



Universidade do Estado do Rio de Janeiro
Faculdade de Ciências Médicas
Programa de Pós-Graduação em Ciências Médicas

Cassio Luiz de Carvalho Serão

**Estudo clínico-genético em adolescentes e adultos jovens com
Síndrome de Williams**

Rio de Janeiro

2014

Cassio Luiz de Carvalho Serao

Estudo clínico-genético em adolescentes e adultos jovens com Síndrome de Williams

Dissertação apresentada como requisito parcial para obtenção do título de Mestre, ao Programa de Pós Graduação em Ciências Médicas da Universidade do Estado do Rio de Janeiro.

Orientadora: Prof.^a Dra. Cláudia Braga Monteiro

Coorientador: Prof. Dr. Juan Clinton Llerena Junior

Rio de Janeiro

2014

CATALOGAÇÃO NA FONTE
UERJ/REDE SIRIUS/BIBLIOTECA CB-A

S482 Serao, Cassio Luiz de Carvalho.
Estudo clínico-genético em adolescentes e adultos jovens com
Síndrome de Williams. / Cassio Luiz de Carvalho Serao. – 2014.
65 f.

Orientadora: Claudia Braga Monteiro.

Coorientador: Juan Clinton Llerena Junior.

Dissertação (Mestrado) – Universidade do Estado do Rio de Janeiro,
Faculdade de Ciências Médicas. Pós-graduação em Ciências Médicas.

1. Williams, Síndrome de - Teses. 2. Incapacidade intelectual -
Teses. 3. Dermatoglia - Teses. 4. Técnicas de Genotipagem. I.
Monteiro, Claudia Braga. II. Llerena Junior, Juan Clinton. III.
Universidade do Estado do Rio de Janeiro. Faculdade de Ciências
Médicas. IV. Título.

CDU 616.899

Autorizo, apenas para fins acadêmicos e científicos, a reprodução total ou parcial desta
dissertação, desde que citada a fonte.

Assinatura

Data

Cassio Luiz de Carvalho Serao

Estudo clínico-genético em adolescentes e adultos jovens com Síndrome de Williams

Dissertação apresentada como requisito parcial para obtenção do título de Mestre, ao Programa de Pós Graduação em Ciências Médicas da Universidade do Estado do Rio de Janeiro.

Aprovada em 27 de junho de 2014.

Orientadora: Prof.^a Dra. Claudia Braga Monteiro

Faculdade de Ciências Médicas – UERJ

Coorientador: Prof. Dr. Juan Clinton Llerena Junior

Fundação Oswaldo Cruz

Banca examinadora:

Prof.^a Dra. Dafne Dain Gandelman Horovitz

Fundação Oswaldo Cruz

Prof.^a Dra. Maria Cristina Caetano Kuschnir

Faculdade de Ciências Médicas - UERJ

Prof.^a Dra. Kátia Telles Nogueira

Faculdade de Ciências Médicas - UERJ

Rio de Janeiro

2014

DEDICATÓRIA

À minha querida Alice, pelo amor, carinho e companheirismo em todas as horas, pela inspiração e expiração, ao restante da minha família, pela compreensão pelas ausências devido ao trabalho e aos pacientes pelos aprendizados, pela oportunidade e solicitude.

AGRADECIMENTOS

Aos meus orientadores Juan e Cláudia pela amizade, convívio e paciência, além da infinitude de exemplos a serem espelhados no mister da arte de curar.

Ao Federico e demais colegas do Laboratório de Citogenética do Instituto Fernandes Figueira pelo compromisso com o trabalho apesar das inúmeras dificuldades e pelas horas de boas conversas.

Aos mestres que tive na minha formação, formalmente ou informalmente, que puderam transmitir muito mais que o conteúdo de diversas temáticas e professaram com dedicação o que aprender, como aprender, como ensinar e como viver.

Aos colegas que permitiram dividir as angústias, os medos e as vivências do processo de aprendizado com sinceridade e alegria.

A todos aqueles que independentemente da complexidade de sua função se esforçam para fazer do ambiente de trabalho o melhor possível para os pacientes e para os que atendem.

Cada um de nós compõe a sua história
Cada ser em si
Carrega o dom de ser capaz
E ser feliz.

Almir Sater & Renato Teixeira

RESUMO

SERAO, Cassio Luiz de Carvalho. *Estudo clínico-genético em adolescentes e adultos jovens com Síndrome de Williams*. 2014. 65 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Médicas) – Faculdades de Ciências Médicas, Universidade do Estado do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2014.

INTRODUÇÃO: A Síndrome de Williams é uma síndrome de genes contíguos de incidência aproximada de 1:10000 nascimentos. Ela ocorre devido a perda parcial de uma região específica de cerca de 27 genes no cromossomo 7q11.23. Foram relatadas na literatura diferenças clínicas em pacientes com diferente origem parental ou tamanho da anomalia. **OBJETIVOS:** Identificar se variabilidades clínicas ou laboratoriais dos pacientes com Síndrome de Williams se correlacionam com origem parental e tamanho da perda de material genético. **MATERIAIS E MÉTODOS:** Foi desenvolvida e aplicada ficha clínica em 8 pacientes com Síndrome de Williams diagnosticados por genotipagem de microssatélites, técnica capaz de identificar tamanho e origem parental da perda genética. **RESULTADO:** A maioria dos pacientes apresentam uma perda comum de 1,55 Mb de ADN em 7q11.23, área do genoma onde se encontram alguns genes com funções conhecidas, que em hemizigose são associados a componentes clínicos Síndrome de Williams. Destacam-se entre estes o gene *ELN*, associado a cardiopatia estrutural, o gene *LIMK1*, relacionado a déficit cognitivo visuo-espacial, o gene *BAZ1B*, vinculado a hipercalcemia, além do gene *STX1A*, contribuindo para a predisposição a diabetes em pacientes adultos com Síndrome de Williams. Identificamos um caso atípico de Síndrome de Williams, mantendo bialelismo para o gene *GTF2IRD1*, expresso no tecido osteoarticular no período embrionário. A presença de hiperatividade foi mais encontrada nos pacientes com deleção de origem paterna, mas a limitação amostral não nos permite descartar eventos estocásticos. A presença de dermatóglifos digitais atípicos na paciente com bialelismo do gene *GTF2IRD1* pode sugerir uma correlação específica. **CONCLUSÃO:** O tamanho e a origem parental da anomalia genômica causadora da Síndrome de Williams pode interferir na expressão clínica da doença, sendo necessárias mais avaliações de correlação genótipo-fenótipo para corroborar esta hipótese.

Palavras-chave: Síndrome de Williams. Síndrome de genes contíguos. Genotipagem por microssatélites. Dermatóglifos. Déficit intelectual. Deleção 7q11.23.

ABSTRACT

SERAO, Cassio Luiz de Carvalho. *Clinical-genetic study in adolescents and young adults with Williams Syndrome*. 2014. 65 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Médicas) – Faculdades de Ciências Médicas, Universidade do Estado do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2014.

INTRODUCTION: Williams syndrome (WS) is a contiguous gene syndrome with estimated incidence of 1:10,000 births. It happens due to partial loss of a specific region containing about 27 genes on chromosome 7q11.23. Clinical differences among patients with different parental origin or different size of this anomaly have been reported in the literature. **PURPOSE:** To identify whether clinical or laboratory variability of patients with Williams syndrome correlate with parental origin and size of the loss of genetic material. **METHODS:** A clinical inventory was developed and applied in 8 patients with Williams syndrome diagnosed by genotyping microsatellite technique to identify size and parental origin of gene loss. **RESULTS:** The majority of patients have an average loss of 1.55 Mb DNA at 7q11.23, genome area containing some genes with known functions in hemizygoty associated with clinical components of Williams Syndrome. Stand out among these genes, the ELN gene, associated with structural heart disease, the LIMK1 gene, related to visuospatial cognitive deficit, the BAZ1B gene, linked to hypercalcemia, and the STX1A gene, contributing to the predisposition to diabetes in adult patients with syndrome Williams. We identified an atypical case of WS, maintaining biallelism for GTF2IRD1 gene, which is expressed on bone tissue in the embryonic period. The presence of hyperactivity disorder were more frequent in patients with deletion of paternal origin, but the sample size limitation does not allow us to rule out stochastic events. The presence of atypical digital dermatoglyphics in the patient with GTF2IRD1 biallelism may suggest a specific correlation. **CONCLUSION:** The size and parental origin of genomic abnormality causing the Williams Syndrome can affect the clinical expression of the disease. More reviews of genotype-phenotype correlation for this condition are needed.

Keywords: Williams syndrome. Contiguous gene syndrome. Microsatellite genotyping.

Dermatoglyphics. Intellectual deficit. Deletion 7q11.23.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 –	Cariótipo feminino normal, de paciente com Síndrome de Williams.....	15
Figura 2 –	Região deletada do cromossomo 7 na Síndrome de Williams identificada por FISH.....	16
Figura 3 –	Região deletada do cromossomo 7 na Síndrome de Williams identificada por genotipagem de microssatélites.....	17
Figura 4 –	Ilustração mostrando a deleção do gene e comparando com casos familiares de estenose supra-avalvar aórtica.....	19
Figura 5 –	Ilustração demonstrando a complementaridade entre as regiões de ADN repetitivo que flanqueiam a região crítica para Síndrome de Williams.....	20
Figura 6 –	Demonstração dos tipos mais frequentes de variações nos dermatóglifos digitais.....	34
Quadro 1-	Demonstração dos resultados dos dados genéticos de cada paciente segundo a ficha clínica.....	36
Quadro 2 -	Demonstração dos resultados dos dados morfológicos de cada paciente segundo a ficha clínica.....	37
Figura 7 –	Fenótipo facial característico dos pacientes com Síndrome de Williams avaliados neste estudo.....	38
Figura 8 –	Fenótipo facial característico dos pacientes com Síndrome de Williams avaliados neste estudo.....	39
Figura 9 –	Presença de clinodactilia de quinto quirodáctilo em paciente com Síndrome de Williams deste estudo.....	39
Figura 10 –	Presença de hálux valgo em pododáctilo de paciente com Síndrome de Williams deste estudo.....	39
Quadro 3 –	Demonstração dos resultados dos dados endocrinometabólicos de cada paciente segundo a ficha clínica.....	40
Quadro 4 –	Demonstração dos resultados dos dados cardiovasculares de cada paciente segundo a ficha clínica.....	40
Quadro 5 –	Demonstração dos resultados dos dados neurocomportamentais de cada paciente segundo a ficha clínica.....	40

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ADN	Ácido desoxirribonucleico
ARN	Ácido ribonucleico
CGH-Array	Hibridização Genômica Comparativa por arrasto
ESVA	Estenose supraavalvar aórtica
FISH	Fluorescência por Hibridização In Situ
HDL	Lipoproteína de alta densidade
IFF	Instituto Fernandes Figueira
Kb	Kilobase, correspondente a 1000 pares de bases nucleotídicas
LDL	Lipoproteína de baixa densidade
Mb	Megabase, correspondente a 100000 pares de bases nucleotídicas
MLPA	<i>Multiplex Ligation-dependent Probe Amplification</i> – Amplificação de sondas múltiplas dependente de ligação
OMIM	<i>Online Mendelian Inheritance in Man</i> – Herança mendeliana online humana
PCR	<i>Polimerase Chain Reaction</i> – Reação em cadeia da polimerase
SW	Síndrome de Williams
T4 Livre	Tetraiodotironina livre
TSH	Hormônio Tireoestimulante
UERJ	Universidade do Estado do Rio de Janeiro
Wnt	<i>wingless-type protein</i> – Proteína do tipo Wingless (sem asas)

SUMÁRIO

	INTRODUÇÃO	11
1	OBJETIVOS	31
2	JUSTIFICATIVA	32
3	MATERIAL E MÉTODOS	33
3.1	Tipo de Estudo	33
3.1.1	<u>Critérios de Inclusão</u>	33
3.1.2	<u>Critérios de Exclusão</u>	33
3.2	Considerações Éticas	34
3.3	Desenvolvimento e Aplicação de Ficha Clínica	34
3.3.1	<u>Dados da história clínica do paciente</u>	34
3.3.2	<u>Dados morfológicos</u>	35
3.3.3	<u>Dados paramétricos mensuráveis</u>	36
3.3.4	<u>Dados Neurocomportamentais</u>	38
4	RESULTADO	39
4.1	Amostra	39
4.2	Resultados da ficha clínica-genética	39
4.2.1	<u>Dados Genéticos</u>	39
4.2.2	<u>Dados Morfológicos</u>	41
4.2.3	<u>Dados Endócrinometabólicos</u>	43
4.2.4	<u>Dados Cardiovasculares</u>	44
4.2.5	<u>Dados Neurocomportamentais</u>	44
5	DISCUSSÃO	45
	CONCLUSÃO	49
	REFERÊNCIAS	50
	ANEXO A - Aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa	59
	ANEXO B - Termo de Consentimento Livre e Esclarecido	62
	ANEXO C - Ficha Clínica aplicada aos pacientes com Síndrome de Williams	65

INTRODUÇÃO

A Síndrome de Williams-Beuren (SW) (OMIM #194050), também denominada de deficiência intelectual com hipercalcemia idiopática associada a estenose supravalvar aórtica (ESVA), é uma condição geneticamente determinada, com frequência estimada em 1:7500 a 1:25000 nascidos vivos (Hennekam, 2010; Udwin, 1990; Strømme, 2002). Trata-se de uma síndrome de genes contíguos associada a uma variedade de alterações morfológicas, além de malformativas. Neste trabalho apresentamos um estudo descritivo clínico-genético de 8 pacientes visando estudar a correlação genótipo-fenótipo destes casos.

Estudo Clínico-Genético e Correlação Genótipo-Fenótipo

Segundo Jablonsky (1991), a definição de síndrome é o conjunto de sinais e sintomas clínicos associados em uma mesma condição, que possuam relação causal etiológica, mesmo que os mecanismos patogênicos não sejam conhecidos. Entretanto essa definição não contempla situações em que os sinais e sintomas se sobrepõem, e as relações causais etiológicas podem ser diversas, tanto do ponto de vista genético quanto ambiental.

Por isso esta definição é complementada com três outras características das síndromes clínicas em que haja uma determinação genética, configurando assim o estabelecimento da correlação genótipo-fenótipo. São elas a heterogeneidade de locus, a heterogeneidade alélica e a heterogeneidade fenotípica, e todas podem alterar nossa interpretação destas síndromes. (Nussbaum, 2007)

Entende-se por heterogeneidade de locus a possibilidade de mutações em diferentes genes causar um fenótipo muito semelhante. É o que ocorre nos quadros descritos na Síndrome de Bardet-Biedl (OMIM #209900). Esta condição foi descrita em 1920, associada a obesidade, retinite pigmentosa, polidactilia e déficit intelectual com um modelo de herança autossômico recessivo. Foram identificadas mutações em mais de 14 genes diferentes relacionados a este mesmo quadro, sugerindo que todos são importantes para a integridade do campo do desenvolvimento associado a esta expressão clínica. (Nussbaum, 2007)

A descoberta deste mecanismo etiológico levou a revisão de uma condição conhecida como Síndrome de Lawrence-Moon, descrita em 1866, com obesidade, retinite pigmentosa, déficit do desenvolvimento e paraparesia espástica, em que não haveria polidactilia, a

diferenciando da Síndrome de Bardet-Biedl, segundo relatado por Schachatt em 1982. Estudos posteriores clínico-genéticos mostraram mutações nestes mesmos genes relacionados a Síndrome de Bardet-Biedl em famílias com diagnóstico confirmado de Síndrome de Lawrence-Moon (OMIM #245800), levando ao entendimento que na verdade as duas condições se devem a mutações no mesmo grupo de genes, representando a mesma condição (Moore, 2005).

A heterogeneidade de locus refere-se a mutações distintas em um mesmo gene acarretar diferentes fenótipos, seja relativo a gravidade da condição ou a expressão clínica tão marcante que se configure uma heterogeneidade fenotípica (Nussbaum, 2007). A Síndrome de Waardenburg foi descrita clinicamente em 1951, associada a surdez, distúrbios de pigmentação e anomalias craniofaciais. Em 1971, Arias identificou em estudo clínico-genético que algumas famílias de pacientes com Síndrome de Waardenburg não tinham uma anomalia craniofacial chamada telecanto, e nestas famílias não ocorria fenda labiopalatina podendo representar duas condições distintas, que ficaram conhecidas como Waardenburg tipo I quando havia telecanto na família e tipo II quando não havia. Somente em 1992 Tassabeji e Baldwin identificaram o gene responsável pela Síndrome de Waardenburg tipo I, o PAX3, e em 1994, ela identificou que o gene que causa a Síndrome de Waardenburg tipo II era outro, o MITF, confirmando o que a identificação clínica de 30 anos antes sugerira.

Em 1950 Klein já descrevera uma associação de defeitos de membros, alteração de pigmentação e surdez, e foi considerado posteriormente como Síndrome de Waardenburg tipo III devido ao componente neuromuscular. Em 1995, Zlogotora identificou que nesta condição também ocorriam algumas mutações específicas do gene PAX3, configurando uma heterogeneidade de locus como responsável por esta variabilidade.

Portanto, a definição e classificação sindrômica dependem de acurácia em se estabelecer condições clínica similares etiologicamente relacionadas, assim como da nossa capacidade de reconhecer os mecanismos potencialmente responsáveis pelas mesmas. O desenvolvimento de novas tecnologias e a descoberta de novos mecanismos causadores de adoecimento amplia nossa capacidade de reconhecer estas condições e exige descrição clínica mais acurada para saber até que ponto esses novos mecanismos podem ser moduladores de expressão fenotípica. O instrumento mais adequado para o estabelecimento desta relação é através dos estudos clínico-genéticos e investigação de correlação genótipo-fenótipo.

