

Síndrome Smith-Lemli-Opitz. Defeito Metabólico na Biossíntese do Colesterol. A Propósito de Três Casos Clínicos

CÉU R. MOTA ⁽¹⁾, E. MARTINS ⁽²⁾, A. FORTUNA ⁽¹⁾, C. CARVALHO ⁽²⁾, E. PROENÇA ⁽²⁾, A. MATOS ⁽³⁾,
O. PINHO ⁽⁴⁾, C. BARBOT ⁽⁵⁾, M. R. LIMA ⁽¹⁾

¹ Instituto de Genética Médica Jacinto de Magalhães – Porto

² Serviço de Pediatria – Hospital de Crianças Maria Pia

³ Serviço de Pediatria – Hospital de Guimarães

⁴ Serviço de Obstetria – Centro Hospitalar de V. N. Gaia

⁵ Serviço de Neuropediatria – Hospital de Crianças Maria Pia

Resumo

O síndrome de Smith-Lemli-Opitz (SLO) é uma doença genética autossómica recessiva caracterizada por múltiplas anomalias congénitas sendo as mais frequentes o atraso de crescimento e desenvolvimento, microcefalia, anomalias faciais, anomalias genitais e sindactília e ou polidactília associadas a outras anomalias menos frequentes. Não há nenhuma anomalia congénita patognomónica nem obrigatória para o diagnóstico clínico existindo uma vasta variabilidade na sua expressão fenotípica o que leva a um subdiagnóstico desta patologia.

O espectro clínico dos doentes com síndrome SLO varia desde indivíduos com atraso mental associado a anomalias minor até doentes com anomalias estruturais graves com compromisso da sobrevivência, levando muitas vezes a morte in útero ou neonatal precoce.

A etiologia deste síndrome polimalformativo envolve um erro metabólico na biossíntese do colesterol por uma deficiente actividade da enzima 7-deidrocolesterol Δ^7 -reductase que provoca uma diminuição do colesterol sérico e um aumento dos níveis séricos do 7-deidrocolesterol (7-DHC) que é o precursor do colesterol. Esta alteração do metabolismo do colesterol (aumento do 7-DHC) permite o seu uso como marcador bioquímico para comprovar o diagnóstico clínico e oferecer o diagnóstico pré-natal.

Os autores descrevem 3 casos clínicos deste síndrome (um deles com diagnóstico pré-natal) todos com confirmação bioquímica, pretendendo com esta descrição contribuir para o melhor reconhecimento clínico deste síndrome.

Palavras-Chave: Síndrome Smith-Lemli-Opitz; metabolismo do colesterol; diagnóstico pré-natal.

Summary

Smith-Lemli-Opitz syndrome. Metabolic Disorder of Cholesterol Biosynthesis. Clinical Report of Three Patients

Smith-Lemli-Opitz (SLO) syndrome is an autosomal recessive disorder with multiple congenital anomalies which the most frequent are growth and mental retardation, microcephaly, facial and genital abnormalities, syndactyly and or polydactyly associated to others less frequent anomalies. None of the component manifestations is pathognomonic, none obligatory and there is an enormous variation in expressivity, that contribute to be underdiagnosed.

The SLO clinical spectrum ranges from individuals with mental retardation and minor anomalies to those with major structural defects and early or even prenatal lethality.

This syndrome results from a deficient activity of the enzyme 7-dehydrocholesterol Δ^7 -reductase that leads to low levels of cholesterol and markedly raised levels of the cholesterol precursor 7-dehydrocholesterol (7DHC). This biochemical marker is now available to confirm the clinical diagnosis and to other prenatal diagnosis.

We report three cases of this syndrome (one case with prenatal diagnosis) all with proven biochemical defect and the aim of this publication was the contribution for better recognise this syndrome.

Key-Words: Smith-Lemli-Opitz; cholesterol metabolism; prenatal diagnosis.

