvidos	Técnica
Howald <i>et al.</i> , 2006	IM3	66180bp	<i>FKBP6, FZD9, BAZ1B, TBL2, WBSCR14, STX1A, CLDN3, CLDN4, ELN, LIMK1, EIF4H, RFC2 E CYLN2.</i>	Quantificação de sequências parálogos e piro sequenciamento e PCR quantitativa em tempo real
	CO3	13011bp	<i>FKBP6, FZD9, BAZ1B, TBL2, WBSCR14, STX1A, CLDN3, CLDN4, ELN, LIMK1, EIF4H e RFC2.</i>	
Karmiloff-Smith <i>et al.</i> , 2003	Case 1 PS	1.4 Mb	<i>FKBP6, FZD9, BAZ1B, BCL7B, TBL2, WBSCR14, WBSCR22, STX1A, CLDN3, CLDN4, ELN, LIMK1, EIF4H, RFC2, CYLN2, GTF2IRD, GTF2I e exon 2 do NCF1.</i>	Híbridos de células somáticas e PCR
	Paciente 132	NR	NR	
	Paciente 558	NR	NR	
	Paciente III1	NR	<i>ELN, LIMK1, WSCR1, RFC2, CYLN2, GTF2IRD1 e GTF21</i>	
	Paciente III2	NR	<i>ELN, LIMK1, WSCR1, RFC2, CYLN2, GTF2IRD1 e GTF21</i>	
Korenberg <i>et al.</i> , 2000	Paciente IV	NR	<i>WSTF, BCL7B, WS-bTRP, WS-bHLH, RVP1, CPE-R, STX1A, CLDN3, CLDN4, ELN, LIMK1, WBSCR1</i>	FISH (Cosmids 129F5, 165B5, 82C2, 34B3, 128D2, 102F12, 135F3, 157F3, 237H1, 63F7, 82B11, 209C11, 47D1, 183E1, 160G4, e 15E11; BAC: 592D8, 1051J22, 1148G3, 1184P14, 239C10, 1008H17, 155B1), Análise de microssatélite (D7S489(A, B, C), D7S1870, D7S653, D7S675, D7S849, D7S613, D7S2472, D7S2476), PCR.
	Paciente V	NR	<i>FKBP6, FZD9, WSTF, BCL7B, WS-bTRP, WS-bHLH, RVP1, CPE-R, STX1A, CLDN3, CLDN4, ELN, LIMK1, WBSCR1</i>	
	Paciente VI	NR	<i>STX1A, CLDN3, CLDN4, ELN, LIMK1, WBSCR1</i>	

Artigo	Paciente	Tamanho da Deleção	Genes da Região Crítica da SWB envolvidos	Técnica
Li et al., 2015	Paciente VII	NR	<i>STX1A, CLDN3, CLDN4, ELN, LIMK1, WBSCR1</i>	aCGH, FISH e cariótipo
	Paciente 10	145kb	<i>GTF2IRD2, STAG3L2, PMS2L5 e GATSL.</i>	
	Paciente 6	4.16Mb	<i>POM121L1, NSUN5C, TRIM74, FKBP6-like, STAG3L3, PMS2L, WBSCR19, GTF2IP, NCF1B, GTF2IRD2P, POM121B, NUSN5, TRIM50, FKBP6, FZD9 BAZ1B, BCL7B, TBL2, VPS37D, MLXIPL, DNAJC30, WBSCR22, STX1A, ABHD11, CLDN3, CLDN4, WBSCR27, WBSCR28, ELN, LIMK1, EIF4H, LAT2, RFC2, CLIP2, GTF2IRD1, WBSCR23, GTF2I, NCF1, GTF2IRD2, STAG3L2, PMS2L5, GATSL, WBSCR16, GTF2IED2B e NCF1C.</i>	
	Paciente 7	9.88Mb	<i>POM121L1, NSUN5C, TRIM74, FKBP6-like, STAG3L3, PMS2L, WBSCR19, GTF2IP, NCF1B, GTF2IRD2P, POM121B, NUSN5, TRIM50, FKBP6, FZD9 BAZ1B, BCL7B, TBL2, VPS37D, MLXIPL, DNAJC30, WBSCR22, STX1A, ABHD11, CLDN3, CLDN4, WBSCR27, WBSCR28, ELN, LIMK1, EIF4H, LAT2, RFC2, CLIP2, GTF2IRD1, WBSCR23, GTF2I, NCF1, GTF2IRD2, STAG3L2, PMS2L5, GATSL,</i>	