As semelhanças e diferenças identificadas através da minuciosa descrição clínica e comparados através dos avanços tecnológicos no reconhecimento das alterações metabólicas e

moleculares permitem inferir e ajudar a identificar com maior precisão a etiopatogenia destas condições.

Síndromes de Genes Contíguos

A Síndrome de Williams foi identificada como uma síndrome de genes contíguos. Este termo foi cunhado em 1986, por Schmickel, e se relacionavam a perda de material genético disposto consecutivamente em uma mesma região cromossômica. O resultado clínico não seria decorrente da mutação ou haploinsuficiência de um único gene, mas de diversos genes dispostos lado-a-lado. Foram inicialmente discriminadas deleções que fossem visíveis ao cariótipo e aquelas consideradas alterações submicroscópicas. (Tommerup, 1993)

Com o avanço diagnóstico e o desenvolvimento de novas técnicas diagnósticas, como a técnica de Fluorescência por Hibridização In Situ (FISH) e o aprimoramento da hibridização genômica comparativa (CGH) pela técnica de Array-CGH também foram sendo descritas novas síndromes associadas a este mecanismo, seja através de microdeleção ou microduplicação. A estimativa de quais genes estão envolvidos nestas alterações da cadeia de ácido desoxirribonucleico (ADN) pode justificar as diferenças entre as síndromes de genes contíguos clinicamente reconhecidas. (Weise, 2012)

ADN Repetitivo e Microssatélites

As regiões associadas a Síndrome de Genes Contíguos são geralmente flanqueadas por sequências de ADN repetitivo, que durante a replicação celular pode gerar áreas de instabilidade do ADN, favorecendo a recombinação genética entre regiões não homólogas. (Sharp, 2006) Este ADN repetitivo distribui-se por todo o genoma, podendo ser encontrado em regiões intragênicas, estando inclusive relacionado a patogênese de algumas síndromes, como no caso da Síndrome do X-Frágil, Doença de Huntington e ataxias espinocerebelares. (Debaker, 2007) Na maior parte das vezes, entretanto, estas repetições encontram-se no chamado ADN não-codificante, que promovem alterações estruturais no genoma e servem como sítios frágeis para a quebra de ADN. (Sharp, 2006)

Os microssatélites são um tipo específico de ADN repetitivo baseado em um número de repetições de uma sequência de ADN de 2 a 4 nucleotídeos (Vigueira, 2001).

Sua estrutura permite que essas regiões sejam consideradas regiões instáveis do ADN, apresentando polimorfismo até mesmo intrafamiliar, isto é, o número de repetições destas cópias podem variar no genoma de uma geração para outra, a taxas variáveis de 10 a 10.000 vezes maior que a de regiões não repetitivas de ADN. (Verstrepen, 2005) Por ocorrerem em regiões conservadas do ADN os microssatélites são amplamente utilizados como marcadores de paternidade (Jeffreys, 1985), além de ajudarem a identificar áreas relacionadas a síndromes genéticas, demonstrando se há integridade de uma região específica. (Nesi, 2011)

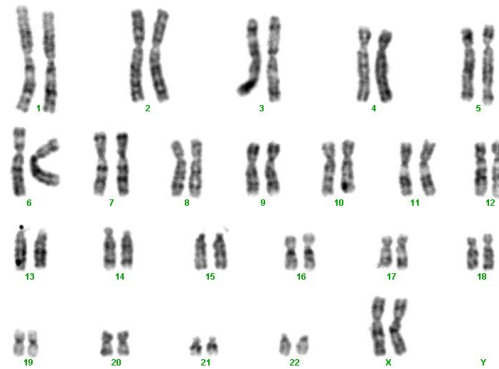
Técnicas de identificação de Síndrome de Genes Contíguos

Cariótipo em banda G

O cariótipo foi a primeira técnica a ser usada para identificar alterações genéticas e consiste na avaliação dos cromossomos por microscopia óptica, quando estão condensados no estágio de metáfase ou em estágios mais iniciais de condensação na fase de prómetáfase, que permite a identificação de bandas não identificáveis pela técnica habitual (ICSN, 2013).

Para estes serem identificáveis é adicionada a cultura de tecido, usualmente linfócitos, com células em replicação um inibidor do fuso acromático, a colchicina. Após exposição à mesma esse material é colocado em meio hipotônico e fixado com metanol e ácido acético. Após o mesmo é exposto à tripsina e corado com Giemsa, permitindo a identificação do padrão de bandeamento G pela maior afinidade do Giemsa com regiões com alta frequência de bases de adenina e timina, dando um padrão escuro às mesmas; enquanto, regiões mais ricas em bases de citosina e guanina identificam bandas claras do cromossomo (Couturier, 1981). Através desta técnica de bandeamento pode-se estimar que cada banda corresponda a aproximadamente 6 Megabase (Mb) de ADN. (Vissers, 2005)

Figura 1 – Cariótipo feminino normal, de paciente com Síndrome de Williams da nossa amostra



Nota: Este é o resultado esperado para Síndrome de Williams utilizando essa resolução citogenética.

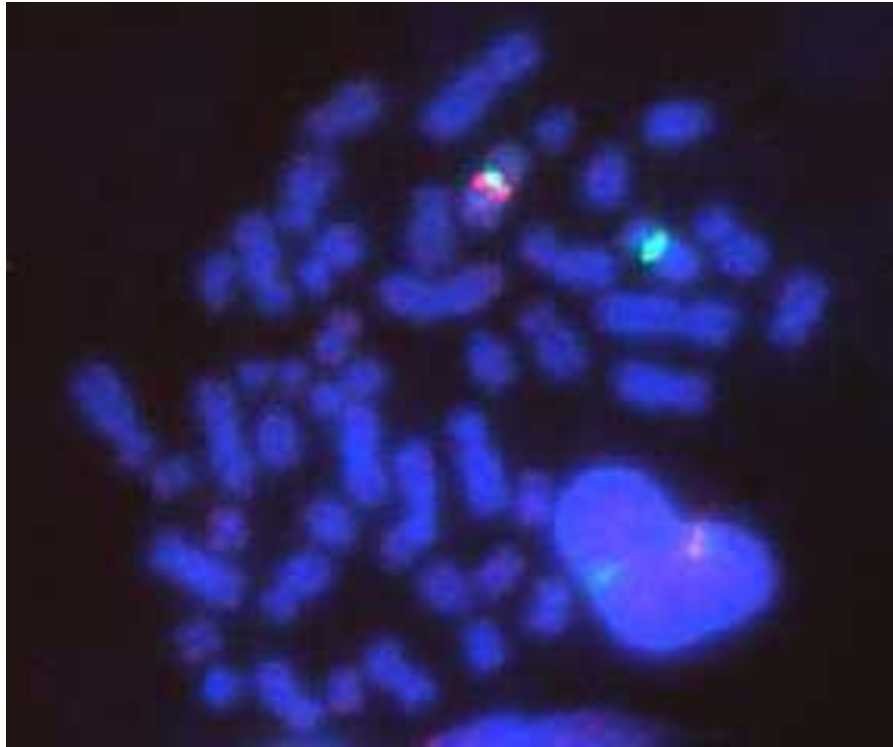
Fluorescência por Hibridização “in situ” (FISH)

Esta técnica consiste em identificar a presença de uma região específica do ADN, através de uma sonda marcada com fluorescência, que durante o processo da cultura se hibridiza com uma região homóloga e é capaz de identificar a mesma. Durante o processo podem ser usadas mais de uma sonda, com a limitação de que cada sonda deve ser identificada com uma coloração diferente. (Duarte, 2013)

Este processo pode ser identificado mesmo em células em intérfase, mas quando usada em metáfase, com 2 sondas do mesmo cromossomo podemos com uma sonda controle identificar o cromossomo a ser estudado, e com uma sonda de teste investigar a região de interesse relacionada a síndrome de genes contíguos. (Yoshida, 1992)

Técnicas mais sofisticadas, ainda restritas ao campo da pesquisa clínica, permitem o uso de diversas sondas de hibridização ao mesmo tempo e análise por espectroscopia, identificando diversas ondas de cor e regiões cromossômicas simultaneamente, conhecido como técnica do cariótipo espectral. (Belaud-Rotureau, 2003)

Figura 2 – A sonda de FISH em verde marca o centrômero do cromossomo 7, e hibridizou em 2 cromossomos, identificando-os e servindo como controle. Já a sonda de FISH para a região 7q11.2, em vermelho, relacionada a Síndrome de Williams, hibridizou em apenas 1 cromossomo 7, não sendo identificada no outro (seta), confirmando a deleção desta região neste caso da nossa amostra



Fonte: Disponibilizado para o autor pelo Laboratório de Genética Médica - IFF, 2013

Genotipagem de Microssatélites de ADN

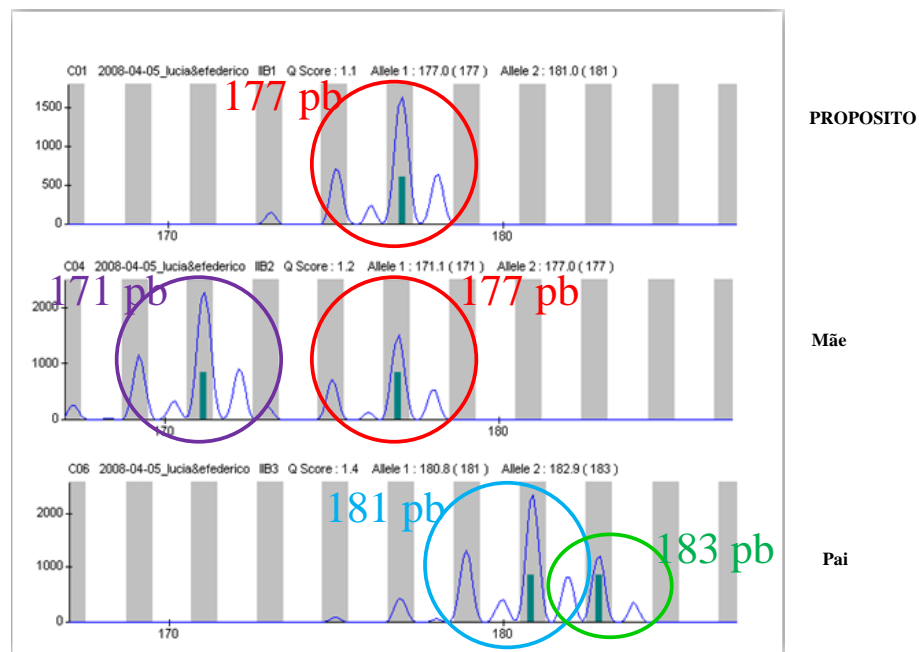
A técnica da genotipagem de microssatélites consiste em identificar o número de cópias de uma determinada sequência repetitiva de ADN do tamanho de microssatélites através de diferença de peso molecular do fragmento de ADN correndo em gel de agarose ou por sequenciador automático. Como são técnicas que usam fragmento de ADN, dispensam a cultura de tecido para se identificar a região de interesse.

Como descrito acima, as sequências repetitivas de ADN compõem a maior parte do genoma humano, e por muitas destas sequências serem altamente polimórficas, podem ser

utilizadas como modelos para investigação em medicina forense, oncologia e na identificação da integridade de uma região do genoma. Esta pode ser realizada comparando-se os alelos de microssatélites de regiões associadas ao cromossomo contendo os genes contíguos presentes nos pais com aqueles esperados no filho com suspeita de deleção. Como a técnica não discrimina os homozigotos (com o mesmo número de cópias em ambos alelos) em relação àqueles que só apresentam uma cópia por ter tido deleção da outra, é necessário o estudo genético dos pais para podermos interpretar a perda genética. (Gilbert-Dussardier, 1995)

Se como limitador para o uso desta técnica está a necessidade de conhecer o genótipo dos pais, e a possibilidade de resultados não informativos no caso de homozigotos, como informações adicionais além da presença ou não da deleção, esta técnica permite estimar o tamanho da deleção, informando a distância entre 2 alelos íntegros, além de informar a origem parental da deleção. (Dutra, 2011)

Figura 3 – Resultado de uma análise de microssatélites de um marcador para Síndrome de Williams que não identifica microssatélites que obrigatoriamente seriam herdados pelo pai. A não paternidade deve sempre ser investigada e confirmada com diversos marcadores



Fonte: Nesi, 2011

MLPA e Hibridização genômica comparativa por micro-Array

MLPA (Multiplex Ligation-dependent Probe Amplification) é uma técnica de análise do ADN capaz de detectar desbalanceamentos submicroscópicos, que vem há alguns anos sendo usada com este fim. (Aten, 2008) O micro-Array CGH possivelmente se estabelece como a principal técnica para avaliação de síndrome de genes contíguos. É capaz de avaliar a integridade do ADN de todo o genoma, na ordem de 6 kilobases (Kb) de ADN, comparando a quantidade de ADN com um controle normal em uma plataforma analisadas por processador automático por um chip. A grande limitação dessas técnicas é o alto custo (Schaeffer, 2004)

Histórico da Síndrome de Williams

Descrição Clínica e Morfológica

Os primeiros relatos clínicos relativos a esta síndrome surgiram com a descrição de estenose supralvar aórtica associada a hipercalcemia idiopática e déficit de desenvolvimento por Fanconi em 1951 e Sissman em 1959. Esta condição clínica foi melhor caracterizada pela ocorrência de baixa estatura, atraso no desenvolvimento leve a moderado com personalidade amigável, dismorfias faciais que podem incluir lábios espessos e infiltrado periorbitário, cardiopatia estrutural, sendo a mais freqüente a ESVA, anomalias dentárias, hipertensão essencial e hipercalcemia idiopática, tendo ficado conhecida com o nome de Síndrome de Williams-Beuren (Williams, 1961, Beuren, 1962, Garcia, 1964).

Também foi descrito frequentemente nestes pacientes um temperamento hypersociável, e notada aptidão para habilidades de linguagem e comunicação, a despeito do atraso do desenvolvimento referente a outros campos do desenvolvimento. (Morris, 1988)

No campo sensorial são descritas algumas particularidades, como hipersensibilidade a ruídos agudos e uma incidência aumentada na capacidade de distinguir tons musicais (Martens, 2010). Trata-se de condição genética de ocorrência esporádica, apesar de já haver sido relatado casos de herança autossômica dominante. (Jones, 2004)

Descoberta da etiologia da Síndrome de Williams

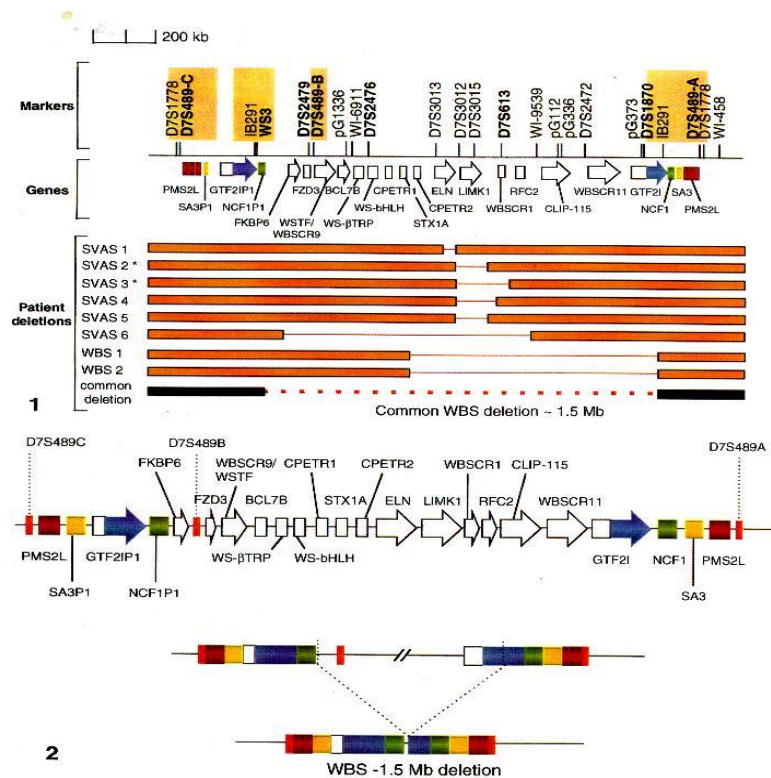
Até 1993 sua etiologia era desconhecida da comunidade médica. O mecanismo etiopatogênico da Síndrome de Williams foi identificado como uma microdeleção

cromossômica (não identificável ao cariótipo convencional) que compromete uma região específica do cromossomo 7 (7q11.23) envolvendo pelo menos 27 genes dispostos de forma contígua. (Meng, 1998)

Esta descoberta só foi possível devido à identificação de uma família com uma cardiopatia rara de caráter familiar, a estenose supra-avalvular aórtica, que apresentava também uma translocação aparentemente balanceada na região 7q11.23, com uma região o cromossomo 6, em 6p21.2. Nesta família notou-se que aqueles que tinham a translocação, com a perda provável de um região específica do cromossomo 7, também apresentavam a ESVA. Nesta região encontrou-se um gene que poderia correlacionar-se com a cardiopatia, o gene ELN, que transcreve a elastina, que poderia ter sofrido uma perda de função com esta quebra cromossômica. (Osborne, 1999)