Introdução

O síndrome de SLO descrita pela primeira vez em 1964 por Smith e colaboradores é uma doença genética autossómica recessiva (Mckusick n.º #270400) caracterizado por atraso mental, fácies dismórfico e múltiplas anomalias congénitas (genitais e digitais entre outras) com

Correspondência: Dr.ª Céu Rocha Mota
Instituto de Genética Médica Jacinto de Magalhães
Praça Pedro Nunes, 88, 4050 Porto
Tel.: 22 607 03 00 - Fax: 22 607 03 99
E-mail: ceu.mota@igmjm.pt

Aceite para publicação em 03/11/99.
Entregue para publicação em 18/05/99.

uma grande variabilidade clínica cujo fenótipo sofre progressivamente alterações com a idade ⁽¹⁻⁴⁾.

A sua expressão clínica é muito variável o que levou à classificação clínica em 2 tipos consoante a gravidade das anomalias congénitas, embora o erro metabólico seja sempre o mesmo: **Tipo I** as formas com fenótipo moderado e **Tipo II**: formas com fenótipo mais grave ⁽²⁾.

A sua incidência tem sido estimada entre 1/20 000 e 1/50 000 com uma frequência de portadores do gene de 0,014, o que significa que em alguns países seja a terceira doença autossómica recessiva mais frequente depois da fibrose quística e da fenilcetonúria ⁽³⁻⁷⁾.

A descoberta de um erro na biossíntese do colesterol [actividade deficiente da enzima 7-dehydrocolesterol Δ^7 -reductase que provoca uma diminuição do colesterol e um aumento do 7-dehydrocolesterol (7DHC) séricos e tecidulares] permite considerar o síndrome SLO como o primeiro síndrome polimalformativo com etiologia metabólica ⁽⁹⁻¹¹⁾ comprovada. A dificuldade em afirmar o diagnóstico clínico, tendo em conta a variabilidade fenotípica deixou de existir desde que dispomos da comprovação bioquímica ⁽⁸⁻¹¹⁾. Este marcador permitiu ainda oferecer o diagnóstico pré-natal a casais de risco. Discute-se actualmente a indicação para este doseamento em fetos com alterações ecográficas como a translucência da nuca aumentada ou hidrâmnios, com estudo citogenético fetal normal ^(3, 13-15).

O tratamento dietético com dieta rica em colesterol parece melhorar o comportamento e o crescimento dos doentes com síndrome SLO ^(3, 11-20).

Neste artigo descrevemos 3 doentes com síndrome SLO tentando chamar a atenção para a diversidade do fenótipo desta patologia que provavelmente está a ser subdiagnosticada.

CASO 1

Recém-nascido do sexo masculino, raça caucasiana, nascido em 3/12/97, transferido com 3 dias de vida para a unidade de cuidados intensivos neonatais para observação por cirurgia pediátrica por suspeita de oclusão intestinal e síndrome polimalformativo. Pai com 39 anos e mãe com 38 anos, saudáveis, não consanguíneos, com antecedentes de infertilidade de 9 anos e sem história familiar de anomalias congénitas. II Gesta, 0 Para, 1 abortamento espontâneo no primeiro trimestre. Gestação vigiada, oligoâmnios grave detectado às 35 semanas que motivou cesariana. Índice de Apgar 9/10 ao 1.º e 5.º minutos respectivamente, peso=2430g (P50), comprimento=49 cm (P50), perímetro cefálico=31 cm (<P5). Ao exame objectivo o recém-nascido apresentava: fácies anormal (figura 1A e 1B) com epicanto, ponte nasal alta e grossa, narinas antevertidas, microretrognatismo, fenda do palato mole, polidactilia pós-axial bilateral das mãos,

pés talo-valgos com sindactilia entre os 2.º e 3.º dedos, criptorquidia e hipospádias. O colesterol sérico com 2 dias de vida era de 0,44 mmol/L (N=1,35-4,48 mmol/L). Com 8 dias de vida por suspeita de síndrome de SLO é pedido 7-DHC que se revelou muito elevado, de 702 μ mol/L (Controlo=0,04-0,58 μ mol/L), e que confirmou a suspeita clínica. Realizou ecografia cardíaca que mostrou formar oval patente, ecografia renal que mostrou hidronefrose do rim esquerdo, ecografia transfontanelar que foi normal e cariótipo 46, XY.

