

## Haploinsuficiência genômica decorrente da microdeleção envolvendo 13 genes localizados na região cromossômica 7q11.23 em paciente acometido pela síndrome de Williams-Beuren: relato de caso

Genomic haploinsufficiency resulting from microdeletion involving 13 genes mapping to within chromosomal region 7q11.23 in a Williams-Beuren syndrome patient: Case report

Enrique Medina-Acosta<sup>1</sup>, Antonio Francisco Alves da Silva<sup>2</sup>, Regina Célia de Souza Campos Fernandes<sup>3</sup>

<sup>1</sup> Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, Núcleo de Diagnóstico e Investigação Molecular, Campos dos Goytacazes, RJ, Brasil.

<sup>2</sup> Hospital Escola Álvaro Alvim, Campos dos Goytacazes, RJ, Brasil.

<sup>3</sup> Faculdade de Medicina de Campos, Campos dos Goytacazes, RJ, Brasil

<sup>1</sup> Mestre e Doutor em Parasitologia Médica e Molecular, Professor Associado, Centro de Biociências e Biotecnologia, Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, coordenador do Núcleo de Diagnóstico e Investigação Molecular, Campos dos Goytacazes, RJ.

<sup>2</sup> Biólogo do Hospital Escola Álvaro Alvim, Mestrando do curso de Biociências e Biotecnologia da Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, Campos dos Goytacazes, RJ.

<sup>3</sup> Médica Pediatra, Mestre em Pediatria e Doutora em Doenças Infecciosas e Parasitárias, Professora da Disciplina de Pediatria da Faculdade de Medicina de Campos, Campos dos Goytacazes, RJ.

### RESUMO

**Introdução:** A síndrome de Williams-Beuren é um distúrbio do neurodesenvolvimento que impacta múltiplos sistemas. A causa mais frequente da síndrome de Williams-Beuren é a microdeleção submicroscópica (0,2Mb a 2,5Mb) na região 7q11.23 no braço longo do cromossomo 7. A condição genética característica em acometidos é a haploinsuficiência genômica determinada pela hemizigose de genes contíguos. O diagnóstico genético não pode ser realizado por cariotipagem banda G devido ao limite de resolução (>5Mb) da técnica de citogenética clássica. O rearranjo segmental pode ser detectado por meio da técnica de hibridação *in situ* com sondas específicas de DNA marcadas com

### ABSTRACT

**Introduction:** Williams-Beuren syndrome is a neurodevelopmental disorder that impacts multiple systems. The most frequent cause of Williams-Beuren syndrome is a submicroscopic deletion (0.2Mb to 2.5Mb) at 7q11.23 in the long arm of chromosome 7. The genetic condition hallmarking affected individuals is the genomic haploinsufficiency determined by the hemizyosity of contiguous genes. The genetic diagnosis cannot be done by banding G karyotyping because of the resolution limit (>5Mb) of the classic cytogenetic technique. The segmental rearrangement can be detected by *in situ* hybridization with DNA specific probes labeled with fluorochromes (FISH) or genotyping highly polymorphic microsatellite loci, and

**Autor para correspondência:** Enrique Medina-Acosta, NUDIM - Núcleo de Diagnóstico e Investigação Molecular, sede Hospital Escola Álvaro Alvim, Rua Barão da Lagoa Dourada 409, Prédio novo, 1º andar, Pelinca, Campos dos Goytacazes CEP 28035-010, Tel/Fax: (022) 2726 6758; E-mail: quique@uenf.br

fluorocromos (FISH) ou por genotipagem de locos de microssatélites altamente polimórficos e a análise de segregação de alelos em núcleos familiares para verificação de hemizigose na região 7q11.23.

**Objetivos:** Relatar um caso de diagnóstico tardio de síndrome de Williams-Beuren, enfatizando as vantagens de confirmação diagnóstica precisa pela genotipagem de seis locos de microssatélites específicos da região 7q11.23, utilizando a Reação Quantitativa Fluorescente em Cadeia da Polimerase (QF-PCR).

**Métodos:** Relato de caso e genotipagem alélica utilizando a QF-PCR para seis locos de microssatélites localizados na região 7q11.23.