Como os pacientes afetados com a SW também apresentam essa mesma cardiopatia rara, investigou-se se os pacientes com SW também não apresentariam deleção dessa região, o que acabou se confirmando, sendo o restante do quadro clínico explicado pela haploinsuficiência dos outros genes contíguos dessa região. (Ewart, 1993, Morris, 1993)

Figura 4 – Ilustração representando as deleções dos casos familiares de ESVA (SVAS) e de 2 pacientes com Síndrome de Williams Beuren (SW), com a perda do gene ELN



Fonte: Osborne, 1999

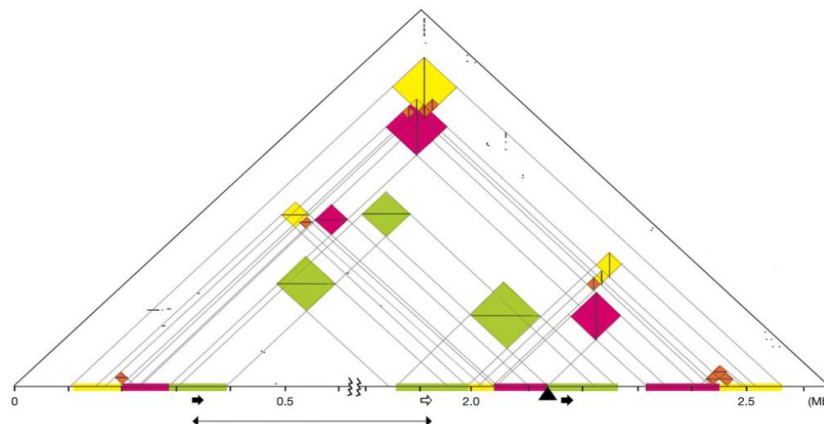
Características da Síndrome de Williams

Características Genéticas da Síndrome de Williams

A deleção cromossômica que acarreta a Síndrome de Williams ocorre com essa frequência estimada em estimada em 1:7500 a 1:25000 nascidos vivos (Hennekam, 2010; Udwin, 1990) especificamente nessa região do ADN pois é uma região flanqueada por sequencias de ADN repetitivo. Este é capaz de promover erros durante a replicação do ADN, com a formação de alças e a exclusão da parte do ADN entre essas regiões repetitivas. Essa instabilidade dessa região pode causar deleções ou duplicações da região crítica para a Síndrome de Williams. (Strømme, 2002) Foram descritos pacientes com duplicação dessa região, alguns apresentam atraso de fala e de desenvolvimento, além de alteração de marcha, mas outros têm um fenótipo muito brando e de difícil caracterização. (Dixit, 2013)

Foram descritas inversões dessa região do genoma em alguns familiares de pacientes com deleção ou duplicação desta região. Estes dados sugerem que essas regiões repetitivas flanqueadoras, que por apresentarem complementaridade entre si são conhecidas como duplicons, teoricamente favoreceriam erros de pareamento desigual durante a recombinação meiótica. Entretanto, na maior parte das famílias dos casos com SW este polimorfismo não é encontrado, mostrando que este não é o principal mecanismo causador da síndrome, mas pode estar relacionado a ela. (Osborne, 2001, Morris, 2011)

Figura 5 – Ilustração representando as complementaridades das regiões com sequencias de ADN repetitivo idênticas (duplicons) flanqueando a região crítica da Síndrome de Williams. A quebra na seta representa a região de aproximadamente 1,15 Megabase de ADN não repetitivo



Fonte: Hillier, 2003

Genes da Região Crítica para a Síndrome de Williams

Os genes desta região em haploinsuficiência são responsáveis pelo fenótipo descrito da Síndrome de Williams. Entretanto é difícil determinar o quanto a ausência de cada um isoladamente ou o efeito da perda de interações secundárias destes genes é responsável pelo fenótipo. Para facilitar a avaliação, os genes estão dispostos nesta apresentação da mesma maneira que se encontram na região 7q11.23 começando a partir do mais centromérico ao mais telomérico.

NCF1C (neutrophil cytosolic factor 1C pseudogene; SH3PXD1C)

O *NCF1C* é um pseudogene do gene *NCF1* que codifica uma subunidade da NAPH oxidase de neutrófilos. Este pseudogene carrega uma deleção de dinucleotídeo (delta-GT) no éxon 2 que resulta na mudança do quadro de leitura da proteína, com proteína final truncada.

Nenhuma das cópias do *NCF1C* parece ser expressa. O evento de recombinação entre o *NCF1C* e o *NCF1* funcional pode inativar este último e ocasionar uma doença conhecida como Doença Granulomatosa Crônica (Heyworth, 2002).

GTF2IRD2B (GTF2I repeat domain-containing protein 2, Beta)

A proteína humana *GTF2IRD2B* em seu segmento N-terminal compartilha homologia com a família de fatores de transcrição TF-II. Análises de Northern blot e de PCR identificaram expressão ubíqua deste gene, maior em tecidos fetais do que adultos observados. (Tipney, 2004).

POM121B (POM121 membrane glycoprotein B - pseudogene)

Este é um pseudogene homólogo ao *POM121* o qual supostamente é um componente do complexo de poros nuclear responsável pelo ancoramento e adesividade deste a membrana (Funakoshi, 2007).

NSUN5

Este gene supostamente codifica uma metil-transferase de mesmo nome e que tem grande similaridade ao p120 (*NOL1*). O p120 é um antígeno nucleolar associado à proliferação (Strausberg, 2002).

TRIM50 (tripartite motif-containing protein 50)

Em camundongos há alta expressão de *Trim50* no estômago e menor no testículo. Foi observado que a expressão ectópica de *Trim50* em camundongos tem foco citoplasmático que o localiza parcialmente com peroxissomos (Micale, 2008).

FKBP6 (*FK506-binding protein*)

O gene *FKBP6* apresenta homologia estrutural às imunofilinas FKBP, que são receptores celulares para drogas imunossupressivas como FK506 e rapamicina. Análises de Northern blot detectaram o transcrito FKB6 em uma grande variedade de tecidos humanos além de uma expressão excepcionalmente alta no testículo (Meng, 1998).

Através de estudos com camundongos foi sugerido que o *Fkbp6* é um componente do complexo sinaptonêmico, essencial para a fertilidade em machos e para a fidelidade no pareamento de homólogos durante a meiose (Crackower, 2003)

FZD9 (*frizzled, drosophila, homolog of, 9*)

Este gene codifica uma proteína de receptores transmembrana que se liga a proteínas da família *wingless-type* (Wnt), alterando a via metabólica da beta-catenina. O gene *FZD9* é expresso predominantemente no cérebro, testículo, olho, músculo esquelético e nos rins (Wang, 1997).

O estudo com camundongos revelou que o FZD9 desempenha fator crítico no desenvolvimento do hipocampo e pode ter relação com o fenótipo comportamental e do desenvolvimento neural na SW. (Zhao, 2005).

BAZ1B (*bromodomain adjacent to zinc finger domain, 1B; WSTF*)

A proteína BAZ1B, também chamada de WSTF, demonstrou homologia com uma grande variedade de fatores de transcrição, pois os bromodomínios são estruturas características de proteínas envolvidas na regulação transcricional dependente de cromatina. A análise de Northern blot deste transcrito revelou expressão ubíqua em tecidos adultos, com destaque para o coração, cérebro, placenta, músculo esquelético e ovário.

Foi identificado um complexo multiproteico (WINAC) que interage diretamente com receptores da vitamina D (VDR) através da ação do WSTF, podendo ser um gene modulador para a hipercalcemia nos pacientes com Síndrome de Williams (Meng, 1998).

BCL7B (*B-cell CLL/lymphoma 7B*)

O *BCL7B* codifica uma proteína de apresenta alta homologia ao *BCL7A* aparentando grande conservação ao longo da escala evolutiva (Meng, 1998).

TBL2 (*transducin-beta-like 2*)

O *TBL2* compartilha aproximadamente 40% de homologia com uma proteína de *C. elegans*, sugerindo que este gene foi conservado durante a evolução. A expressão deste gene pode ser evidenciada em todos os tecidos com destaque para o cérebro, coração, placenta, músculo esquelético e pâncreas, onde esta se mostrou mais elevada (Meng, 1998).

MLXIPL (*MLX-interacting protein-like; WBSCR14*)

O gene *MLXIPL* é expresso em múltiplos tecidos incluindo regiões do cérebro e trato intestinal. A proteína MLX, alvo de interação da *MLXIPL*, é um elemento chave da rede de fatores de transcrição, e por isso suspeita-se que possa estar envolvida no retardo do crescimento observado nos indivíduos SW (Cairo, 2001).

Foi descrito também que a proteína *MLXIPL* se liga a outras proteínas tipo MAX e ativa, de maneira glicose dependente, elementos de resposta a carboidratos (ChoRE) nos promotores de enzimas lipogênicas, controlando assim a transcrição destes genes (Meng, 1998).

VPS37D (*vacuolar protein sorting 37, yeast, homolog of, D; WBSCR24*)

A expressão deste gene em camundongos é mais pronunciada no cérebro, rim e músculo esquelético (Micale, 2008).

STX1A (*Syntaxin 1A*)

As vesículas sinápticas armazenam neurotransmissores que são liberados durante a exocitose regulada por cálcio. As syntaxinas atuam no processo de fusão das vesículas sinápticas e dos canais de cálcio para a região pré-sináptica ativa destas membranas. As syntaxinas também servem de alvo para a neurotoxina botulínica tipo C, uma metaloprotease bloqueadora da exocitose e parece estar relacionada ao predisposição ao diabetes mellitus nos pacientes adultos com Síndrome de Williams (Lam, 2005).

WBSCR26 (*williams-beuren syndrome chromosome region 26*)

Este gene é expresso em uma grande variedade de tecidos, com maior expressão observada no intestino delgado, testículos e fígado (Micale, 2008).

CLDN3 (*claudin 3; clostridium perfringens enterotoxin receptor 2*)

A proteína possui uma tendência a se concentrar nas junções adesivas quando expressas em células de mamíferos. Conclui-se então que as proteínas da família das claudinas estão envolvidas na formação das junções adesivas de vários tecidos (Paperna, 1998).

CLDN4 (*claudin 4; clostridium perfringens enterotoxin receptor 1*)

Assim como a *CLDN3*, a *CLDN4* é uma proteína da família das claudinas. Estas proteínas são componentes das junções adesivas, que por sua vez são responsáveis pela regulação do fluxo de íons e solutos para o espaço paracelular evitando assim a mistura de proteínas e lipídeos na parte exterior da membrana plasmática (Paperna, 1998).

WBSCR27 (williams-beuren syndrome chromosome region 27)

A proteína codificada por este gene possui um domínio metiltransferase com alta expressão no fígado e rins (Micale, 2008).

WBSCR28 (williams-beuren syndrome chromosome region 28)

Análises genômicas mapearam este gene na região 7q11.23. Análises de vários tecidos de camundongos evidenciaram a expressão deste gene apenas nos testículos, podendo se correlacionar a criptorquidia ou infertilidade quando deficiente em humanos (Micale, 2008).

ELN (elastin)

As fibras elásticas são compostas de dois componentes distintos, um componente amorfo mais abundante (elastina) e um componente microfibrilar. A elastina é composta em grande parte por glicina, prolina e outros resíduos hidrofóbicos (Rosenbloom, 1984). A elastina quando expressa de forma insuficiente pelas artérias, torna as mesmas menos elásticas e mais frágeis, resultando no espessamento das artérias. Outras características da Síndrome de Williams podem estar relacionada a alteração desta proteína, como hérnias inguinais e umbilicais, voz grosseira e mesmo dismorfismos faciais (Ewart, 1993).

Através do estudo com camundongos pode-se observar que animais que não possuíam o gene *ELN* morriam de uma doença arterial obstrutiva devido a grande proliferação de células endoteliais e reorganização da musculatura lisa (Li, 1998).

Dependendo da extensão e do posicionamento da mutação ocorridas neste gene, pode ocorrer um fenótipo conhecido como cútis laxa, que é geralmente causada por mutações pontuais no *ELN* que culminam com a produção de um transcrito anormal com perda da função elástica da pele em todo o corpo (Urban, 2005).

LIMK1 (LIM domain kinase 1)

A proteína LIMK1 pertence a uma grande família de proteínas LIM, que receberam este nome por possuírem domínios LIM. Estes domínios consistem em estruturas altamente conservadas ricas em cisteína e que possuem 2 dedos de zinco. Geralmente domínios que possuem dedos de zinco estão associados a interações com o ADN ou ARN, mas acredita-se que os domínios LIM estão envolvidos em interações proteína-proteína, podendo implicar em diversas vias metabólicas (Mizuno, 1994).

Por não possuir um peptídeo-sinal e nem domínios transmembrana, a proteína LIMK1 provavelmente é um componente de alguma via de sinalização intracelular, pois são componentes usualmente encontrados em sinalização extracelular (Tassabehji, 1996).

Através do estudo genético em camundongos, foi observado que o *LIMK1* é expresso no sistema nervoso central durante a embriogênese (Pröschel, 1995).

Famílias com fenótipos parciais da SW, ESVA e déficit cognitivo visuoespacial tiveram seu material genético estudado e foi observada uma deleção parcial da região SW que englobava apenas os genes *ELN* e *LIMK1*. (Frangiskakis, 1996) Como a função do gene *ELN* já é relativamente conhecida, concluiu-se que o déficit cognitivo visuoespacial está associado à deleção do *LIMK1* (Morris, 2003).

EIF4H (*williams-beuren syndrome chromosome region 1; eukaryotic translation initiation factor 4H*)

A proteína EIF4H foi identificada em coelhos por sua capacidade de estimular a tradução da globina *in vitro*. Foi comprovado que ela também estimula as atividades ATPase RNA dependentes de outras proteínas como EIF4A, EIF4B e EIF4. Sua sequência foi comparada com a da proteína humana, demonstrando 100% de homologia (Richter-Cook, 1998).

LAT2 (*linker for activation of T cells family, member 2; LAB; NTAL*)

É expressa nos leucócitos do sangue periférico, placenta e pulmão. A análise imunohistoquímica demonstrou a expressão de *LAT2* em centros germinativos, linfonodos e também em linfócitos B. Suspeita-se também que o *LAT2* seja um homólogo funcional e estrutural do *LAT*, em células não T (Brdicka, 2002).

RFC2 (*replication factor C, subunit 2*)

A proteína RFC2 participa de complexo replicativo que controla a velocidade de espaçamento, e a atividade de reinício das forquilhas de replicação nas células humanas, além de ser necessário para a coesão entre cromátides irmãs.

A deleção da subunidade RFC2 pode então reduzir a eficiência da replicação do ADN, o que poderia ser um fator que contribua para o atraso do desenvolvimento observado nos pacientes SW (Peoples, 1996).

CYLN2 (*cytoplasmic linker 2; CLIP2*)

Este gene possui pelo menos 7 éxons e codifica uma proteína que contém um segmento altamente homólogo à um sítio de ligação de microtúbulos encontrado no domínio N-terminal da restina, sugerindo assim que este transcrito desempenha papel importante na dinâmica dos microtúbulos. É altamente expresso no sistema nervoso central, podendo se relacionar a anomalias cerebelares que ocasionalmente podem afetar pacientes adultos com Síndrome de Williams. Foi proposto que as proteínas de ligação citoplasmáticas medeiam a

interação entre organelas membranosas específicas e os microtúbulos intracelulares (Hoogenraad, 1998).

GTF2IRD1 (*GTF2I repeat domain-containing protein 1; GTF3*)

Este gene, também conhecido como *GTF3*, é expresso em uma grande variedade de tecidos humanos, tem alta expressão durante a fase embrionária. Por apresentar expressão pronunciada nos tecidos muscular esquelético e cardíaco, foi proposto que este gene pode estar envolvido no aumento da fatigabilidade observada nos pacientes com SW (Osborne, 1999).

Através da observação de um indivíduo que possuía uma deleção atípica da região 7q11.23, a qual incluía o gene *GTF3* sem incluir o restante da região crítica para a Síndrome de Williams, pôde-se estabelecer uma relação entre o *GTF3* e o desenvolvimento craniofacial e cognitivo já que este indivíduo apresentava dismorfias faciais e déficit cognitivo (Tassabehji, 2005).

GTF2I (*general transcription factor II-I; bruton tyrosine kinase-associated protein 135 TFII-I*)

Este gene codifica uma das subunidades encontradas em uma família de complexos repressores multiproteicos que são capazes de silenciar genes através da modificação estrutural da cromatina (Hakimi, 2003).

Apesar de não haver até o momento nenhuma informação indicando que a deleção da região SW ocorre preferencialmente no cromossomo materno ou paterno, observa-se que quando a cópia remanescente do *GTF2I* é herdada do progenitor masculino há uma menor expressão deste gene, independente da idade ou sexo do indivíduo afetado sugerindo efeito de *imprinting* genômico. Como também nota-se uma diferença na expressão do *GTF2I* entre indivíduos afetados e normais é sugerido então um papel regulatório para este gene (Collette, 2009).

Foi constatado que uma menina com uma deleção atípica desta região, que mantinha as cópias do *GTF2I* íntegras, apresentava todas as características clássicas da síndrome, à exceção da personalidade amistosa além de possuir um déficit cognitivo bem mais brando. Foi sugerido que este gene possui importante papel no desenvolvimento cognitivo e no comportamento social observado na SW (Dai, 2009).