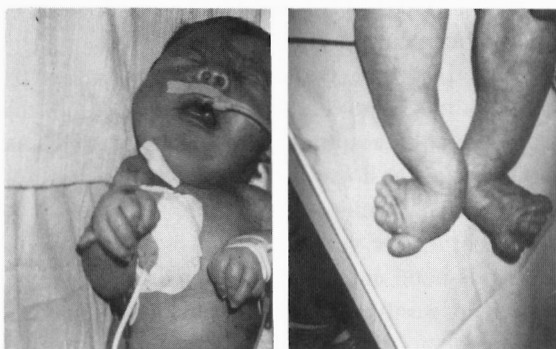
Manteve intolerância alimentar e vômitos desde o 2.º dia de vida, sendo operado aos 13 dias por sub-occlusão intestinal. O estudo anatomopatológico mostrou tratar-se de um quadro de aganglionismo de todo o cólon (doença de Hirschsprung). Faleceu com 37 dias de vida por sépsis.

CASO 2

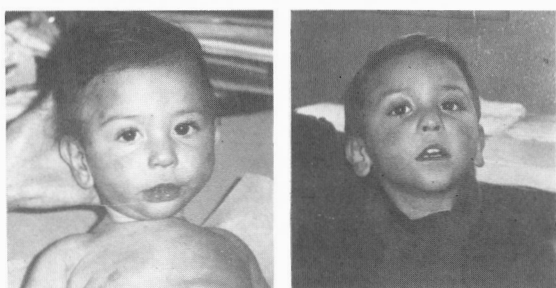
N.A.S.A., sexo masculino, raça caucasiana, nascido em 10/01/97, é enviado à consulta de Genética aos 6 meses de idade por apresentar síndrome polimalformativo com microcefalia. Primeiro filho de pais jovens, saudáveis e não consanguíneos, sem história familiar de anomalias congénitas. Gestação vigiada, de termo, mãe portadora crónica de hepatite B. Parto eutócico às 40 semanas de gestação, APGAR 9/10 ao 1' e 5' respectivamente, peso: 2960g (P25), comprimento 47,5 cm (P10-25), perímetro cefálico 32 cm (<P5). Ao exame objectivo apresentava pé valgo à direita e sindactilia entre o 2.º e o 3.º dedos dos pés. Desde o nascimento que apresentou hipotonia do tronco, má evolução estaturoponderal e microcefalia com atraso do desenvolvimento, choro irritadiço, espasticidade dos membros inferiores, limitação da abdução das ancas e reflexos osteotendinosos aumentados.

Aos 6 meses (Figs. 2A e 2B) apresentava fácies dismórfico com olhar vivo fixando e seguindo mal, epicanto bilateral, proeminência da sutura metópica, estreitamento bitemporal, pavilhões auriculares grandes, descolados e posteriores, lábios finos, filtrum longo, úvula bífida, fenda do palato submucosa, microretrognatia, pescoço curto com pele redundante, auscultação cardio-pulmonar normal, abdómen distendido, região genital e anal normal. No exame neurológico mantinha alterações de postura com distonia, espasticidade dos membros inferiores e tremor. Os exames complementares realizados: cariótipo, estudo metabólico (aminoácidos no sangue e urina, ácidos orgânicos na urina, lactato, piruvato, amónia, ácidos gordos de cadeia muito longa), EEG e Ecografia transfontanelar, foram normais. A RMN cerebral revelou uma atrofia cerebral difusa. Aos 13 meses por manter má evolução estaturoponderal fez análises bioquímicas de sangue que mostraram um colesterol de 2,4 mmol/L (N=3,4-4,8 mmol/L) o que juntamente com o quadro clínico fizeram

suspeita da síndrome de SLO. Foi pedido o doseamento do 7-DHC que se revelou muito aumentado: 347 $\mu\text{mol/L}$ (Controlo=0,04-0,58 $\mu\text{mol/L}$), o que permitiu confirmar a suspeita clínica. Actualmente encontra-se a fazer dieta rica em colesterol, com um aporte exógeno diário de 20-40 mg/Kg e ácido ursodesoxicólico de 15 mg/Kg. Clinicamente apresenta uma melhoria do estado geral, do comportamento e do crescimento.