**Resultados:** As alterações fenotípicas levaram à hipótese diagnóstica de síndrome de Williams-Beuren. O genótipo da criança apresentou perda da heterozigose esperada em três locos de microssatélites informativos, que definem um intervalo físico de 0,9 Mb, compreendendo 13 genes contíguos. Os alelos maternos informativos ausentes no perfil genético da criança foram D7SNUDIM3\_227, D7SNUDIM6\_303, D7SNUDIM11\_242. A perda da heterozigose é clara evidência da microdeleção, característica em pacientes com síndrome de Williams-Beuren.

**Conclusões:** Análise de segregação dos alelos parentais para o filho revelou a presença de rearranjo segmental envolvendo a microdeleção de cerca de 1 milhão de pares de nucleotídeos no cromossomo 7 herdado da mãe, resultando em haploinsuficiência de no mínimo 13 genes.

**Palavras-chave:** haploinsuficiência, microdeleção, microssatélite, síndrome de Williams-Beuren, STR, teste genético.

performing segregation analysis of alleles in nuclear families for verification of hemizyosity in the 7q11.23 region.

**Objectives:** To report a case of Williams-Beuren syndrome with late diagnosis, emphasizing the advantages of the precise diagnostic confirmation by genotyping six microsatellite loci specific for the 7q11.23 chromosomal region, using Quantitative Fluorescence Polymerase Chain Reaction (QF-PCR).

**Methods:** Case report and allelic genotyping using QF-PCR for six microsatellite loci at 7q11.23 region.

**Results:** The phenotypic alterations led to the diagnostic hypothesis of Williams-Beuren syndrome. The child's genotype exhibited loss of the expected heterozygosity in three informative microsatellite loci, which define a physical interval of 0.9 Mb, comprising 13 contiguous genes. The informative maternal alleles absent in the child's genetic profile were D7SNUDIM3\_227, D7SNUDIM6\_303, D7SNUDIM11\_242. The loss of the expected heterozygosity constitutes evidence of a microdeletion, characteristic in Williams-Beuren syndrome patients.

**Conclusions:** Segregation analysis of parental alleles to the child revealed the presence of a segmental rearrangement involving a microdeletion of about one million base pairs in the chromosome 7 inherited from the mother, resulting in haploinsufficiency of at least 13 genes.

**Keywords:** haploinsufficiency, microdeletion, microsatellite, Williams-Beuren syndrome, STR, genetic test.

## INTRODUÇÃO

A síndrome de Williams-Beuren (MIM ID #194050), SWB, é um distúrbio neuro-desenvolvimental que afeta múltiplos sistemas, incomum (incidência de 1/7.500 a 1/50.000 nascidos vivos), de expressividade variável, decorrente da haploinsuficiência de genes contíguos localizados na região 7q11.23 no braço longo do cromossomo 7. A causa mais frequente da haploinsuficiência gênica é a deleção hemizigota, esporádica, de um intervalo de 0,2 a 2,5 milhões de pares de nucleotídeos (Mb) de DNA, na região 7q11.23<sup>1</sup>. A deleção mais prevalente é de aproximadamente 1,5 a 1,8 Mb, abrangendo pelo menos 28 genes contíguos. Porém, a única correlação genótipo-fenótipo claramente estabelecida na SWB envolve o gene *ELN*, que codifica elastina, um dos dois componentes das fibras elásticas. Deleções e mutações no gene *ELN* estão correlacionadas à estenose aórtica supravascular<sup>2, 3, 4</sup> e cutis laxa autossômica dominante, associada com enfisema e aneurisma aórtico<sup>5, 6</sup>.

O mecanismo mais provável de deleção 7q11.23 na SWB é a recombinação meiótica desigual (recombinação homóloga não alélica) entre regiões flangeadoras repetidas e altamente homólogas (97%)<sup>7</sup>. As deleções envolvendo 7q11.23 na SWB ocorrem com igual frequência no cromossomo 7 maternal ou paternalmente herdado<sup>8</sup>. Por se tratar de defeito de natureza esporádica, na maioria dos casos, o risco de recorrência é considerado muito baixo.