NCF1 (*neutrophil cytosolic factor 1; P47-phox*)

O fator citosólico de neutrófilo 1 (*NCF1*), também conhecido como p47-phox (fagócito oxidase), é um componente do complexo NADPH oxidase. Em células que não possuem o complexo NADPH, as proteínas p47-phox se fundem, o que leva a um aumento da

geração de superóxidos mimetizando assim o defeito citosólico observado em pacientes com uma doença conhecida como granulomatose crônica tipo 1 (Volpp, 1989).

Devido à hemizigose do gene da elastina, os pacientes da SW possuem uma grande tendência a serem hipertensos. Porém foi observado que nos pacientes em que a deleção também englobava o gene *NCF1* havia uma menor incidência hipertensão, sugerindo que nestes casos a ausência de uma das cópias do *NCF1* pode ser um fator de proteção. Ele está deletado em 40% dos pacientes com Síndrome de Williams (Del Campo, 2006).

GTF2IRD2A (GTF2IRD2)

A proteína GTF2IRD2 humana contém 949 resíduos de aminoácidos e tem massa molecular estimada em 107 kD, possui domínios que compartilham homologia com a família de fatores transcricionais TFII-I (Tipney, 2004).

A análise de pacientes portadores da SW que possuíam deleções grandes o suficiente para englobar o gene *GTF2IRD2* mostrou que estes não apresentam diferenças fenotípicas significativas dos pacientes com a deleção clássica (Tipney, 2004).

Origem parental

O erro genético causador da maior parte dos casos de Síndrome de Williams ocorre durante a meiose, portanto espera-se, e tem sido encontrada, a mesma quantidade de origem paterna e materna de deleções. Por este princípio identifica-se uma idade paterna mais avançada nos familiares de pacientes com Síndrome de Genes Contíguos, uma vez que as células germinativas destes passaram por mais processos de meiose durante a vida, podendo acumular mais destes tipos de erros e passar para gerações subsequentes.

Apesar de a ocorrência esperada do evento ser igual entre as duas origens parentais, a regulação dos genes de origem paterna ou materna, logo, de sua função e nível de atividade, pode sofrer influência do processo de *imprinting*. Este processo decorre através de metilação, e conseqüente silenciamento gênico, diferencial durante a gametogênese masculina ou feminina. Estima-se que 10% do genoma seja metilado e, portanto, devem ser investigadas as possibilidades de esta região também sofrer este tipo de processo. Para pelo menos o gene GTF21 o efeito de origem parental pode ser verificado na literatura, ainda não havendo dados suficientes quanto a expressão diferencial de outros genes desta região. (Collette, 2009)

Até o momento a maior parte dos trabalhos não haviam identificado diferenças fenotípicas dependentes de origem parental (Wu, 1998), mas novos trabalhos além do da

expressão mensurável do gene GTF21 indicam que pode haver outros fatores associados, tendo sido descrito que o evento da microcefalia poderia estar associado a herança da perda da região da Síndrome de Williams por deleção materna. Estes resultados indicam que devem ser observados atentamente os eventos de origem parental na Síndrome de Williams por se tratar possivelmente de região com expressão diferencial por *imprinting* genômico. (Del Campo, 2006)

Tamanho da deleção

A maior parte dos estudos identifica duas deleções mais frequentes na síndrome de Williams, uma de 1,55 e outra de 1,84 Mb de ADN. (Bayes, 2003) Entretanto, há relato de grande variabilidade nos tamanhos de deleções atípicas, que podem causar variantes clínicas dependentes de quais genes estão em haploinsuficiência. (Osborne, 1999) Deleções muito grandes, maiores que 2,4 Mb, estão associados a déficit de desenvolvimento importante com quadro cognitivo muito mais afetado (Marshall, 2008)

Características Clínicas da Síndrome de Williams

Relacionaremos por grupo nosológico as principais características clínicas associadas a perda da região supracitada. Nenhuma destas características é patognomônica ou obrigatória para o diagnóstico desta condição. Classicamente estão envolvidos um fâcies característico, doença cardiovascular, déficit do desenvolvimento cognitivo com comportamento hiperssociável característico, alterações endócrinas e de crescimento. (Morris, 1999)

Características Morfológicas da Síndrome de Williams

Os pacientes afetados pela Síndrome de Williams apresentam características físicas peculiares, que levaram a ser conhecido como fâcies élfica. Estes pacientes apresentam fronte ampla, estreitamento bitemporal, um enchimento supraorbital característico, íris estrelada, estrabismo, nariz curto e antevertido, nariz de ponta alargada, achatamento malar, filtro longo, espessamento dos lábios, boca grande com dentes pequenos e espaçados, voz grosseira, micrognatia e orelhas proeminentes. Além disso nota-se unhas hipoplásicas e hálux valgo. Quando crianças apresentam bochechas proeminentes e com o passar dos anos a face fica mais alongada. (Hennekam, 2010, Jones, 2004)

Características Endocrinometabólicas da Síndrome de Williams

Durante a infância estes pacientes apresentam enorme dificuldade alimentar, por muitas vezes necessitando investigação. Normalmente estas podem ser secundárias a refluxo gastroesofágico, incoordenação de sucção, aversão a texturas alimentares específicas. Estas podem resultar em cólica e constipação, agravadas pelos episódios de hipercalcemia. (Morris, 1988) A descrição de doença celíaca em pacientes com Síndrome de Williams foi identificada em um trabalho como significativamente maior que o da população geral (9,6% x 0,5% da população geral), evento que pode estar relacionado com infecções intestinais de repetição. (Giannotti, 2001)

A hipercalcemia é identificada em 15-50% das amostras de pacientes com Síndrome de Williams, e acompanhada de hiper calciúria em 30%, podendo chegar a nefrocalcinose em menos de 5 %. Deve-se acompanhar também as infecções de trato urinário de repetição e nefrolitíase, além do risco de desenvolvimento de divertículos de bexiga. Cerca de 40% destes pacientes têm bexiga neurogênica e enurese noturna. (Sammour, 2006)

Em 10% dos pacientes pediátricos se identifica hipotireoidismo e os adultos devem ser acompanhados para hipotireoidismo subclínico e resistência insulínica. (Cherniske, 2004)

Cerca de 70% dos pacientes apresenta baixa estatura e possui um padrão tão característico que foi desenvolvido uma curva de crescimento específica para os mesmos, com pouco ganho de peso no início da vida, ganho puberal precoce, e estatura final abaixo do percentil 3 (p3). (Martin, 2007)

Características Neurocomportamentais da Síndrome de Williams

O comportamento dos pacientes com Síndrome de Williams é bastante característico. Apresentam defensividade auditória e tátil (Van Borsel, 1997), além de comportamento peculiar. Estes pacientes possuem uma tendência a ser excessivamente empáticos, amigáveis, desinibidos, adquirindo o comportamento como se fosse o anfitrião de um *cocktail*. Mais de 70% destes pacientes apresentam fobias específicas, ansiedade e déficit de atenção (Morris, 2010). Exames de neuroimagem com identificação de emissão de pósitrons, marcando os locais onde há consumo de glicose mostram que a percepção de medo destes pacientes não se correlaciona com a de quem não possui a síndrome. (Meyer-Lindenberg, 2006) No campo sensorial se descreve algumas particularidades, como hipersensibilidade a ruídos agudos e uma incidência aumentada na capacidade de distinguir tons musicais (Martens, 2010).

Apresentam atraso no desenvolvimento leve 75% dos pacientes com Síndrome de Williams, com quociente de inteligência (QI) próximo a 70, semelhante em ambos os gêneros, sempre com mais deficiência em habilidades visuo-espaciais que as de linguagem. (Mervis, 2012) Em adultos identificou-se frequência aumentada de ataxia, dismetria e tremor, com preservação da arquitetura do cerebelo. Entretanto, há relatos de malformações de fossa cerebral do tipo Arnold-Chiari I em alguns indivíduos (Poher, 2007)

Características Cardiovasculares da Síndrome de Williams

A arteriopatía pela elastina ocorre em 80% dos pacientes com Síndrome de Williams e pode afetar qualquer artéria, e existe o relato que pacientes do sexo masculino possuem risco de lesões cardíacas e complicações cardiológicas mais graves, possivelmente relacionado a outros genes modificadores e a um risco maior de cardiopatía constrictiva em homens da população geral. (Sadler, 2001)

A cardiopatía estrutural mais comum é a ESVA, que costuma ir se agravando nos primeiros 5 anos de vida. Caso não seja corrigida pode evoluir com hipertrofia cardíaca e culminar em insuficiência cardíaca das câmaras esquerdas. A segunda vasculopatía mais frequente nesses pacientes é a estenose pulmonar periférica, mas esta tende a abrandar com a idade. Os pacientes com Síndrome de Williams possuem também um risco 25 a 100 vezes maior que a população de apresentar morte subita por prolongamento do intervalo QT. (Collins, 2010)

A prevalência de hipertensão nos pacientes com Síndrome de Williams é de 40-50%. Esta pode surgir em qualquer idade e deve ser pesquisada se há relação com estenose da artéria renal. (Deal, 1992)

1 OBJETIVOS

O objetivo deste trabalho é realizar uma descrição clínica em uma série de 8 indivíduos adolescentes e adultos jovens com Síndrome de Williams, correlacionando com o estudo molecular visando uma correlação genotípica-fenotípica.

2 JUSTIFICATIVA

Este trabalho pode informar se o tamanho, a posição e a origem parental da deleção se correlacionam a apresentações clínicas heterogêneas, apontando se há genes candidatos nessa região que, quando comprometidos, se associem mais fortemente a algum aspecto do quadro clínico. Há poucos relatos na literatura da abordagem clínica a adolescentes com SW, especialmente descrições clínicas que abordem alguns aspectos específicos desta avaliação como o estudo dos dermatóglifos e a estratificação da avaliação morfológica através de estudos de origem parental e tamanho da deleção.

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Tipo de Estudo

Este trabalho é um desdobramento clínico de um trabalho anterior de identificação de deleções em 7q11.23 em pacientes com suspeita clínica da Síndrome de Williams (Nesi, 2011). Este consistiu no emprego laboratorial da técnica de biologia molecular com genotipagem por microssatélites na identificação de anomalias genômicas em pacientes com suspeita médica de Síndrome de Williams, comparando-a com a técnica de FISH. O trabalho proposto é um estudo descritivo, do tipo clínico-genético, que visa reavaliar clinicamente estes pacientes através da ficha clínica apresentada no final do texto e avaliar se o tamanho e origem parental das deleções genômicas interferem na expressão clínica da doença, inferindo possibilidades de aprimorar a correlação genótipo-fenótipo acima explanada.

Para tal estes pacientes foram reexaminados juntamente com seus pais, e com a sua concordância foram realizadas novas investigações clínicas e correlacionadas com os dados moleculares obtidos.

3.1.1 Critérios de inclusão

Pacientes com deleção confirmada de genes da região crítica para Síndrome de Williams através da técnica de genotipagem de microssatélites nos marcadores D7S672, D7S2472, D7S2476 e D7S3015.

3.1.2 Critérios de exclusão

Pacientes sem deleção identificada na região crítica para Síndrome de Williams. E pacientes que por qualquer motivo não queiram participar da pesquisa.

3.2 Considerações éticas

Esta foi realizada no Instituto Fernandes Figueira nos conformes do Comitê de Ética desta instituição, sob o parecer do CEP-IFF/FIOCRUZ 101/00 e na CONEP nº 1723/2000. Estes pacientes já haviam participado de estudo clínico anterior, não necessitando ser abordados temas como identificação de não-paternidade, uma consequência possível do estudo molecular para a investigação da Síndrome de Williams.

3.3 Desenvolvimento e Aplicação de Ficha Clínica

Para a realização desta pesquisa, os dados clínicos e laboratoriais foram incorporados a uma ficha clínica, desenvolvida para este fim, tendo sido aplicada pelo pesquisador em cada um dos pacientes durante consulta no ambulatório de Pesquisa Clínica do Instituto Fernandes Figueira, sendo os mesmos encaminhados com o fim de participar da pesquisa. Os exames clínicos solicitados fazem parte do acompanhamento clínico sugerido para pacientes com SW (Pagon, 2014). Após o término da pesquisa as fichas clínicas serão incorporadas aos respectivos prontuários. A ficha clínica aplicada encontra-se no anexo C deste trabalho.

3.3.1 Dados da história clínica do paciente

Para a coleta dos dados de história familiar foi utilizada a própria memória familiar como base de referência para esta pesquisa. Os campos abertos (encaminhado por:) e (idade na suspeita diagnóstica) foram preenchidos segundo o relatante, normalmente indicando o quadro clínico inicial que levou à suspeita da síndrome e o profissional que a solicitou.

A informação da data de nascimento dos pais em genética é um dado relevante que merece ser investigado devido a um conhecido efeito de doenças gênicas, associado mais fortemente à idade paterna avançada.

Os dados de peso ao nascimento e parto também eram de preenchimento livre e a idade gestacional foi considerada somente como “a termo”, “pré-termo” e “pós-termo”

mesmo para aqueles que dispunham da data em semanas pelas técnicas de Ballard, Capurro somático ou por dados ultrassonográficos pré-gestacionais.

Da mesma forma questões como (Uso de medicação?) e (Internações?), eram precedidas de campos sim ou não, e, quando questionado, o relatante era informado que uso de medicações referia-se a medicações habituais.

Os dados (dificuldade alimentar na infância), (vômitos), (constipação), (baixa estatura), (dificuldade de ganho de peso), (hipertensão arterial sistêmica), (hipercalcemia) e apresentavam campos de resposta fechada (sim) ou (não), e, quando solicitado, os pacientes eram atendidos e a pergunta podia ser verbalmente formulada com uma definição mais simplificada do significado, como por exemplo, para referir-se a hipercalcemia pôde ser substituído por “ele teve por algum momento da vida aumento dos níveis de cálcio do sangue?”, levando a um resultado mais fidedigno. Todos os dados marcados de história clínica foram repassados consensualmente com os relatantes.

3.3.2 Dados morfológicos

Os dados morfológicos foram preenchidos segundo critérios técnicos que merecem ser discriminados com fins de reprodutibilidade da pesquisa.

As estaturas e pesos de pai e mãe foram medidas em régua estadimétrica de balança eletrônica de solo Micheletti, calibrada compartilhada entre o ambulatório de pesquisa clínica e a pediatria. Quando havia indisponibilidade da aferição pela ausência de um dos pais, os dados informados pelos familiares não foram desconsiderados.

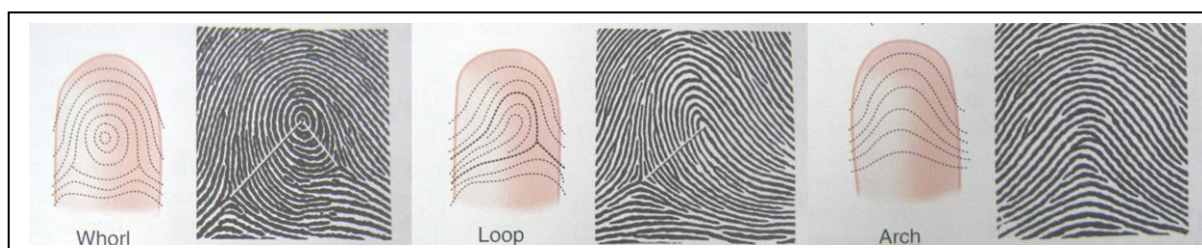
As medidas antropométricas do paciente foram todas realizadas pelo pesquisador, tomadas com a mesma fita métrica própria do ambulatório, com metodologia segundo ilustrado e orientado em Jones, 2004. São elas: perímetro cefálico, incluindo-se o perímetro cefálico dos pais, distâncias intercantais interna e externa, além de interpupilares. O resultando em percentil corrigido pela idade utilizado também está disponível na mesma referência e permitem inferir dados morfológicos como hipotelorismo ocular ou telecanto.

A descrição pontual indicando presença ou ausência dos dados de morfologia foram preenchidos pelo pesquisador baseado nos critérios estabelecidos para este fim disponíveis na literatura especializada (Jones, 2004, Hennekam, 2010, Nussbaum, 2007). São estes (Estreitamento bitemporal), (Região periorbitária típica em SW), (Fronte proeminente),

(Achatamento malar), (Bochechas proeminentes), (Raiz nasal baixa), (Filtro Longo), (Nariz curto e antevertido), (dentes pequenos e espaçados), (lábios espessos), (Hérnia umbilical ou inguinal), (Bocarra), (Contraturas articulares), (Voz grosseira), (Clinodactilia de 5º quirodáctilo), (estrabismo), (unhas hipoplásicas ou distróficas), (íris estrelada), (pectus excavatum) e (hálux valgo). Estas foram preenchidas a critério do pesquisador e todos os pacientes concordaram com o registro fotográfico, tendo também preenchido este campo em Termo de Consentimento.

Também foi realizada investigação dos dermatóglifos digitais nos pacientes e em ambos os pais. Estes foram posicionados sequencialmente na ficha clínica separados de mão direita e esquerda, a partir do primeiro quirodáctilo em posição anatômica (polegar) para o quinto (dedo mínimo). A classificação utilizada para esta investigação de dermatóglifos seguiu a orientação da presença de trirrádios em base digital, se uni ou bilateral, além da presença de centros de imagem. (Jones, 2004, Stevenson, 2006) Assim, podemos ter cinco tipos de imagem descritas neste modelo: Arcos, quando não há trirrádios na imagem digital, Alças Cubitais (trirrádio em região radial), Alças Radiais (trirrádio em região cubital), Verticilos (dois trirrádios e um centro de imagem), Dupla Alça (dois trirrádios e dois centros de imagem).