FIGS. 1A e 1B: (Caso 1), face e perfil do doente com 8 dias de vida.



FIGS. 2A e 2B: (Caso 2), face e perfil do doente com 6 meses de vida; 2C: doente com 2 anos e 6 meses.

CASO 3

Grávida de 28 anos de idade, caucasiana, com marido saudável, não consanguíneos com 21 semanas de gestação não vigiada. Sem antecedentes familiares de anomalias congénitas. É enviada à consulta de diagnóstico pré-natal por história de filho anterior falecido com síndrome

polimalformativo com suspeita clínica de síndrome de SLO porém sem estudo metabólico comprovativo. Foi efectuada ecografia que revelou feto único intrauterino do sexo masculino, com várias anomalias: fenda palatina, sindactilia cutânea dos dedos das mãos e dos pés, rim em ferradura, hipospádias (Fig. 3) e duas imagens hiperecogénicas no ventrículo esquerdo. Estes achados juntamente com os antecedentes levaram a suspeitar de um segundo caso de síndrome SLO pelo que foi realizada amniocentese para estudo citogenético e pedido o doseamento, no líquido amniótico, de colesterol que foi de 20 $\mu\text{mol/L}$ (Controlo=21-129 $\mu\text{mol/L}$) e o do 7-DHC igual a 18 $\mu\text{mol/L}$ (Controlo=0,007-0,03) que confirmou a suspeita clínica de síndrome de SLO. O cariótipo fetal foi 46,XY. Foi efectuada interrupção médica da gravidez às 22 semanas de gestação e o exame necrópsico confirmou as anomalias descritas na ecografia pré-natal.



FIG. 3 - (Caso 3), ecografia prenatal mostrando a hipospádias.

Discussão

Todos os doentes descritos neste artigo têm manifestações clínicas evocativas de síndrome SLO, embora com fenótipos diferentes. Todos apresentaram as alterações bioquímicas típicas (Tabela I) com diminuição do colesterol total e aumento do 7-DHC, séricos no caso 1 e 2 e as mesmas alterações no líquido amniótico do caso 3.

QUADRO I
Valores de colesterol e 7-DHC(*)

Doente/Control Tipo de amostra	Idade	Colesterol	Colesterol (mmol/L)	7-DHC ($\mu\text{mol/L}$)
Caso 1/Control Plasma	2 anos 6 meses		0,44 / (1,35-4,48)	702 / (0,04-0,58)
Caso 2/Control Plasma	8 dias		2,4 / (3,4-4,8)	347 / (0,04-0,58)
Caso 3/Control Líquido amniótico	21 semanas de gestação	20 / (21-129)		18 / (0,007-0,03)

(*) Doseamentos efectuados no laboratório do Prof. C. Jakobs, Amsterdam.

A nível sérico o doseamento do colesterol deve ser efectuado por cromatografia gasosa-espectrometria de massa pois as técnicas colorimétricas podem dar falsos negativos ao medirem o colesterol total juntamente com os seus precursores (6, 11, 21).

Estas alterações bioquímicas podem ser observadas noutros tecidos para além do plasma e amniócitos tais como: fibroblastos, vilosidades, tecidos fetais congelados, linfoblastos e eritrócitos e mesmo em tecidos conservados em formol (5, 18, 21, 22). Técnicas de doseamento nos eritrócitos do sangue do teste de Guthrie, também permitem o rastreio neonatal desta patologia (23).

As amplas possibilidades de doseamento do marcador bioquímico em vários tecidos, pode facilitar a confirmação do diagnóstico pós-mortem desde que se tenham guardadas amostras ou o teste de Guthrie. Porém estas técnicas ainda não estão standardizadas para uso corrente (5, 23).