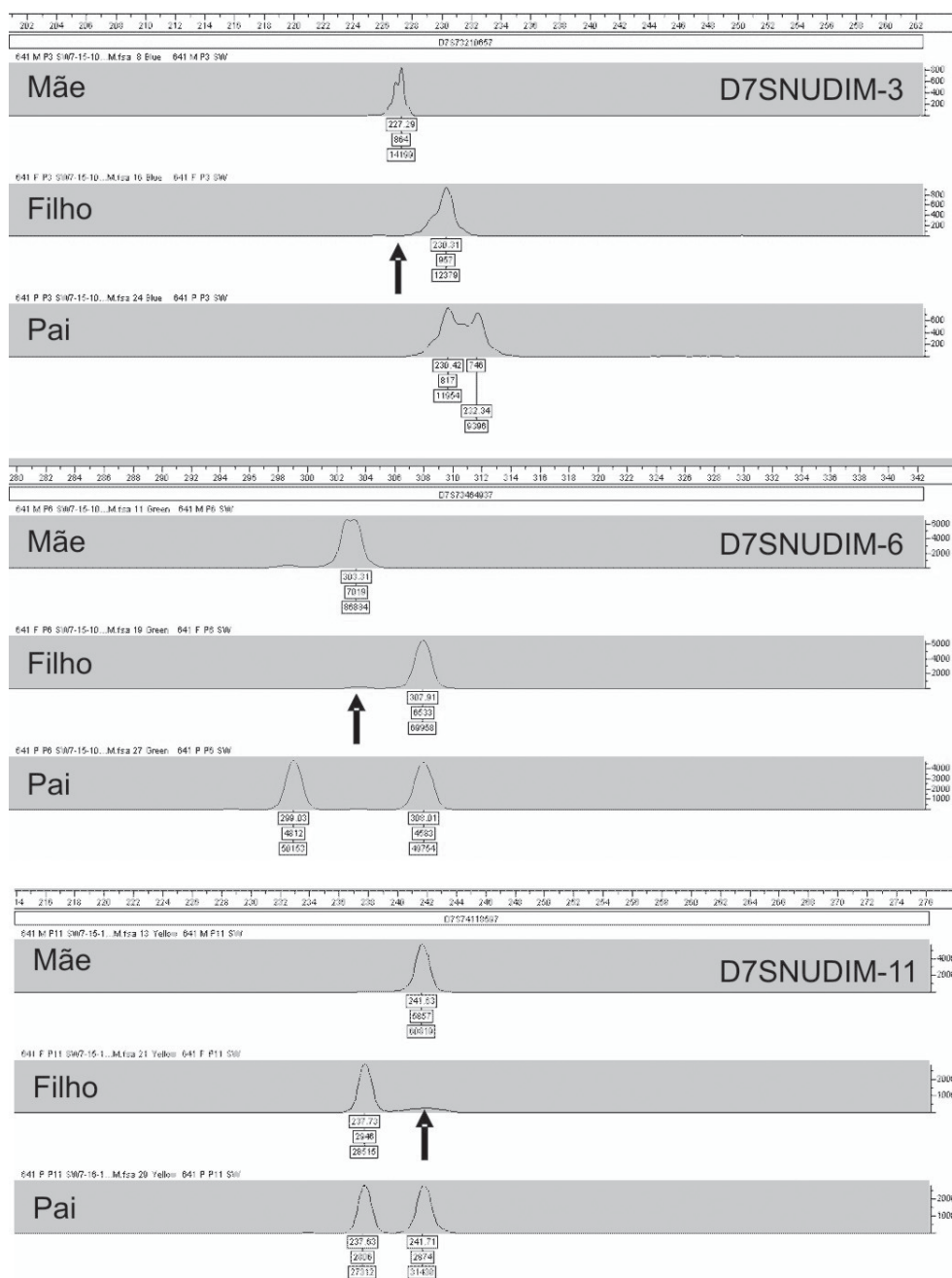
Os achados clínicos típicos (embora não obrigatórios em todos os pacientes) da microdeleção da região 7q11.23 na SWB compreendem: um padrão reconhecível de dismorfismo facial, estenose aórtica supralvalvular, anomalias do tecido conjuntivo, hipercalcemia e um fenótipo neurocomportamental distintivo que pode incluir personalidade amigável, extrovertida, voz rouca e hipersensibilidade a sons<sup>7, 9</sup> (Tabela 1). O fenótipo cognitivo sugere a dissociação entre habilidades verbais e não-verbais, principalmente com prejuízos visoconstrutivos significativos mediante a superioridade para habilidades auditivas e de linguagem<sup>10</sup>.