Artigo	Paciente	Tamanho da Deleção	Genes da Região Crítica da SWB envolvidos	Técnica
			<i>WBSCR16, GTF2IED2B e NCF1C.</i>	
	Paciente 8	78kb e 96kb	<i>NSUN5C, TRIM74, FKBP6-like, STAG3L3 e GTF2IRD2P.</i>	
	Paciente 9	44kb e 96kb	<i>NSUN5C, TRIM74, NCF1B, GTF2IRD2P e POM121B.</i>	
	P1	1.2 ≤ Mb	<i>ELN, CPLI2, LIMK1, RFC2, STX1A, TBL2 e FZD9.</i>	
	P2	1.2 ≤ Mb	<i>ELN, CPLI2, LIMK1, RFC2, STX1A, TBL2 e FZD9.</i>	
	P3	1.2 ≤ Mb	<i>ELN, CPLI2, LIMK1, RFC2, STX1A, TBL2 e FZD9.</i>	
Mahsa Ghaffari et al.2017	P4	1.2 ≤ Mb	<i>ELN, CPLI2, LIMK1, RFC2, STX1A, TBL2 e FZD9.</i>	MLPA P029-C1, FISH (ELN probes), e microssatélites (D7S1870, D7S489, D7S2476, D7S613)
	P5	1.2 ≤ Mb	<i>ELN, CPLI2, LIMK1, RFC2, STX1A, TBL2 e FZD9.</i>	
	P6	1.2 ≤ Mb	<i>ELN, CPLI2, LIMK1, RFC2, STX1A, TBL2 e FZD9.</i>	
	P9	1.2Mb	<i>ELN, CPLI2, LIMK1, RFC2, STX1A, TBL2 e FZD9.</i>	
Morris et al., 2003	K2049	83. kb	Porção telomérica da <i>ELN</i> e todo <i>LIMK1</i> .	FISH , Probes consisted of cosmids,BACs,and PACs (cosA, cosF, BCL, STX,

Artigo	Paciente	Tamanho da Deleção	Genes da Região Crítica da SWB envolvidos	Técnica
Porter <i>et al.</i> , 2012	K1895	≈350kb	<i>CLDN4, ELN, LIMK1 e WSCR5</i>	cos30, <i>ELN, LIMK</i> , cos11, 209 is cos209c11, 220 is 220e11, 1186 is RP5-1186P10).
	K3804	≈6000kb	<i>STX1A, CLDN3, CLDN4, ELN e LIMK1.</i>	
	K2116	≈850kb	<i>BCL7A, TBL2, STX1A, CLDN3, CLDN4, ELN e LIMK1.</i>	
	K3321	≈750kb	Porção telomérica da <i>ELN, LIMK1, WSCR5, CYLN2 e GTF2IRD1.</i>	
	112LL	≈ 2 Mb	<i>B-centromérico a B-telomérico , GTF2IRD2B</i>	
	187LLL	≈ 3.3 Mb	<i>CALN1-B teloméric, GTF2IRD2B</i>	
	WBS0231	≈ 0.78Mb	<i>LIMK1-Bmedial, GTF2IRD2</i>	FISH (Probe: <i>ELN/LIMK1</i>), qPCR e aCGH (Agilent)
Shijun Hu <i>et al.</i> 2017	WBS425	≈ 0.78 Mb	<i>LIMK1-Bmedial, GTF2IRD2</i>	
		≈ 1.5Mb	" <i>POM121, FZD9, TRIM74, FKBP6, NSUN5, TRIM50, BAZ1B, MLXIPL, BUD23, TMEM270, ABHD11, BCL7B, TBL2, VPS37D, DNAJC30, CLDN3, CLDN4, METTL27.</i>	SNP-array (Illumina)
Streata <i>et al.</i> , 2016		1.35Mb	<i>FKBP6, ELN, LIMK1, FZD9, TBL2, WSCR22, WSCR27, WSCR28, STX1A, CLDN3, CLDN4, LAT2, ABHD11, RFC2,</i>	Análise de microarray de alta resolução realizada com a plataforma de array de 135K oligonucleotídeos.

Artigo	Paciente	Tamanho da Deleção	Genes da Região Crítica da SWB envolvidos	Técnica
			<i>CLIP2, GTF2IRD1, GTF2I, TRIM50</i> ou <i>EIF4H</i>	
Tassabehji <i>et al.</i> , 2005	HR	~1.1Mb	<i>TRIM50, FKBP6, FZD9, BAZ1B, BCL7B, TBL2, WBSR14, WBSR18, WBSR22, WBSR24, STX1A, WBSR21, CLDN3, CLDN4, WBSR27, WBSR28, ELN, LIMK1, EIF4H, LAT2, RFC2, CYLN2 e GTF2IRD1.</i>	PCR
	PM	~ 90kb	<i>ELN</i> e <i>LIMK1</i>	
Tassabehji <i>et al.</i> , 1999	TM	~ 90kb	Exon 10 da <i>ELN</i> e <i>LIMK1</i>	Análises de microsatélite, FISH, híbridos de células somáticas e PCR.
	CS	~ 800 kb	<i>FZD3, STX1A, ELN, LIMK1</i> e <i>RFC2</i> .	
	HG	~ 170kb	<i>ELN</i> e <i>LIMK1</i>	
van Hagen <i>et al.</i> , 2007	Paciente WS75	NR	<i>FKBP6, FZD9, TBL2, STX1A, ELN</i> e <i>LIMK1</i> .	FISH (probe: RP11-451M8, B315H11, CITB51J22, B270D13 e B39H04), MLPA P029 e marcadores de repetição polimórficos D7S2476, <i>ELN</i> e <i>LIMK1GT</i>
Yu Xia <i>et al.</i> 2018	15	7,340bp	<i>ELN</i> (exons 18-25)	Chromosomal microarray Affymetrix