Clinicamente a evolução do síndrome SLO caracteriza-se por um atraso de crescimento intrauterino, seguido de um atraso de crescimento pós-natal grave nos primeiros dois anos de vida, atraso mental, dismorfia facial (microcefalia, narinas antevertidas, ptose palpebral, ponte nasal larga, cataratas e micrognatía), fenda do palato, alterações dos genitais (situações de ambiguidade sexual, criptorquidia e/ou hipospádias nos rapazes, nas raparigas hipoplasia dos grandes lábios), malformações das extremidades (sindactilia entre o 2.º e 3.º dedos dos pés, polidactilia pós-axial) (18). Em 1987, Curry e colaboradores descrevem um grupo de doentes com um fenótipo grave caracterizado por anomalias estruturais graves (cardíacas, renais, endócrinas e do sistema nervoso central) e sobrevida curta que denominou como SLO Tipo II, sendo os doentes com fenótipo mais benigno designados como Tipo I (24).

O caso 2 constitui um exemplo do Tipo I, situação que obriga a um elevado índice de suspeita clínica para o diagnóstico ser efectuado. Os casos 1 e 3 apresentavam um fenótipo de Tipo II.

A gestação no caso 1 decorreu após 9 anos de esterilidade secundária, o que é também referido na literatura pois sabe-se que as mulheres portadoras têm baixos níveis de estriol urinário e de estriol não conjugado sérico (16, 25) que lhes provoca alterações hormonais e situações de infertilidade/esterilidade.

O fâcies do síndrome SLO é relativamente fácil de ser reconhecida na maioria dos doentes, apesar das dismorfias serem mínimas (3). A microcefalia, o estreitamento do diâmetro bitemporal juntamente com a ptose ligeira, com o nariz curto com narinas antevertidas, as anomalias do palato (alto, estreito e com fenda do palato duro ou mole ou submucosa), gengivas grossas e úvula bífida serão as anomalias mais típicas nos doentes do Tipo I.

Este fenótipo vai-se alterando com a idade do doente, tal como podemos observar no caso 2 após 2 anos de evolução (Fig. 2C), existindo também uma tendência para uma melhoria espontânea do crescimento o que torna o diagnóstico mais difícil numa idade mais tardia ou na adolescência (3, 26). No entanto, todos os casos de microcefalia associada a um atraso do desenvolvimento e do crescimento nos primeiros anos de vida obrigam a suspeitar de síndrome SLO. A sobrevida dos doentes com o tipo I é praticamente normal (6).

No tipo II existe geralmente um fâcies com uma micrognatía mais grave, hipospádias ou ambiguidade sexual, polidactilia e anomalias estruturais graves associadas tais como cardiopatia, anomalias renais, cerebrais, doença de Hirschsprung, e outras (18). A sobrevida nestes doentes é curta, por vezes fatal no período pré-natal e a evolução pós-natal caracteriza-se por dificuldades graves de deglutição e infecções respiratórias, sendo a taxa de mortalidade de aproximadamente 20% no primeiro ano de vida (6).

O colesterol é um constituinte essencial para a formação do sistema nervoso central, para a síntese das membranas celulares e mitocôndrias, da mielina, é um precursor das hormonas esteróides, ácidos biliares e vitamina D (3, 17). A impossibilidade intrínseca de o sintetizar, explicará as anomalias presentes nestes doentes. Várias experiências em ratos que foram sujeitos a tratamentos com um inibidor sintético da enzima 7-DHC reductase, provocaram efeitos teratogénicos nas suas crias semelhantes aos observados no síndrome SLO (27). Outros autores demonstraram ainda existir uma correlação inversa entre a gravidade do fenótipo e os níveis de colesterol sérico (18).

O tratamento em curso descrito na literatura consiste numa dieta rica em colesterol (40-120 mg/kg/dia) e com suplementos de ácidos biliares que vão permitir uma melhor absorção deste colesterol. O ácido biliar usado com maior frequência é o ursodesoxicólico (15 mg/kg/dia) associado ou não ao kenodesoxicólico (7 mg/kg/dia). Embora o grau de resposta seja variável entre os doentes e dependa da gravidade da alteração bioquímica presente há uma melhoria objectiva a nível do crescimento, desenvolvimento e funções neurológicas. Estes doentes foram sujeitos previamente a uma avaliação clínica cuidadosa, sendo os resultados preliminares promissores a nível da melhoria neurológica, comportamental e do crescimento (3, 4, 19, 20, 26).