Figura 6 – Representação dos tipos mais comuns de dermatóglifos, em ordem: Verticilos, Alças e Arcos.



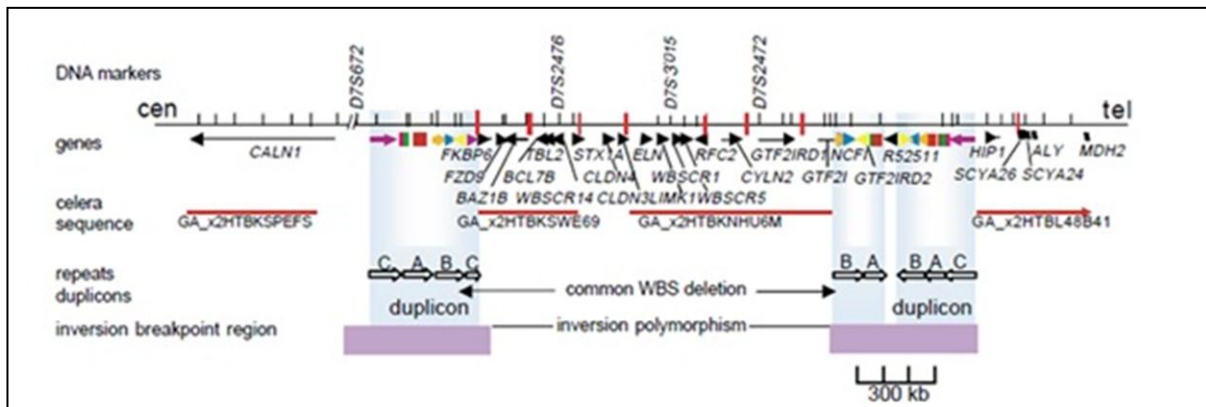
Fonte: Jones, 2004; adaptado pelo autor.

3.3.3 Dados clínicos

Foram também observados dados clínicos paramétricos desses pacientes. Há um lugar na ficha clínica para os dados genéticos, com o resultado do FISH, além dos marcadores de microssatélites utilizados nos referidos pacientes. Estes foram dispostos em linha, e aqueles que pertencem a Região crítica para a Síndrome de Williams, como representados abaixo,

foram grifados em negrito. Para cada campo há as opções de região Normal (com microssatélites de ambos os pais), Deleção materna (técnica identificou presença do alelo paterno e confirmou deleção do alelo materno), Deleção Paterna, Não Informativo (não discrimina homozigose de hemizigose) além da opção Não Realizado. Este esquema representa aproximadamente quais genes estão próximos aos marcadores.

Figura 7 – Esquema do posicionamento dos marcadores de microssatélites de ADN utilizados neste trabalho em relação a região crítica da Síndrome de Williams



Fonte: Osborne, 2001; adaptado pelo autor.

Além destas avaliações, foi medida a Pressão Arterial em milímetros de mercúrio (mmHg) em ambos os membros com manguito adequado para o comprimento do membro em aparelho da marca Premium, do ambulatório de Pesquisa Clínica, como houve medida de Peso em Kg em balança eletrônica de solo em sala de medida de peso compartilhada com o ambulatório de pediatria. Foi também avaliada pela rotina do próprio hospital os seguintes exames séricos necessários ao acompanhamento dos pacientes com Síndrome de Williams: (Hemoglobina), (T4 Livre), (TSH), (Ureia), (Creatinina), (Cálcio Sérico), (Fósforo), (Magnésio), (Fosfatase Alcalina), (Hemoglobina Glicada), (Glicemia de Jejum), (Colesterol), (Triglicerídeos), (HDL) e (LDL). Apesar de não dispormos de (Osteocalcina), (Vitamina D) e (Paratormônio), solicitamos com fins de analisar o metabolismo do cálcio nestes pacientes, mas não tínhamos como oferecer laboratório que realizasse esta avaliação.

Havendo, disponibilidade de avaliação de densitometria óssea, técnica que permite identificar além da capacidade de cálcio nos ossos, pode inferir status nutricional, ambos importantes de serem avaliados nos pacientes com Síndrome de Williams, solicitamos esta avaliação e expomos o resultado da Densidade Mineral Óssea Total e Conteúdo Mineral

Ósseo, que interferem para o estabelecimento do Z-escore, relacionado ao peso e idade do paciente. Também foi aferida gordura corporal, normalmente de até 22% da massa corporal. O equipamento em que esta foi realizada foi o *Lunar iDXA ME+200265* e as análises densitométricas foram realizadas segundo recomendação da OMS 1994, ISCD 2005 e posições oficiais 2008 da SBDENS.

3.3.4 **Dados neurocomportamentais**

Estes dados foram coletados baseados na história familiar, à mesma maneira dos dados de história clínica. Foram colocados a parte devido à grande especificidade que apresentam esses dados nos pacientes com Síndrome de Williams.

São eles: (hipotonia na infância), (microcefalia), (hiperacusia), (personalidade muito amigável), (transtorno de ansiedade), (loquacidade) e (atraso no desenvolvimento). Estes apresentavam campos de resposta fechada (sim) ou (não), e, quando solicitado, os pacientes foram novamente inqueridos por uma definição mais simplificada do significado, como por exemplo, para referir-se a hipotonia pôde ser substituído por “ele era mais molinho na infância e demorou mais tempo que os outros para firmar o pescoço?”, levando a um resultado mais fidedigno. Também nesse caso, todos os dados de avaliação neurocomportamentais foram repassados consensualmente com os relatantes.

4 RESULTADOS

4.1 Amostra

Foram chamados para este trabalho todos os 19 pacientes com deleção avaliados pela técnica de genotipagem de microssatélites no Instituto Fernandes Figueira, procedimento realizado no hospital desde 2005. Eles foram contatados através do telefone do prontuário e, quando não houve contato telefônico, foi enviado um telegrama ao endereço que constava no prontuário. Destes pacientes 1 evoluiu para o óbito por pneumonia, 1 se recusou a participar da pesquisa e 10 não retornaram com qualquer modo de contato.

4.2 Resultados da ficha clínica-genética

Os resultados serão apresentados na forma de tabela para este estudo de descrição clínico-genético. Baseado no resultado do molecular a exposição dos resultados será exposta com três diferentes colunas. Na primeira colocaremos a paciente que apresentou uma deleção atípica, de origem materna, na coluna central estarão os outros pacientes com deleção típica de origem materna e na última coluna estarão os pacientes com deleção típica de origem paterna. Vale lembrar que o número amostral não permite comparações estatisticamente significativas entre os dois grupos.

4.2.1 Dados Genéticos

Quadro 1 – Apresentação dos resultados dos dados genéticos dos pacientes. A primeira coluna representa a paciente com deleção materna atípica, a segunda os demais pacientes com deleção materna e a terceira contempla os pacientes com deleção típica paterna. Os marcadores para a região crítica para a Síndrome de Williams estão grifados em negrito

Informação Genética / Paciente (código)	2	7	13	5	10	21	24	3
FISH	ish (LPU 011) x1			ish (LPU 011) x1				
Marcador D7S2429	Norm	Norm	Norm	Norm	Norm	Norm	NI	NI
Marcador D7S2512	Norm	Norm	NI	Norm	Norm	Norm	NI	NI
Marcador D7S672	Norm	Norm	Norm	Norm	Norm	NI	Norm	Norm
Marcador D7S2476	Del M	Del M	NI	NI	NI	NI	Del P	Del P
Marcador D7S3015	Del M	Del M	Del M	Del M	Del P	Del P	Del P	NI
Marcador D7S2472	Norm	Del M	Del M	Del M	Del P	NI	NI	NI
Idade Paterna ao nascimento	49	38	27			27	31	27
Idade Materna ao nascimento	33	24	26	21	27	28	22	24
Idade de suspeita do diagnóstico	7	5	10	13	6	5	0	1
Sexo	F	F	M	M	F	M	M	M
Peso de nascimento	2420	2910	2900		3350	2140	2450	2700
Modo de parto	Vaginal	Vaginal	Vaginal	Cesariana	Cesariana	Vaginal	Vaginal	Vaginal

Norm - Bialelismo para microssatélites; Del M - Monoalelismo paterno; Del P - Monoalelismo materno; NI - Não informativo

Fonte: Srao, 2014.

4.2.2 Dados Morfológicos

Quadro 2 – Apresentação dos resultados dos dados morfológicos dos pacientes

Dados Morfológicos / Paciente (código)	2	7	13	5	10	21	24	3
Idade	23	14	15	13	11	10	14	21
Intercantal externa	9,5	9	9	10	9	9	10	10
Interpupilar	6,5	6	6	6,5	6	6	6,5	7
Intercantal interna	3,5	2,5	3	3	3	3	4	3
Palmas	8	9	9,5	9,5	10	8,5	10	10
Dedo médio	6	7	7,5	6,5	7	6	7,5	7,5
Dermatogílios QD1	AC	V	AC	V	V	V	V	V
Dermatogílios QD2	AR	V	V	V	V	V	V	V
Dermatogílios QD3	arco	AC	V	V	V	V	V	AC
Dermatogílios QD4	V	V	V	V	V	V	V	AC
Dermatogílios QD5	AC	V	AC	AC	AC	V	V	AC
Dermatogílios QE1	V	V	AC	V	V	V	V	V
Dermatogílios QE2	AR	V	V	V	V	V	V	V
Dermatogílios QE3	AC	AC	V	V	V	V	V	V
Dermatogílios QE4	AC	V	AC	V	V	V	V	AC
Dermatogílios QE5	AC	V	AC	V	AC	V	V	AC
Dermatogílios QD1 p		V			V	AC	V	AC
Dermatogílios QD2 p		AR			V	AR	V	V
Dermatogílios QD3 p		V			AC	AC	AC	V
Dermatogílios QD4 p		V			V	AC	V	V
Dermatogílios QD5 p		V			V	AC	V	AC
Dermatogílios QE1 p		V			AC	arco	V	
Dermatogílios QE2 p		V			AC	arco	V	V
Dermatogílios QE3 p		V			AC	AC	V	AC
Dermatogílios QE4 p		V			AC	AC	V	V
Dermatogílios QE5 p		AC			AC	AC	AC	AC
Dermatogílios QD1 m	AC	DA	AC			V	DA	DA
Dermatogílios QD2 m	AC	AC	V			V	V	AC
Dermatogílios QD3 m	AC	AC	AC			V	AC	AC
Dermatogílios QD4 m	AR	AC	AC			V	V	V
Dermatogílios QD5 m	V	AC	AC			V	AC	AC
Dermatogílios QE1 m	AC	DA	AC			V	DA	DA
Dermatogílios QE2 m	AC	AR	AR			V	AC	AC
Dermatogílios QE3 m	AC	AC	AC			V	AC	AC
Dermatogílios QE4 m	AC	AC	AC			V	V	AC
Dermatogílios QE5 m	AC	AC	AC			AC	AC	AC
Fronte proeminente	N	S	N	N	S	N	N	N
Estreitamento bitemporal	S	S	S	S	N	S	N	S
Região periorbitária	S	S	S	S	S	S	S	S
Estrabismo	N	N	N	N	N	S	N	N
Iris Estrelada	N	N	N	N	N	S	S	N
Alteração oftalmológica	S ¹	N	S ²	N	N	S ⁴	N	N
Achatamento malar	S	S	S	S	S	S	S	S
Bochechas proeminentes	N	S	S	S	S	S	S	N
Raiz nasal	S	N	N	S	N	N	S	N
Nariz antevertido	S	N	N	S	N	S	S	S
Filtro nasal longo	N	N	N	S	N	N	S	S
Dentes espaçados	S	S	S	S	N	N	S	S
Lábios espessos	S	S	S	S	S	S	S	S
Bocarra	S	S	S	S	N	S	S	S
Micrognatia	N	N	N	S	N	S	S	S
Voz grosseira	S	S	S	S	S	S	S	S
Contraturas	N	N	N	N	N	N	N	S
Clinodactília	S	N	N	N	N	S	S	N
Unhas	N	N	N	N	N	N	N	N
Pectus	N	N	N	N	N	N	N	N
Alteração renal	S ⁴	N	N	N	N	N	N	N
Hérnia	S	S	N	N	S	N	N	N
Hélix	N	N	N	N	N	S	S	N

Dermatogílios: V - Vertício / AC - Alça Cubital / AR - Alça Radial / DA - Dupla alça / arco - arco
¹ - Astigmatismo e hipermetropia / ² - Miopia / ³ - Estrabismo / ⁴ - Ectasia pielocaliciana e cisto renal

Fonte: Srao, 2014

Figura 7 – Fenótipo facial característico da Síndrome de Williams. Região periorbitária típica, lábios espessos, dentes espaçados



Figura 8 – Fenótipo facial dos pacientes com Síndrome de Williams

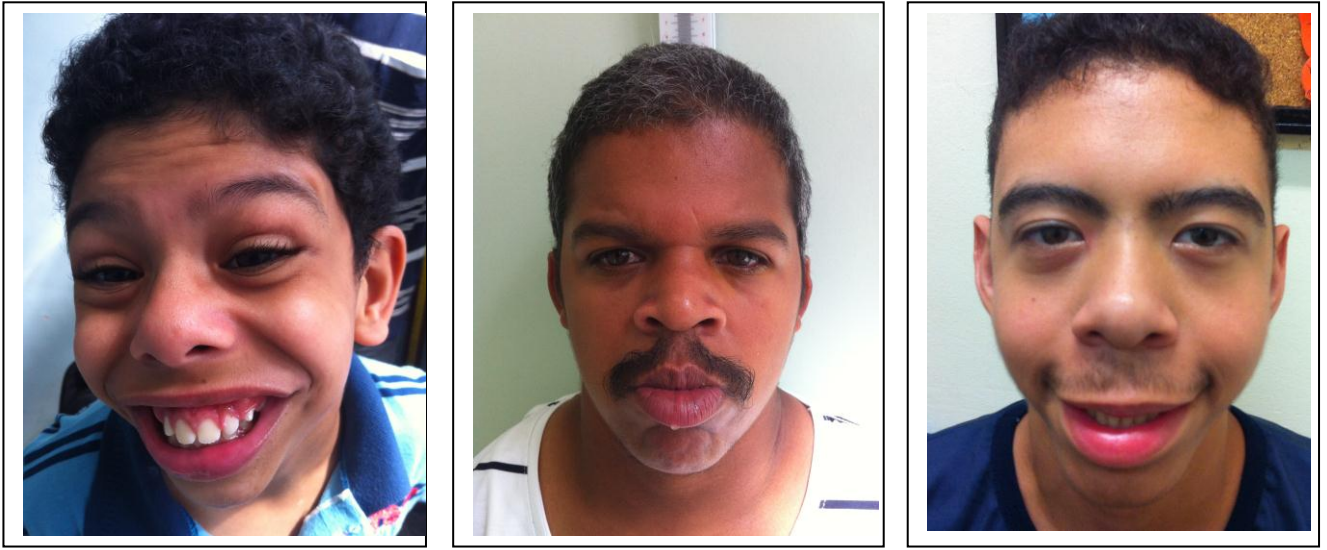


Figura 9 – Clindactilia de quinto quirodáctilo bilateral



Fonte: Serao, 2014

Figura 10 – Háluces em valgo bilateralmente



4.2.3 Dados Endócrinometabólicos

Quadro 3 – Apresentação dos resultados dos dados endocrinometabólicos dos pacientes.

Dados Endocrinometabólicos / Paciente(código)	2	7	13	5	10	21	24	3
Estatura paciente	140	162	151	153	155,5	129	155	162
Estatura pai		162			187	167	175	171
Estatura mãe	153	162	150			158	169	162
Peso paciente	53,5	37,3	42,5	87	49,5	29,5	58	62,2
Vômitos	S	N	S	N	N	S	S	N
Constipação	N	S	S	S	S	N	N	S
Dificuldade alimentar	S	S	S	S	S	S	N	S
Dificuldade de ganho de peso	S	S	S	S	N	S	N	S
Baixa estatura	S	N	N	S	N	S	S	N
Hipercalcemia	S	S	N	N	S	S	S	N
Hemoglobina	14,2	13,1	12,9	12	12,5	14,3	15,5	16,1
Ureia	20	19	33	21	23		23	29
Creatinina	0,77	0,56	0,74	0,8	0,57		0,62	1,11
t4	14,01	10,13	9,77	10,1	13,14	9	11,1	11
tsh	3,33	5,66	3,5	6,83	3,55	5,88	6,66	4,88
Cálcio	11,47	10,2	9,89	10	10,2	11,2	9,7	10
Fósforo	3,32	4,1	4,3	4,6	4	6,1	4,4	4,3
Magnésio	2,07	2,24	1,59	2,01	1,85	2,31	2,2	2,2
Fosfatase Alcalina	209	167	170	194	187			62
Osteocalcina								23
Vitamina D								15
Paratormônio								15,9
Frutosamina	3,12	3,53	2,92					
Glicemia de Jejum	120	92	102	97	95		87	96
Colesterol total	137	159	179	179	126		103	253
Triglicerídeos	174	72	26	167	64		30	82
HDL	50	42	47	44	49		55	55
LDL				102			42	182
Medicação	S ¹	N	S ²	S ³	N	N	S ⁴	N
Internações	S ⁵	S ⁶	N	S ⁷	S ⁸	S ⁹	S ¹⁰	S ¹¹
Percentual de gordura	37,5	22,2	17,8					31,3
Corpo inteiro DMO	1,236	0,942	0,954					0,962
Corpo inteiro CMO	1974	1177,6	1327					1932
Corpo inteiro - Z-escore	1,1	-0,8	-0,8					-1,7
Coluna total DMO	1,332	1,021	0,862					0,939
Coluna total - Z-escore	0,8	-0,8	-1,7					-1,9
Colo do fêmur - DMO	1,086	0,855	0,985					0,913
Colo do fêmur - Z-escore	-0,1	-1,2	-0,4					-1

¹ - Brometo de proprantelina / ² - Ritalina e Ác Fólico / ³ - Atenolol e captopril / ⁴ - Furoseimida
⁵ - Pneumonia e Hérnia / ⁶ - Hérnia / ⁷ - Bronquite e sepse / ⁸ - Hérnia e cirurgia cardíaca / ⁹ - Bronquite / ¹⁰ - Cirurgia cardíaca e Adenoide / ¹¹ - Fimose

4.2.4 Dados Cardiovasculares

Quadro 4 – Apresentação dos resultados dos dados cardiovasculares dos pacientes.