## RELATO DE CASO:

HGBC, sexo masculino, 9 anos, encaminhado ao nosso serviço para avaliação genética devido a

alterações fenotípicas e atraso no desenvolvimento. A mãe relatou gestação sem intercorrências (G3/P3); parto cesário a termo; peso ao nascimento de 3.800g, necessitando de reanimação. Aos 8 meses, devido a atraso psicomotor a mãe procurou atendimento especializado, quando foi constatado o atraso e levantada a suspeita de síndrome de Down, não confirmada por avaliação pertinente. Avaliada por geneticista houve a suspeita de síndrome de Williams-Beuren. Em outubro de 2009, ao exame físico, observamos hipodesenvolvimento pondoestatural, alteração na cognição, fácies sindrômica (fendas palpebrais levemente oblíquas, pregas epicânticas, orelha direita de baixa implantação, base do nariz achatada, narinas antevertidas, boca grande, lábios volumosos, lábio inferior evertido, hipoplasia mandibular); discreto *pectum excavatum*; ausência de alterações em íris e mãos. O estudo ecocardiográfico revelou miocardiopatia hipertrófica assimétrica. Características neurodesenvolvimentais: loquacidade e sociabilidade excessiva. Outras características: Rouquidão. Foram solicitados testes de citogenética molecular. DNA genômico foi extraído de sangue periférico (0,3 mL) do núcleo familiar (mãe, filho e pai) e submetido à tipagem alélica utilizando a Reação Quantitativa Fluorescente em Cadeia da Polimerase (QF-PCR) para seis locos de microssatélites, polimórficos do tipo sequências curtas repetidas em tandem (STR), na região 7q11.23 do braço longo do cromossomo 7. Análise de segregação dos alelos parentais para o filho indicou que os alelos maternos informativos D7SNUDIM3\_227, D7SNUDIM6\_303, D7SNUDIM11\_242 estavam ausentes no perfil genético da criança (Tabela 2). O genótipo da criança, portanto, apresentou perda da heterozigose esperada em três locos de microssatélites informativos. Esses locos definem um intervalo físico de 0,9 Mb, compreendendo 13 genes e expandindo o gene *ELN* (Tabela 3). A perda da heterozigose é clara evidenciada microdeleção característica da síndrome de Williams-Beuren.

**SUJEITOS DA PESQUISA:** este estudo faz parte do projeto de pesquisa intitulado "*Desenvolvimento de testes moleculares rápidos, altamente eficientes e econômicos para o diagnóstico de doenças genéticas*



humanas: Fortalecendo a interiorização da Genética no SUS", aprovado pelo Comitê de Ética em pesquisa em seres humanos da Faculdade de Medicina de Campos, sob folha de rosto FR278769. As amostras de sangue foram coletadas sob Termo de Consentimento Livre e Esclarecido.

## DISCUSSÃO

A criança foi inicialmente referida ao nosso serviço para testagem de síndrome de Down

(trissomia 21), condição que foi afastada no exame clínico e laboratorialmente pela genotipagem de marcadores específicos do cromossomo 21 e citogenética clássica (banda G) (dados não mostrados). A criança teve a suspeita diagnóstica de síndrome de Williams-Beuren levantada a partir da presença alterações fenotípicas e cognitivas peculiares<sup>7, 9, 10</sup>. A confirmação da suspeita clínica de SWB foi feita utilizando o teste de rastreamento genético de microssatélites localizados na região 7q11.23 no

## CONCLUSÕES

O teste genético mostrou-se eficaz no auxílio ao diagnóstico definitivo síndrome de Williams-Beuren na criança, decorrente da haploinsuficiência genômica envolvendo a microdeleção hemizigota de no mínimo 13 genes maternos localizados na região 7q11.23, incluindo o gene ELN, cujas mutações são determinantes para o fenótipo da síndrome. A genotipagem e análise de segregação de marcadores multialélicos permitiu o diagnóstico laboratorial preciso deste tipo de microdeleção em tempo muito reduzido, o que não poderia ser realizado por citogenética clássica, devido à baixa

resolução (>5Mb) da cariotipagem por banda G.