Wassif et al em 1998 estudou 3 doentes com síndrome SLO (28) e conseguiu identificar mutações no gene que codifica a enzima 7-DHC reductase que se localiza no cromossoma 11q12-q13. Existem no entanto outras famílias com doentes com fenótipo de síndrome SLO e com rearranjos cromossómicos na região 7q32.1 que estão a

ser estudadas por técnicas de «positional cloning» na tentativa de se encontrar outro gene responsável pelo erro⁽²⁹⁾.

Tendo em conta as características desta doença, torna-se especialmente importante o seu diagnóstico clínico, para um correcto aconselhamento genético destas famílias e oferecimento de diagnóstico pré-natal, já que o risco de recorrência é de 25% em cada nova gestação.

Com este artigo pretendemos chamar a atenção para uma doença relativamente comum, de alto risco de recorrência, com perspectivas de algum tratamento eficaz e que pensamos ser subdiagnosticada no nosso país.

Agradecimentos

Queremos agradecer de uma maneira muito especial ao Prof. Cornelis Jakobs da Free University Hospital Metabolic Unit – Dept. of Clinical Chemistry, De Boelelaan 1117, 1081 HV Amsterdam the Netherlands.

Tel.: 31 20 444 2416

Fax Nr.: 31 20 444 0305

e sua equipa, pelo modo gentil, eficiente e eficaz com que realizou todas as análises e diagnóstico pré-natal nos nossos doentes.