Dados Cardiovasculares / Paciente (código)	2	7	13	5	10	21	24	3
PA MSE máx	130	100	110	125	115	90	120	120
PA MSE min	80	80	70	80	55	65	70	70
PA MSD máx	115	90	110	135	125	100	115	115
PA MSD min	70	75	75	85	65	60	65	80
Estenose Supravalvar Aórtica	N	N	N	N	S	N	N	N
Outras cardiopatias	N	N	N	N	N	N	S ¹	S ²
Hipertensão	S	N	N	S	S	N	S	N

Cardiopatias: ¹ - Estenose pulmonar / ² - Válvula aórtica bicúspide

4.2.5 Dados Neurocomportamentais

Quadro 5 – Apresentação dos resultados dos dados neurocomportamentais dos pacientes

Dados Neurocomportamentais / Paciente (código)	2	7	13	5	10	21	24	3
Perímetro Cefálico	52	51	52	57	52	51	54	54
Perímetro Cefálico pai		54			56	55	57	56
Perímetro Cefálico mãe	56	55	55			55	57	54
Atraso nos marcos do desenvolvimento	S	S	S	S	S	S	S	S
Retardo Mental	S	S	S	S	S	S	S	S
Hipotonia na infância	S	N	S	S	N	N	S	S
Microcefalia	N	N	S	N	N	N	N	N
Personalidade amigável	S	S	S	N	N	S	S	N
Hiperacusia	S	S	S	S	S	S	S	S
Ansiedade	S	S	S	S	S	S	S	S
Hiperatividade	S	S	N	S	N	N	N	N
Loquacidade	S	S	S	N	S	S	S	S

Fonte: Serao, 2014

5 DISCUSSÃO

Os estudos descritivos clínico-genéticos de correlação genótipo-fenótipo são uma ferramenta fundamental para o entendimento do processo de formação humana, e, conseqüentemente, para o processo de adoecimento. (Vargas, 1994) Além do componente tecnológico necessário para realizar adequadamente a avaliação genética, seja citogenética ou molecular, eles valorizam enormemente a avaliação clínica realizada pelo médico geneticista.

Observando a história da genética clínica, pareceria pouco provável que em um centro médico da América Latina nos anos 70 se descreveria um subtipo da doença de Waardenbourg, a principal causa de surdez genética sindrômica. Apesar de descrita desde 1951, somente em 1971, reavaliando minuciosamente diversas famílias com esta condição o professor venezuelano Sergio Arias sugeriu que haveria dois tipos da síndrome, uma que cursava com telecanto e poderia se associar a fenda labiopalatina, enquanto naquela em que este não ocorria, também não se encontravam fissuras faciais. Somente nos anos 90 se confirmou que, apesar de se tratar de condições da mesma via metabólica, os genes causadores destes tipos da Síndrome de Waardenboug são diferentes. Apesar de não ser um dos principais centros tecnológicos da época, esta descoberta deu-se em solo venezuelano pela persistência e qualidade técnica dos geneticistas clínicos latinoamericanos.

Permanecemos numa situação de inequívoca disparidade tecnológica com os grandes centros produtores de ciência mundiais. Não dispomos em nosso serviço público de técnicas de análise de expressão gênica, do exoma, sequer podemos solicitar a pesquisa de micro-Array em nossa unidade caso haja a suspeita de uma microdeleção cromossômica inespecífica com citogenética convencional normal. Com muito custo conseguimos realizar a técnica de FISH para algumas condições quando há a presença de sonda disponível. Resta-nos tentar explorar o máximo de nossa observação clínica para utilizar da melhor forma o que temos. Neste sentido os estudos clínico-genéticos de correlação genótipo-fenótipo são um instrumento de valorização da avaliação clínica realizada pelos pesquisadores em genética médica, mesmo quando há a dificuldade tecnológica, que estimula o clínico a realizar sua avaliação de maneira ainda mais aprimorada.

Durante a realização deste trabalho, mesmo técnicas relativamente simples, como a pesquisa de densitometria óssea que dispúnhamos no início das avaliações, tiveram de ser suspensas seja por problemas mecânicos ou pela falta de profissional habilitado para realizar o procedimento. Este foi um dos fatores que dificultou a realização da avaliação osteometabólica dos pacientes com S. de Williams. A indisponibilidade de avaliar o

paratormônio e da vitamina D séricos, e a ocasional falta de reagentes para alguma das análises é outro. Além disso, um dos pacientes se recusou a realizar novos exames de sangue.

Felizmente com a disponibilidade de avaliação dos dados moleculares e através dos dados antropométricos e morfológicos podemos estabelecer alguns dos mais relevantes parâmetros associados à Síndrome de Williams.

Uma das vertentes científicas que volta a ser estudada com entusiasmo pela literatura é o padrão dermatoglífico. Por se tratar de modelo individual, característico e geneticamente determinado, com padrões específicos em diversas condições clínicas, pode ser um marcador do processo de neurodesenvolvimento, sendo inclusive utilizado para estudos de *imprinting* e efeitos de origem parental. (Ahmes-Popova, 2014; Divakaran, 2013) Possivelmente um dos fatores que contribuiu para este retorno ao estudo dos dermatóglifos é a atual possibilidade de coletar as amostras por aparelhagem eletrônica, por ultrassonografia ou outros métodos, não havendo mais necessidade de realizar a trabalhosa coleta manual. Um evento limitador para o uso e interpretação dos dermatóglifos na clínica é o fato de não podermos diferenciar se os eventos observados em diversas síndromes é determinado geneticamente pela alteração genética causadora de doença ou se é devido ao mesmo padrão dermatoglífico dos pais. Interpretação que fica ainda mais dificultada devido a estimativa de não-paternidade referida na população geral que se aproxima de 10% (Macintyre, 1991). No presente estudo esse evento foi minimizado pois a técnica de genotipagem de microssatélites confirma a paternidade referida, tornando-se um ótimo modelo para a pesquisa parental de dermatóglifos em pacientes com Síndrome de Williams.

Em estudo com 115 pacientes em 1994, Rodewald demonstrara que o padrão dermatoglífico digital mais característico da Síndrome de Williams é o excesso de verticilos em todos os dedos, sendo estatisticamente significativa a variância encontrada entre os pacientes com a síndrome e o grupo controle. (Rodewald, 1994) Em nosso trabalho identificamos que somente uma paciente não apresentou o padrão dermatoglífico mais característico, com somente 2 verticilos no padrão digital, enquanto todos os outros apresentavam 5 ou mais verticilos digitais, com média de 8 verticilos por paciente neste grupo. Entre os pais dos pacientes com Síndrome de Williams a frequência de verticilos é de cerca de 3,6 verticilos por paciente. Esta paciente apresenta uma deleção atípica para a região da Síndrome de Williams, apresentando bialelismo para o marcador D7S2472, mostrando que essa porção da região crítica para a Síndrome de Williams permanece bialélica, enquanto as demais estão deletadas. Nesta região encontra-se o gene *GTF2IRD1*, que é expresso no período embrionário, principalmente no tecido músculo-esquelético.

Podemos inferir através destes resultados que o gene GTF2IRD1 pode ser um dos genes que interfiram no processo de formação da musculatura subjacente às cristas dérmicas, pois se expressam no período em que estas são formadas e a movimentação intrauterina parece interferir na determinação do modelo dermatoglífico digital final. Devido à limitação amostral deste estudo, a investigação do padrão dermatoglífico de mais pacientes, principalmente daqueles que também tenham deleções atípicas com bialelismo para o gene GTF2IRD1 pode nos ajudar a quantificar o impacto que essa alteração pode causar na expressão dermatoglífica. Este gene isoladamente não deve ser a causa das expressões fenotípicas da Síndrome de Williams, uma vez que mesmo estando íntegro na paciente, ela também apresenta o estreitamento bitemporal, o coxim periorbitário aumentado, além dos lábios espessos, configurando o fácies típico associado a esta síndrome. Este gene também interage com a proteína Rb1 e está alterada em algumas mutações somáticas de neoplasias de estômago. (Yan, 2000)

Outro gene que também está íntegro nessa paciente com deleção atípica é o gene GTF2I, cuja expressão fenotípica *in vitro* é mais evidente quando proveniente de deleção paterna e se relacionaria à alteração comportamental e personalidade amistosa dos pacientes com S. de Williams. Como a deleção desta paciente é materna, pode-se explicar a não variabilidade da mesma em relação aos demais pacientes com Síndrome de Williams. Ferrero (2010) identificara um paciente com deleção atípica da região da Síndrome de Williams com cerca de 1 Mb de ADN, que não apresentava as dismorfias faciais de forma tão característica nem atraso no desenvolvimento significativo e atribuiu este achado a hemizigose de GTF2IRD1 e GTF2I. A revisão deste caso por Delgado (2013) mostrou que o gene GTF2I estava íntegro nos dois alelos e o GTF2IRD1 parcialmente deletado em apenas um.

Apesar de nossa limitação amostral, quanto ao restante de nossa avaliação morfológica, não parece ter havido influência de origem parental quanto às demais características, seja peso de nascimento, proporções entre distâncias interoculares ou estatura final.

Na avaliação de dados endocrinometabólicos houve uma dificuldade técnica com a suspensão das densitometrias ósseas e sem a avaliação de vitamina D e paratormônio, a comparação entre o metabolismo do Cálcio se tornou impossível, podemos apenas sugerir que a hipercalcemia deva ocorrer de maneira semelhante independentemente de origem parental. Da mesma maneira o hipotireoidismo subclínico e a hiperglicemia não podem ser comparadas.

A avaliação da presença de hipertensão arterial, cardiopatia e de variação de pressão arterial entre os dois membros também é limitada devido a insuficiência amostral.

Na literatura se sugere que a presença de microcefalia associada a Síndrome de Williams seria mais frequente quando esta se desse por deleção materna, o que não pôde ser ratificado por este estudo. Apesar de haver diversos estudos na literatura que identificam a presença de déficit de atenção e hiperatividade e sua resposta a terapêutica (Martens, 2013; Green, 2012), em nosso pequeno grupo parece haver uma predileção para a ocorrência de hiperatividade nos pacientes cuja herança da deleção foi paterna. Novamente, mais estudos comparativos entre pacientes com Síndrome de Williams com deleção de origem paterna e materna podem corroborar o efeito de origem parental para estas condições específicas.

Este trabalho, apesar de sua limitação amostral, serve como sonda para identificar o estudo de quais destas características podem ser mais aprofundadas, sendo de grande interesse a investigação da alteração dermatoglífica, no qual se identificou uma variação rara dermatoglífica, justamente em uma paciente com uma deleção atípica dentro da região mais comumente deletada em todos os pacientes com Síndrome de Williams, que preserva um gene expresso no tecido osteomuscular no período embrionário, dando robustez para a hipótese que a haploinsuficiência deste gene pode interferir no processo morfológico da formação muscular.

CONCLUSÃO

Apesar da limitação em nossa amostra, identificamos diferenças de caráter morfológico diretamente relacionada ao tamanho da deleção, principalmente no referente a avaliação dermatoglífica característica de pacientes com a síndrome. A etiologia desta variação pode ser devida ao bialelismo do gene *GTF2IRD1*, de expressão embrionária no tecido osteoarticular, diferentemente do que ocorre na maior parte dos pacientes com Síndrome de Williams.

A origem parental da deleção causal de Síndrome de Williams pode interferir em alguns processos neurocomportamentais, como na presença de microcefalia e hiperatividade. Apesar de terem ocorrido mais eventos de cardiopatia estrutural em nossa limitada amostra, por se tratar de tema amplamente abordado na literatura consideramos como secundário a evento estocástico.

O estudo comparativo entre algumas características de pacientes com Síndrome de Williams citadas neste trabalho com uma maior casuística pode ajudar a determinar o papel específico de alguns genes e do processo de *imprinting* na formação humana.

REFERÊNCIAS

- Ahmed-popova FM, Mantarkov MJ, Sivkov ST, Akabaliev VH. Dermatoglyphics – a possible biomarker in the neurodevelopmental model for the origin of mental disorders. *Folia med (Plovdiv)*.56(1):5–10, 2014
- Arias, S. Genetic heterogeneity in the Waardenburg syndrome. *Birth Defects Orig. Art. Ser.* VII(4): 87-101, 1971.
- Aten E, White SJ, Kalf ME, Vossen RH, Thygesen HH, Ruivenkamp CA, Kriek M, Breuning MH, Den Dunnen JT. Methods to detect CNVs in the human genome. *Cytogenet Genome Res.* 123(1-4):313-21, 2008
- Bayes M, Magano LF, Rivera N, Flores R, Perez Jurado LA. Mutational mechanisms of Williams-Beuren syndrome deletions. *Am J Hum Genet.* 73:131–51, 2003
- Belaud-rotureau, M.A., Elghezal, H., Bernardin, C., Sanlaville, D., Radford-Weiss, I., Raoul, O., Vekemans, M., Romana, S.P. Spectral karyotyping (SKY) principle, advantages and limitations. *Ann Biol Clin* 61(2):139-4, 2003
- Beuren A.J., Apitz J., Harmjanz D. Supravalvular aortic stenosis in association with mental retardation and a certain facial appearance. *Circulation.* 27:1235–1240, 1962.
- Brdicka T, Imrich M, Angelisova P, Brdickova N, Horvath O, Spicka J, Hilgert I, Luskova P, Draber P, Novak P, Engels N, Wienands J, Simeoni L, Osterreicher J, Aguado E, Malissen M, Schraven B, Horejsi V. Non-T cell activation linker (NTAL): a transmembrane adaptor protein involved in immunoreceptor signaling. *J Exp Med.*196:1617–26, 2002
- Cairo S, Merla G, Urbinati F, Ballabio A, Reymond A. WBSCR14, a gene mapping to the Williams-Beuren syndrome deleted region, is a new member of the Mlx transcription factor network. *Hum Mol Genet.*10:617–27, 2001
- Cherniske EM, Carpenter TO, Klaiman C, Young E, Bregman J, Insogna K, Schultz RT, Pober BR. Multisystem study of 20 older adults with Williams syndrome. *Am J Med Genet A.* 131:255–64, 2004
- Collette JC, Chen XN, Mills DL, Galaburda AM, Reiss AL, Bellugi U, Korenberg JR. William's syndrome: gene expression is related to parental origin and regional coordinate control. *J Hum Genet.* 54(4):193-8, 2009
- Collins RT 2ND, Kaplan P, Somes GW, Rome JJ. Long-term outcomes of patients with cardiovascular abnormalities and Williams syndrome. *Am J Cardiol.* 105:874–8, 2010
- Couturier, J., Dutrillaux, B. Conservation of replication chronology of homologous chromosome bands between four species of the genus *Cebus* and man. *Cytogenet Cell Genet.* 29(4): 233-40, 1981

- Crackower MA, Kolas NK, Noguchi J, Sarao R, Kikuchi K, Kaneko H, Kobayashi E, Kawai Y, Koziaradzki I, Landers R, Mo R, Hui CC, Nieves E, Cohen PE, Osborne LR, Wada T, Kunieda T, Moens PB, Penninger JM. Essential role of Fkbp6 in male fertility and homologous chromosome pairing in meiosis. *Science*. 300(5623):1291-5, 2003
- Dai L, Bellugi U, Chen XN, Pulst-Korenberg AM, Järvinen-Pasley A, Tirosh-Wagner T, Eis PS, Graham J, Mills D, Searcy Y, Korenberg JR. Is it Williams syndrome? GTF2IRD1 implicated in visuospatial construction and GTF2I in sociability revealed by high resolution arrays. *Am J Med Genet A*. 149A(3):302-14, 2009
- Deal JE, Snell MF, Barratt TM, Dillon MJ. Renovascular disease in childhood. *J Pediatr*. 121:378-84, 1992
- Debacker, K., Kooy, R.F. Fragile Sites and Human Disease. *Hum Mol Genet*. 2:R150-8, 2007
- Del campo M, Antonell A, Magano LF, Munoz FJ, Flores R, Bayes M, Perez Jurado LA. Hemizygoty at the NCF1 gene in patients with Williams-Beuren syndrome decreases their risk of hypertension. *Am J Hum Genet*. 78:533-42, 2006
- Delgado LM, Gutierrez M, Augello B, Fusco C, Micale L, Merla G, Pastene EA. A 1.3-mb 7q11.23 atypical deletion identified in a cohort of patients with Williams-beuren syndrome. *Mol Syndromol*. 4(3): 143-7, 2013.
- Divakaran A, Narayanaswamy JC, Kalmadi SV, Narayan V, Rao NP, Venkatasubramanian G. Parent-of-origin Effect in Schizophrenia and Non-affective Psychoses: Evidences from Dermatoglyphics. *Indian J Psychol Med*. 35(3):260-7, 2013
- Dixit A, Mckee S, Mansour S, Mehta S, Tantele S G, Anastasiadou V, Patsalis P, Martin K, McCullough S, Suri M, Sarkar A. 7q11.23 Microduplication: a recognizable phenotype. *Clin Genet*. 83:155-61, 2013
- Duarte, A.; Domenici, L. Citogenomica Aplicada à Prática Médica. Rio de Janeiro, Editora Atheneu. 2013. 126p.
- Dutra, R.L., Pieri, P. DE C., Teixeira, A.C., Honjo, R.S., Bertola, D.R., Kim, C.A. Detection of deletions at 7q11.23 in Williams-Beuren syndrome by polymorphic markers. *Clinics (Sao Paulo)*. 66(6):959-64, 2011
- Ewart A.K., Morris C.A., Ensing G.J., Loker J., Moore C., Leppert M., Keating M. A human vascular disorder, supravalvular aortic stenosis, maps to chromosome 7. *Proc Nat Acad Sci*. 90: 3226-3230, 1993.
- Fanconi, G. Chronic disorders of calcium and phosphate metabolism in children. *Schwiz Med Wochenschr*. 81(38): 908-913, 1951
- Ferrero GB; Howald C, Micale L, Biamino E, Augello B, Fusco C, Turturo MG, Forzano S, Raymond A, Merla G. An atypical 7q11.23 deletion in a normal IQ Williams-Beuren syndrome patient. *Eur J Hum Genet*. 18(1): 33-8, 2010.