**CONFLITOS DE INTERESSE:** nenhum a declarar.

## AGRADECIMENTOS

Ao núcleo familiar que pacientemente aguardou o desenvolvimento e a implementação do teste de genotipagem de marcadores polimórficos específicos. O trabalho foi financiado pela FAPERJ (Auxílio à Pesquisa APQ1 2009/02, Processo no. E26/110.386/2010). Enrique Medina-Acosta é bolsista de Produtividade do CNPq e consultor/assessor do Hospital Escola Álvaro Alvim.

---

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Schubert C. The genomic basis of the Williams-Beuren syndrome. *Cell Mol Life Sci* 2009; 66: 1178-1197.
2. Urban Z, Zhang J, Davis EC, Maeda GK, Kumar A, Stalker H et al. Supravalvular aortic stenosis: genetic and molecular dissection of a complex mutation in the elastin gene. *Hum Genet* 2001; 109: 512-520.
3. Urban Z, Riaz S, Seidl TL, Katahira J, Smoot LB, Chitayat D et al. Connection between elastin haploinsufficiency and increased cell proliferation in patients with supravalvular aortic stenosis and Williams-Beuren syndrome. *Am J Hum Genet* 2002; 71: 30-44.
4. Tassabehji M, Urban Z. Congenital heart disease: Molecular diagnostics of supravalvular aortic stenosis. *Methods Mol Med* 2006; 126: 129-156.
5. 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* 2005; 124: 1193-1199.
6. Szabo Z, Crepeau MW, Mitchell AL, Stephan MJ, Puntel RA, Yin Loke K et al. Aortic aneurysmal disease and cutis laxa caused by defects in the elastin gene. *J Med Genet* 2006; 43: 255-258.
7. Merla G, Brunetti-Pierri N, Micale L, Fusco C. Copy number variants at Williams-Beuren syndrome 7q11.23 region. *Hum Genet* 2010; 128: 3-26.
8. Osborne LR. Williams-Beuren syndrome: unraveling the mysteries of a microdeletion disorder. *Mol Genet Metab* 1999; 67: 1-10.
9. SOPERJ. Síndrome de Williams (Comitê de Genética Gestão 2004-2006). [Online] 2004 20/12/2004 [Acesso em: 10/07/2010]; Disponível em: [http://www.soperj.org.br/publico/textos\\_imprime.asp?id=263](http://www.soperj.org.br/publico/textos_imprime.asp?id=263)
10. Rossi FN. *Caracterização do fenótipo comportamental e de linguagem na síndrome de Williams-Beuren*. Tese de Doutorado, Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho 2010, p. 179. Disponível em: [http://www.ibb.unesp.br/posgrad/teses/genetica\\_do\\_2010\\_natalia\\_rossi.pdf](http://www.ibb.unesp.br/posgrad/teses/genetica_do_2010_natalia_rossi.pdf)
11. Rosenberg MJ, Vaske D, Killoran CE, Ning Y, Wargowski D, Hudgins L et al. Detection of chromosomal aberrations by a whole-genome microsatellite screen. *Am J Hum Genet* 2000; 66: 419-427.
12. Collins RT, 2nd, Kaplan P, Somes GW, Rome JJ. Long-term outcomes of patients with cardiovascular abnormalities and Williams syndrome. *Am J Cardiol* 2010; 105: 874-878.
13. Ahmad Z, Vettukattil J. Pulmonary artery diverticulum: an angiographic marker for Williams syndrome. *Pediatr Cardiol* 2010; 31: 611-614.