Bibliografia

1. Smith DW, Lemli L, Opitz JM. A newly recognized syndrome of multiple congenital anomalies. *J Pediatr* 1964; 64: 210-7.
2. Seller MJ, Flintner FA, Docherty Z, Fagg N, Newbould M. Phenotypic diversity in the Smith-Lemli-Opitz syndrome. *Clin Dysmorphol* 1997; 6: 69-73.
3. Ryan AK, Bartlett K, Clayton P, Eaton S, et al. Smith-Lemli-Opitz syndrome: a variable clinical and biochemical phenotype. *J Med Genet* 1998; 35: 558-65.
4. Walasek MK, Gradowska W, Ryzko J, et al. Further delineation of the classical Smith-Lemli-Opitz syndrome phenotype at different patient ages: clinical and biochemical studies. *Clin Dysmorphol* 1999; 8: 29-40.
5. Kelley, RI.: A new face for an old syndrome. (Editorial) *Am J Med Genet* 1997; 65: 251-6.
6. Verdú MT, López MV, Marina LC, et al. Síndrome de Smith-Lemli-Opitz. Anomalia en la síntesis de colesterol. *Na Esp Pediatr* 1997; 46: 617-20.
7. Opitz JM: RSH/SLO Syndrome: historial, genetic, and developmental considerations. *Am J Med Genet* 1994; 50: 344-6.
8. De Die-Smulders C, Van de Meer S, Spaapen L, Fryns JP. Confirmation of defective cholesterol biosynthesis in 2 previously described adult sibs with Smith-Lemli-Opitz syndrome. (Letter) *Genet Counseling* 1996; 7: 161-2.
9. Tint GS, Irons M, Elias ER, et al. Defective cholesterol biosynthesis associated with the Smith-Lemli-Opitz syndrome. *N Engl J Med* 1994; 330: 107-13.
10. Opitz JM, de la Cruz F. Cholesterol metabolism in the RSH/Smith-Lemli-Opitz syndrome: summary of na NICHHD conference. *Am J Med Genet* 1994; 50: 326-38.
11. Irons M, Elias ER, Tint GS, et al. Abnormal cholesterol metabolism in the Smith-Lemli-Opitz syndrome: report of clinical and biochemical findings in four patients and treatment in one patient. *Am J Med Genet* 1994; 50: 347-52.
12. Honda A, Tint GS, Salen G, Kelley RI, et al. Sterol concentrations in cultured Smith-Lemli-Opitz syndrome skin fibroblasts: diagnosis of a biochemically atypical case of the syndrome. *Am J Med Genet* 1997; 68: 282-7.
13. Tint GS, Abuelo D, Till M, et al. Fetal Smith-Lemli-Opitz syndrome can be detected accurately and reliably by measuring amniotic fluid dehydrocholesterols. *Prenat Diagn* 1998; 18: 651-8.
14. Hyett JA, Clayton PT, Moscoso G, Nicolaides KH: Increased first trimester nuchal translucency as a prenatal manifestation of Smith-Lemli-Opitz syndrome. *Am J Med Genet* 1997; 58: 374-6.
15. Rossiter Jp y col. Smith-Lemli-Opitz syndrome: prenatal diagnosis by quantification of cholesterol precursors in amniotic fluid. *Am J Med Genet* 1995; 3: 272-5.
16. Bick DP, McCorckle D, Stanley WS, et al. Prenatal diagnosis of Smith-Lemli-Opitz syndrome. In a pregnancy with low maternal serum oestriol and a sex-reversed fetus. *Prenat Diagn* 1999; 19: 68-71.
17. Clayton PT. Disorders of cholesterol biosynthesis. *Arch Dis Child* 1998; 78: 185-9.
18. Cunniff C, Kratz LE, Moser A, et al. Clinical and biochemical spectrum of patients with RSH/Smith-Lemli-Opitz syndrome and abnormal cholesterol metabolism. *Am J Med Genet* 1997; 68: 263-9.
19. Acosta PB. RSH/SLO syndrome: designing a high cholesterol diet for the SLO syndrome. *Am J Med Genet* 1994; 50: 358-63.
20. Nwokoro NA, et al. Cholesterol and bile acid replacement therapy in children and adults with Smith-Lemli-Opitz (SLO/RSH) syndrome. *Am J Med Genet* 1997; 68: 315-21.
21. Tint GS, Salen GS, Batta AK. Correlation of severity and outcome with plasma sterol levels in variants of Smith-Lemli-Opitz syndrome. *J Pediatr* 1995; 127: 82-7.
22. Oostra RJ, Baljet B, Schutgens RBH, et al. Smith-Lemli-Opitz syndrome diagnosed in a 130-year-old anatomical specimen. *Am J Med Genet* 1997; 68: 257-9.
23. Zimmerman PA, Hercules DM, Naylor EW. Direct analysis of filter paper blood specimens for identification os Smith-Lemli-Opitz syndrome using time-of-flight secondary ion mass spectrometry. *Am J Med Genet* 1997; 68: 300-4.
24. Curry CJR, Carey JC, Holland JS, et al. Smith-Lemli-Opitz syndrome type II: Multiple congenital anomalies with male pseudohermaphroditism and frequent early lethality. *Am J Med Genet* 1987; 26: 45-7.
25. Angle B, Tint GS, Oraib A, et al. Atypical case of Smith-Lemli-Opitz syndrome: implications for diagnosis. *Am J Med Genet* 1998; 80: 322-6.
26. Kelley RI. RSH/Smith-Lemli-Opitz syndrome: mutations and metabolic morphogenesis. (Editorial) *Am J Hum Genet* 1998; 63: 322-6.
27. Dehart Db, Lanoue L, Tint GS, Sulik KK. Pathogenesis of malformations in a rodent model for Smith-Lemli-Opitz syndrome. *Am J Med Genet* 1997; 68: 328-37.
28. Wassif CA, Maslen C, Kachilele-Linjewile S, Lin D, et al. Mutations in the human seterol delta-7-reductase gene at 11q12-13 cause Smith-Lemli-Opitz syndrome. *Am J Hum Genet* 1998; 63: 55-62.
29. Wallace M, Zori RT, Alley T, et al. Smith-Lemli-Opitz syndrome in a female with a de novo, balanced translocation involving 7q32:probable disruption of na SLOS gene. *Am J Med Genet* 1994; 50: 368-74.