Frangiskakis JM, Ewart AK, Morris CA, Mervis CB, Bertrand J, Robinson BF, Klein BP, Ensing GJ, Everett LA, Green ED, Proschel C, Gutowski NJ, Noble M, Atkinson DL, Odelberg SJ, Keating MT. LIM-kinase1 hemizyosity implicated in impaired visuospatial constructive cognition. *Cell*. 86:59–69. 1996

Funakoshi T, Maeshima K, Yahata K, Sugano S, Imamoto F, Imamoto N. Two distinct human POM121 genes: requirement for the formation of nuclear pore complexes. *FEBS Lett*. 581(25):4910-6, 2007

Garcia R.E., Friedman W.F., Kaback M.M., Rowe R.D. Idiopathic hypercalcemia and supraaortic stenosis. *N Engl J Med*. 271:117–120, 1964.

Pagon, RA. Genereviews. University of Washington (Seattle, EUA) Disponível em: 29/05/2014, World Wide Web URL: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/Books/NBK1116/>

Giannotti A, Tiberio G, Castro M, Virgili F, Colistro F, Ferretti F, Digilio MC, Gambarara M, Dallapiccola B. Coeliac disease in Williams syndrome. *J Med Genet*. 38:767–8, 2001

Gilbert-Dussardier, B., Bonneau, D., Gigarel, N., LE Merrer, M., Bonnet, D., Philip, N., Serville, F., Verloes, A., Rossi, A., Aymé, S., et al. A novel microsatellite DNA marker at locus D7S1870 detects hemizyosity in 75% of patients with Williams syndrome. *Am J Hum Genet*. 56(2):542-4, 1995

Green T, Avda S, Dotan I, Zarchi O, Basel-Vanagaite L, Zalsman G, Weizman A, Gothelf D. Phenotypic psychiatric characterization of children with Williams syndrome and response of those with ADHD to methylphenidate treatment. *Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet*. 159B(1): 13-20, 2012.

Hakimi MA, Dong Y, Lane WS, Speicher DW, Shiekhattar R. A candidate X-linked mental retardation gene is a component of a new family of histone deacetylase-containing complexes. *J Biol Chem*. 278(9):7234-9, 2003

Hennekam, R. C. M.; Krantz, I. D.; Allanson, J. E. Gorlin's Syndromes of the head and neck. 5 edição, editora Oxford, Nova York, EUA. 1459p. 2010

Heyworth PG, Noack D, Cross AR. Identification of a novel NCF-1 (p47-phox) pseudogene not containing the signature GT deletion: significance for A47 degrees chronic granulomatous disease carrier detection. *Blood*. 100(5):1845-51, 2002

Hillier LW, Fulton RS, Fulton LA, Graves TA, Pepin KH, Wagner-McPherson C, Layman D, Maas J, Jaeger S, Walker R, Wylie K, Sekhon M, et al. The DNA sequence of human chromosome 7. *Nature* 424(6945):157-64, 2003

Hoogenraad CC, Eussen BH, Langeveld A, Van Haperen R, Winterberg S, Wouters CH, Grosveld F, DE Zeeuw CI, Galjart N. The murine CYLN2 gene: genomic organization, chromosome localization, and comparison to the human gene that is located within the 7q11.23 Williams syndrome critical region. *Genomics*. 53:348–58, 1998

ISCN (2013). Shaffer, L.G.; McGowan-Jordan, J. Schmid, M. An International System for Human Cytogenetic Nomenclature (2013). Basel, Suíça, Editora S. Karger. 2013. 138p.

Jablonski, S. Syndrome: Le Mot de Jour. *Am J Med Genet.* 39: 342–346, 1991.

Jeffreys, A.J.; Wilson, V.; Thein S.L. Hypervariable ‘minisatellite’ regions in human DNA. *Nature.* 314: 67–73, 1985.

Jones, K. L. H. Smith’s Recognizable patterns of human malformation. 6ª edição, Filadélfia, Pensilvânia: Elsevier Saunders, 2004. 954p.

Klein, D. Albinisme partiel (leucisme) avec surdi-mutite, blepharophimosis et dysplasie myo-osteo-articulaire. *Helv. Paediat. Acta* 5: 38-58, 1950.

Lam PP, Leung YM, Sheu L, Ellis J, Tsushima RG, Osborne LR, Gaisano HY. Transgenic mouse overexpressing syntaxin-1A as a diabetes model. *Diabetes.* 54:2744–54, 2005

Li DY, Brooke B, Davis EC, Mecham RP, Sorensen LK, Boak BB, Eichwald E, Keating MT. Elastin is an essential determinant of arterial morphogenesis. *Nature.* 393:276–280, 1998

MaCintyre S, Sooman A. Non-paternity and prenatal genetic screening. *Lancet.* 338(8771):869–871, 1991

Marra MA et al.; Mammalian Gene Collection Program Team. Generation and initial analysis of more than 15,000 full-length human and mouse cDNA sequences. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 99(26):16899-903, 2002

Marshall CR, Young EJ, Pani AM, Freckmann ML, Lacassie Y, HOWALD C, Fitzgerald KK, Peippo M, Morris CA, Shane K, Priolo M, Morimoto M, Kondo I, Manguoglu E, Berker-Karauzum S, Edery P, Hobart HH, Mervis CB, Zuffardi O, Reymond A, Kaplan P, Tassabehji M, Gregg RG, Scherer SW, Osborne LR. Infantile spasms is associated with deletion of the MAGI2 gene on chromosome 7q11.23-q21.11. *Am J Hum Genet.* 83:106–11, 2008

Martens M.A., Reutens, D.C., Wilson, S.J. Auditory cortical volumes and musical ability in Williams Syndrome. *Neuropsychologia.* 48(9):2602-9, 2010.

Martens MA, Seyfer DI, Andridge RR, Foster JE, McClure KE, Coury DL. Caregiver survey of pharmacotherapy to treat attention deficit/hyperactivity disorder in individuals with Williams Syndrome. *Rev DevDisabil.* 34(5): 1700-9, 2013.

Martin ND, Smith WR, Cole TJ, Preece MA. New height, weight and head circumference charts for British children with Williams syndrome. *Arch Dis Child.*92:598–601, 2007

Meng X, Lu X, Li Z, Green ED, Massa H, Trask BJ, Morris CA, Keating MT. Complete physical map of the common deletion region in Williams syndrome and identification and characterization of three novel genes. *Hum Genet.*103:590–9, 1998

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

- Meng X., Lu X., Li Z., Green E.D., Massa H., Trask B.J., Morris C.A., Keating M.T. Complete physical map of the common deletion region in Williams syndrome and identification and characterization of three novel genes. *Hum Genet.* Nov;103(5):590-9, 1998.
- Mervis CB, Kistler DJ, John AE, Morris CA. Longitudinal assessment of intellectual abilities of children with Williams syndrome: multilevel modeling of performance on the Kaufman Brief Intelligence Test-Second Edition. *Am J Intellect Dev Disabil.* 117:134-55, 2012
- Meyer-Lindenberg A, Mervis CB, Berman KF. Neural mechanisms in Williams syndrome: a unique window to genetic influences on cognition and behaviour. *Nat Rev Neurosci.* 7(5):380-93, 2006
- Micale L, Fusco C, Augello B, Napolitano LM, Dermitzakis ET, Meroni G, Merla G, Reymond A. Williams-Beuren syndrome TRIM50 encodes an E3 ubiquitin ligase. *Eur J Hum Genet.* 16(9):1038-49, 2008
- Mizuno K, Okano I, Ohashi K, Nunoue K, Kuma K, Miyata T, Nakamura T. Identification of a human cDNA encoding a novel protein kinase with two repeats of the LIM/double zinc finger motif. *Oncogene.* 9(6):1605-12, 1994
- Moore SJ, Green JS, Fan Y, Bhogal AK, Dicks E, Fernandez Ba, Stefanelli M, Murphy C, Cramer BC, Dean Jc, Beales Pl, Katsanis N, Bassett As, Davidson Ws, Parfrey Ps. Clinical and genetic epidemiology of Bardet-Biedl syndrome in Newfoundland: a 22-year prospective, population-based, cohort study. *Am J Med Genet A.* 132: 352–60, 2005
- Morris C.A., Demsey S.A., Leonard C.O., Dilts C., Blackburn B.L. Natural history of Williams syndrome: Physical characteristics. *J Pediatr.*113:318–326, 1988.
- Morris CA, Mervis CB, Hobart HH, Gregg RG, Bertrand J, Ensing GJ, Sommer A, Moore CA, Hopkin RJ, Spallone PA, Keating MT, Osborne L, Kimberley KW, Stock AD. GTF2I hemizyosity implicated in mental retardation in Williams syndrome: genotype-phenotype analysis of five families with deletions in the Williams syndrome region. *Am J Med Genet.* 123A:45–59, 2003
- Morris CA, Mervis CB, Osborne LR. Frequency of the 7q11.23 inversion polymorphism in transmitting parents of children with Williams syndrome and in the general population does not differ between North America and Europe. *Mol Cytogenet* 4:7, 2011
- Morris CA. The behavioral phenotype of Williams syndrome: A recognizable pattern of neurodevelopment. *Am J Med Genet.*154C:427–31, 2010
- Nesi, F. F. Identificação de deleções em 7q11.23 em pacientes com suspeita clínica da Síndrome de Williams. Dissertação de mestrado para pós-graduação em ciências biológicas (Genética) na Universidade Federal do Rio de Janeiro (UFRJ) em 28/02/2011.
- Nussbaum, RL.; Mcinnes, RR.; Willard, HF.; Hamosh, A. Thompson & Thompson Genetics in Medicine. 7ª edição, Filadélfia, Pensilvânia: Elsevier Saunders, 2007. 585p.

OMIM[®], Online Mendelian Inheritance in Man. McKusick-Nathans Institute of Genetic Medicine, Johns Hopkins University (Baltimore, EUA) Disponível em: 29/05/2014, World Wide Web URL: <http://omim.org/>

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

Osborne LR, Li M, Pober B, Chitayat D, Bodurtha J, Mandel A, Costa T, Grebe T, Cox S, Tsui LC, Scherer Sw. A 1.5 million-base pair inversion polymorphism in families with Williams-Beuren syndrome. *Nat Genet*. 29(3):321-5, 2001

Osborne, L.R. Williams-Beuren syndrome: unraveling the mysteries os a microdeletion disorder. *Mol Genet Metab*. 67(1):1-10, 1999.

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

Peoples R, Perez-Jurado L, Wang Yk, Kaplan P, Francke U. The gene for replication factor C subunit 2 (RFC2) is within the 7q11.23 Williams syndrome deletion. *Am J Hum Genet*. 58:1370–3, 1996

Pober BR, Morris CA. Diagnosis and management of medical problems in adults with Williams-Beuren syndrome. *Am J Med Genet C Semin Med Genet*. 145C:280–90, 2007

Pröschel C, Blouin MJ, Gutowski NJ, Ludwig R, Noble M. Limk1 is predominantly expressed in neural tissues and phosphorylates serine, threonine and tyrosine residues in vitro. *Oncogene*. 11(7):1271-81. 1995

Richter-Cook NJ, Dever TE, Hensold JO, Merrick WC. Purification and characterization of a new eukaryotic protein translation factor. Eukaryotic initiation factor 4H. *J Biol Chem*. 273:7579–87 1998

Rodewald A, Pankau R, Gosch A, Wessel A. Dermatoglyphic peculiarities in patients with Williams-Beuren syndrome. *Am J Med Genet*. 53(3):227–35, 1994

Rosenbloom J. Elastin: relation of protein and gene structure to disease. *Lab Invest*. 51(6):605-23, 1984

Sadler LS, Pober BR, Grandinetti A, Scheiber D, Fekete G, Sharma AN, Urban Z. Differences by sex in cardiovascular disease in Williams syndrome. *J Pediatr*. 139:849–53. 2001

Sammour ZM, Gomes CM, Duarte RJ, Trigo-Rocha FE, Srougi M. Voiding dysfunction and the Williams-Beuren syndrome: a clinical and urodynamic investigation. *J Urol*. 175:1472–6, 2006

Schachat A.P., Maumenee I.H. Bardet-Biedl syndrome and related disorders. *Arch Ophthalmol*. 100:285–8, 1982.

- Schaeffer, A.J., Chung, J., Heretis, K., Wong, A., Ledbetter, D.H., Lese Martin, C. Comparative genomic hybridization-array analysis enhances the detection of aneuploidies and submicroscopic imbalances in spontaneous miscarriages. *Am J Hum Genet.* 74(6): 1168-74, 2004
- Schmickel, R.D. Contiguous gene syndromes: a component of recognizable syndromes. *J. Pediatr.* 109: 231-241, 1986.
- Sharp, A. J., Hansen, S., Selzer, R. R., Cheng, Z., Regan, R., Hurst, J. A., Eichler, E. E. Discovery of previously unidentified genomic disorders from the duplication architecture of the human genome. *Nature Genet.* 38(9), 1038-1042, 2006.
- Sissman, N.J., Neill, C. A., Spencer, F. C., Taussig, H. B. Congenital aortic stenosis. *Circulation.* 19(3): 458-468, 1959
- Stevenson, R. E., Hall, J. G. Human malformation and related anomalies. 2ª edição, Nova York, Nova York: Oxford University Press, 2006. 954p.
- Strausberg RI, Feingold EA, Grouse LH, Derge JG, Klausner RD, Collins FS, Wagner L, Shenmen CM, Schuler GD, Altschul SF, Zeeberg B, Buetow KH, Schaefer CF, Bhat NK, Hopkins RF, Jordan H, Moore T, Max SI, Wang J, Hsieh F, Diatchenko L, Marusina K, Farmer AA, Rubin Strømme, P., Bjørnstad, P.G., Ramstad, K. Prevalence estimation of Williams syndrome. *J Child Neurol.* 17(4): 269-71, 2002.
- Tassabehji M, Hammond P, Karmiloff-Smith A, Thompson P, Thorgeirsson SS, Durkin ME, Popescu Nc, Hutton T, Metcalfe K, Rucka A, Stewart H, Read Ap, Maconochie M, Donnai D. GTF2IRD1 in craniofacial development of humans and mice. *Science.* 310:1184–7, 2005
- Tassabehji M, Metcalfe K, Fergusson WD, Carette MJ, Dore JK, Donnai D, Read AP, Pröschel C, Gutowski NJ, Mao X, Sheer D. LIM-kinase deleted in Williams syndrome. *Nature Genet.* 13(3):272-3, 1996
- Tassabehji, M.; Newton, V. E. ; Read, A. P. Waardenbur Syndrome Type 2 caused by mutations in the human microphthalmia (MITF) gene. *Nature Genet.* 8: 251-255, 1994.
- Tassabehji, M.; Read, A. P.; Newton, V. E.; Harris, R.; Balling, R.; Gruss, P.; Strachan, T. Waardenburg's syndrome patients have mutations in the human homologue of the Pax-3 paired box gene. *Nature* 355: 635-636, 1992.
- Tipney Hj, Hinsley TA, Brass A, Metcalfe K, Donnai D, Tassabehji M. Isolation and characterisation of GTF2IRD2, a novel fusion gene and member of the TFII-I family of transcription factors, deleted in Williams-Beuren syndrome. *Eur J Hum Genet.* 12:551–60, 2004
- Tommerup, N. Mendelian cytogenetics. Chromosome rearrangements associated with mendelian disorders. *J Med Genet.* 30(9): 713-727, 1993.
- Torniero C, Dalla Bernardina B, Novara F, Cerini R, Bonaglia C, Pramparo T, Ciccone R, Guerrini R, Zuffardi O. Dysmorphic features, simplified gyral pattern and 7q11.23 duplication reciprocal to the Williams-Beuren deletion. *Eur J Hum Genet.* 16(8):880-7, 2008

- Udwin, O. A survey of adults with Williams syndrome and idiopathic infantile hypercalcaemia. *Dev Med Child Neurol.* 32(2): 129-41, 1990.
- Urban Z, Gao J, Pope FM, Davis EC. Autosomal dominant cutis laxa with severe lung disease: synthesis and matrix deposition of mutant tropoelastin. *J Invest Dermatol.* 124(6):1193-9, 2005
- Van Borsel J, Curfs LM, Fryns JP. Hyperacusis in Williams syndrome: a sample survey study. *Genet Couns.* 8:121-6, 1997
- Vargas, F. R. Estudo clínico-nosológico dos defeitos de redução do Eixo Radial e/ou Polegar trifalângico. Dissertação de mestrado para pós-graduação em Genética na Universidade Federal do Rio de Janeiro (UFRJ) em 19/04/1994.
- Verstrepen, K.J., Jansen, A., Lewitter, F., Fink, G.R. Intragenic tandem repeats generate functional variability. *Nat Genet.* 37: 986-990, 2005
- Viguera, E., Canceill, D., Ehrlich, S.D. Replication slippage involves DNA polymerase pausing and dissociation. *EMBO J.* 20: 2587-2595, 2001.
- Vissers, L.E., Veltman, J.A., Van Kessel, A.G., Brunner, H.G. Identification of disease genes by whole genome CGH arrays. *Hum Mol Genet.* 14:R215-R223, 2005
- Wang YK, Samos CH, Peoples R, Perez-Jurado LA, Nusse R, Francke U. A novel human homologue of the Drosophila frizzled wnt receptor gene binds wingless protein and is in the Williams syndrome deletion at 7q11.23. *Hum Mol Genet.* 6:465-72, 1997
- Weise, A., Mrasek, K., Klein, E., Mulatinho, M., Llerena, JR., J. C., Hardekopf, D., Pekova, S., Bhatt, S., Kosyakova, N., Liehr, T. Microdeletions e microduplications. *J Histochem Cytochem.* 60(5): 346-358, 2012
- Williams J.C.P., Barratt-Boyes B.G., Lowe J.B. Supravalvular aortic stenosis. *Circulation.* 24: 1311-1318, 1961.
- Wu YQ, Sutton VR, Nickerson E, Lupski JR, Potocki L, Korenberg JR, Greenberg F, Tassabehji M, Shaffer LG. Delineation of the common critical region in Williams syndrome and clinical correlation of growth, heart defects, ethnicity, and parental origin. *Am J Med Genet.* 78:82-9, 1998
- Yan X, Zhao X, Quian M, Guo N, Gong X, Zhu X. Characterization and gene structure of a novel retinoblastoma-protein-associated protein similar to the transcription regulator TFII-I. *Biochem J.* 345(3): 749-57, 2000
- Yoshida, M.C. Recent advances in fluorescence in situ hybridization. *J Radiat Res.* 33: S54-S60, 1992
- Zhao C, Avilés C, Abel RA, Almlí CR, Mcquillen P, Pleasure SJ. Hippocampal and visuospatial learning defects in mice with a deletion of frizzled 9, a gene in the Williams syndrome deletion interval. *Development.* 132(12):2917-27, 2005

Zlotogora, J., Lerer, I., Bar-David, S., Ergaz, Z., Abeliovich, D. Homozygosity for Waardenburg syndrome. *Am J Hum Genet.* 56: 1173-1178, 1995.

ANEXO A - Termo de Consentimento Livre e Esclarecido



Termo de Consentimento Livre e Esclarecido

Projeto:

Estudo Clínico-Genético e correlação Genótipo-Fenótipo em pacientes com Síndrome de Williams

Instituições:

Hospital Universitário Pedro Ernesto, UERJ, RJ

Instituto Fernandes Figueira, FIOCRUZ, RJ

Pesquisadores:

Dr. Cassio Luiz de Carvalho Serao, MD

Dra. Claudia Braga Monteiro, MD, PhD

Dr. Juan Clinton Llerena Júnior, MD, PhD

Contato:

cassioserao@iff.fiocruz.br

(21) 2554-1709 – Departamento de Genética Médica do Instituto Fernandes Figueira

(21) 2334-2071 – Núcleo de Estudos da Saúde do Adolescente (NESA) – Hospital Universitário Pedro Ernesto, Av. 28 de setembro, 109 – fundos. Vila Isabel, Rio de Janeiro – CEP 20551-030

NOME DO PACIENTE: _____

DATA DE NASCIMENTO: _____ PRONTUÁRIO: _____

CÓDIGO DA PESQUISA: _____

O Hospital Universitário Pedro Ernesto (UERJ) e o Departamento de Genética Médica do Instituto Fernandes Figueira (IFF/FIOCRUZ) convidam os pacientes com o diagnóstico de Síndrome de Williams para participar deste projeto de pesquisa. O presente projeto disponibiliza novas metodologias de diagnóstico genético para a Síndrome de Williams, com o intuito de estabelecer um diagnóstico de causa (etiologia) e ampliar os conhecimentos clínicos decorrentes da alteração genética.

Este estudo beneficiará as famílias através dos diagnósticos encontrados, do acompanhamento clínico decorrente deste e também através do aconselhamento genético e planejamento familiar que será feito a partir desta análise.

Os indivíduos selecionados para este estudo foram encaminhados para atendimento médico por geneticista do Departamento de Genética Médica, sendo realizada revisão clínica e morfológica, com avaliação dos métodos diagnósticos disponíveis para a Síndrome de Williams, além de investigação clínica pelos métodos disponibilizados para esta pesquisa.

Com o objetivo de identificar a alteração genética responsável pela Síndrome de Williams deverão ser empregados os métodos diagnósticos que avaliam perda de material cromossômico (as técnicas

de FISH e de genotipagem de microssatélites). Para estas é necessária a coleta de 3 – 5 ml de sangue dos pacientes e de familiares que se disponham a participar da pesquisa. Este procedimento será realizado por profissional treinado para este fim, no ambulatório do IFF/FIOCRUZ, com material descartável e acompanhado pelo pesquisador responsável. Poderá haver coleta de sangue adicional para avaliação hormonal, bioquímica e em caso de necessidade de repetir o exame genético.

Consideramos que o risco envolvido em uma coleta de sangue nestas circunstâncias é considerado baixo, pois resume-se a uma picada de agulha, com possível dor local, e um eventual hematoma localizado no local da coleta, oferecendo um desconforto mínimo durante o procedimento.

Pode ser solicitado para acompanhamento do metabolismo do cálcio e para avaliar o estado nutricional um exame de densitometria óssea, o modo de avaliação usual para estudar o grau de calcificação dos ossos e um dos modos mais precisos de se estudar percentual de gordura. Considera-se o grau de exposição a radiação neste exame mínimo, muito menor que a exposição por um exame de raio-X simples, assim como os possíveis danos por ele causados.

Está garantida pelas instituições envolvidas assistência integral ao paciente ingresso no projeto.

O exame do material biológico será realizado nos laboratórios de citogenética do Instituto Fernandes Figueira ou no laboratório do Hospital Estadual Pedro Ernesto, sendo a quantidade de sangue referida anteriormente suficiente para as análises envolvidas.

A única finalidade deste exame será a investigação clínica e o diagnóstico da Síndrome de Williams, não sendo autorizada qualquer outra investigação genética ou de DNA com qualquer outra finalidade e o material será estocado para a pesquisa por um prazo de cinco anos sob domínio do laboratório de Genética Médica do IFF/FIOCRUZ.

O sigilo e a confidencialidade das informações coletadas serão preservados, assim como suas identidades não serão reveladas, sendo que cada amostra de material biológico fará parte de um banco de dados identificados por código específico. Todos resultados da pesquisa serão entregues a cada família e serão utilizados com fins científicos podendo ser publicados em revista científica, estando os registros disponíveis para uso da pesquisa.

O responsável pelo paciente terá todo e qualquer esclarecimento sobre este estudo durante e após a duração da pesquisa através de contato com o pesquisador responsável, dr. Cassio Luiz de Carvalho Serao.

A participação neste estudo é voluntária e o responsável poderá recusar-se a participar ou se afastar dele a qualquer momento, não havendo prejuízo algum no acompanhamento médico na instituição responsável, seja atendimento clínico, acesso a tratamentos disponíveis, ou acesso a qualquer tipo de atividade assistencial e/ou de pesquisa posteriores que aconteçam na instituição.

Não há qualquer tipo de ônus ou despesas pessoais requeridas de nenhum participante dessa pesquisa, em qualquer fase desse estudo, incluindo exames e consultas. Não será oferecida qualquer forma de contribuição financeira ou de artigos de valor relacionados à participação dos pacientes nesse estudo.

Os pacientes selecionados para o estudo poderão ser fotografados com a finalidade de documentação científica e as imagens ficarão sob a responsabilidade do pesquisador responsável por este projeto, dr. Cassio Luiz de Carvalho Serao. Entretanto, o paciente ou seu responsável tem o direito de não ser fotografado se assim o desejar, sem que haja prejuízo em seu tratamento nessa instituição, como ressaltado em parágrafo anterior.

() Autorizo imagem () não autorizo imagem

Cabe ao médico geneticista responsável pela pesquisa o acompanhamento dos indivíduos durante todo o estudo, assim como o aconselhamento genético na sua conclusão.

Esta pesquisa terá uma duração de dois anos, podendo ser prorrogado. Caso necessário, serão seguidas as formalidades indispensáveis à sua prorrogação.

Todas as condutas adotadas neste estudo seguirão as normas de bioética segundo a resolução 196/96 do Conselho Nacional de Saúde.

O Comitê de Ética em Pesquisa do Hospital Universitário Pedro Ernesto encontra-se no andar térreo do Hospital Pedro Ernesto, situado a rua 28 de setembro, 77, Vila Isabel, Rio de Janeiro, e-mail: **cep-hupe@uerj.br**, podendo ser contatado também pelo telefone: **(21) 2868-8253** e o Comitê de Ética em Pesquisa com Seres Humanos do IFF (CEP/IFF) encontra-se na avenida Rui Barbosa, 716, Flamengo, Rio de Janeiro, RJ, e-mail: **cepiff@iff.fiocruz.br**, podendo ser contatado também pelo telefone: **(21) 2554-1730**.

Este termo de consentimento, após lido, será explicado verbalmente pelo pesquisador responsável por este projeto, aos indivíduos e seus responsáveis. Após todos esclarecimentos o mesmo será **assinado em duas vias**, ficando uma com o pesquisador responsável e outra com o responsável legal pelo indivíduo convidado a participar deste projeto.

Rio de Janeiro, _____ de _____ de _____

Nome do responsável pelo paciente: _____

Assinatura do responsável: _____

Assinatura do Pesquisador responsável: _____

ANEXO B – Ficha de dados clínicos



Código _____

Ficha Clínica para pesquisa sobre Síndrome de Williams – UERJ / IFF

Nome: _____ DN: ____/____/____

Endereço: _____

Telefone: _____ e-mail: _____

DN Pai: ____/____/____

DN Mãe: ____/____/____

Estatura Pai: _____ cm _____ p

Estatura Mãe: _____ cm _____ p

Encaminhado por: _____ Idade na suspeita diagnóstica: ____ a

Resultado FISH - _____ Idade atual ____ a

Resultado Microssatélites: D7S2429, D7S2512, D7S672, D7S2476, D7S3015 e D7S2472
Norm, DelM, DelP, NI, NR (____) (____) (____) (____) (____) (____)

Peso ao nascimento: _____ g Parto: _____ Idade Gest: _____

Per. cef. nasc. _____ cm PC atual: _____ cm ____ p PC p: _____ PC m: _____

Dist. Intercant Int ____ cm ____ p D. Int ext ____ cm ____ p D. interp. ____ cm ____ p

Palmas ____ cm ____ p Dedo Med. ____ cm ____ p Peso _____ Kg ____ p

Dermatogl. MD _____ ME _____

Dermat. Pais MD _____ ME _____

Dermat. Mae MD _____ ME _____

PA MSD ____ x ____ mmHg MSE ____ x ____ mmHg Est. _____ cm ____ p





Hemoglobina _____ mg/dL T4L _____ ng/dL TSH _____ MUI/mL

Ureia _____ mg/dL Creatinina _____ mg/dL Calcio sérico _____ mg/dL

Fósforo _____ mg/dL Magnésio _____ mg/dL Osteocalcina _____ mg/ml
 Fosfat. alcalina _____ U/L Vitamina D _____ pg/ml Paratormônio _____ pg/ml
 Hemogl. glicada _____ % Glicemia de jejum _____ mg/dL Colest. _____ mg/dL
 Triglicerídeos _____ mg/dL HDL _____ mg/dL LDL _____ mg/dL
 Uso de medicação? Sim Não Quais? _____
 Internações? Sim Não Quais? _____ Perc. de gordura - _____ %
 Corpo inteiro – DMO total _____ g/cm² CMOTotal _____ g Z-escore - _____
 Coluna Lombar– DMO total _____ g/cm² CMOTotal _____ g Z-escore - _____
 Colo do Fêmur– DMO total _____ g/cm² CMOTotal _____ g Z-escore - _____
 Estreitamento bitemporal? Sim Não Vômitos? Sim Não
 Dificuldade alimentar na infância? Sim Não Constipação? Sim Não
 Atraso no desenvolvimento? Sim Não Fronte proemin.? Sim Não
 Região periorbitária típica em SW? Sim Não Achat. malar? Sim Não
 Bochechas proeminentes? Sim Não Raiz nasal baixa? Sim Não
 Nariz curto e antevertido? Sim Não Filtro longo? Sim Não
 Dentes pequenos e espaçados? Sim Não Retardo mental? Sim Não
 Estenose supraavalar aórtica? Sim Não Lábios espessos? Sim Não
 Outra cardiopatia que não ESVA? Sim Não Qual? _____
 Anomalia Estrutural Renal? Sim Não Qual? _____
 Alterações oftalmológicas? Sim Não Quais? _____
 Hérnia umbilical ou inguinal? Sim Não Bocarra? Sim Não
 Hipertensão arterial sistêmica? Sim Não Micrognatia? Sim Não
 Contraturas articulares? Sim Não Voz grosseira? Sim Não
 Clinodactilia de 5º quirodáctilo? Sim Não Estrabismo? Sim Não
 Unhas hipoplásicas ou distróficas? Sim Não Iris estrelada? Sim Não
 Hipotonia na infância? Sim Não Microcefalia? Sim Não

- | | | | |
|--|---|------------------------|---|
| Dificuldade de ganho de peso? | <input type="radio"/> Sim <input type="radio"/> Não | Baixa estatura? | <input type="radio"/> Sim <input type="radio"/> Não |
| Personalidade muito amigável? | <input type="radio"/> Sim <input type="radio"/> Não | Hiperacusia? | <input type="radio"/> Sim <input type="radio"/> Não |
| Transtorno de ansiedade? | <input type="radio"/> Sim <input type="radio"/> Não | Hiperatividade? | <input type="radio"/> Sim <input type="radio"/> Não |
| Hipercalcemia ou hipercalcúria? | <input type="radio"/> Sim <input type="radio"/> Não | Loquacidade? | <input type="radio"/> Sim <input type="radio"/> Não |
| Pectus excavatum? | <input type="radio"/> Sim <input type="radio"/> Não | Hálux valgo? | <input type="radio"/> Sim <input type="radio"/> Não |

ANEXO C – Cópia da folha de rosto do registro no CONEP

 MINISTÉRIO DA SAÚDE - Conselho Nacional de Saúde - Comissão Nacional de Ética em Pesquisa – CONEP FOLHA DE ROSTO PARA PESQUISA ENVOLVENDO SERES HUMANOS				
1. Projeto de Pesquisa: Estudo Clínico-Genético e correlação Genótipo-Fenótipo em pacientes com Síndrome de Williams		2. Número de Sujeitos de Pesquisa: 40		
3. Área Temática:				
4. Área do Conhecimento: Grande Área 4. Ciências da Saúde				
PESQUISADOR RESPONSÁVEL				
5. Nome: Cassio Luiz de Carvalho Serão				
6. CPF: 016.736.207-01		7. Endereço (Rua, n.º): DONA MARIANA BOTAFOGO 182 RIO DE JANEIRO RIO DE JANEIRO 22280020		
8. Nacionalidade: BRASILEIRA		9. Telefone: (21) 2539-8464	10. Outro Telefone:	11. Email: cserao@hotmail.com
12. Cargo:				
<p>Termo de Compromisso: Declaro que conheço e cumprirei os requisitos da Resolução CNS 196/96 e suas complementares. Comprometo-me a utilizar os materiais e dados coletados exclusivamente para os fins previstos no protocolo e a publicar os resultados sejam eles favoráveis ou não. Açoito as responsabilidades pela condução científica do projeto acima. Tenho ciência que essa folha será anexada ao projeto devidamente assinada por todos os responsáveis e fará parte integrante da documentação do mesmo.</p>				
Data: 10 / 05 / 2013		 Assinatura		
INSTITUIÇÃO PROPONENTE				
13. Nome: Universidade do Estado do Rio de Janeiro - UERJ		14. CNPJ: 33.540.014/0017-14	15. Unidade/Orgão: Hospital Universitário Pedro Ernesto/UERJ	
16. Telefone: (21) 1587-6353		17. Outro Telefone:		
<p>Termo de Compromisso (do responsável pela instituição): Declaro que conheço e cumprirei os requisitos da Resolução CNS 196/96 e suas Complementares e como esta instituição tem condições para o desenvolvimento deste projeto, autorizo sua execução.</p>				
Responsável: 		CPF: 719512297-20		
Cargo/Função: Isabel Bouzas Coordenadora NESA/Atenção Secundária Mat. 27555-7		 Assinatura		
Data: 10 / 05 / 2013				
PATROCINADOR PRINCIPAL				
Não se aplica.				