

Hipocalcemia Neonatal e Baixa Estatura por Delecção em 22q11.2

JORGE M. SARAIVA¹, EUNICE MATOSO², ALICE MIRANTE³, ISABEL MARQUES²

¹ Consulta de Genética, Hospital Pediátrico de Coimbra

² Unidade de Citogenética e Diagnóstico Pré-natal, Instituto de Biologia Médica, Faculdade de Medicina de Coimbra

³ Consulta de Endocrinologia, Hospital Pediátrico de Coimbra

Resumo

A delecção em 22q11.2 é responsável por quadros clínicos heterogéneos como os síndromas de DiGeorge e velocardiofacial e algumas cardiopatias congénitas.

Neste artigo descreve-se um caso clínico de hipocalcemia neonatal, sem cardiopatia congénita, em que a presença de baixa estatura e de dismorfismos faciais suscitou a pesquisa da delecção em 22q11.2 por hibridação *in situ* com fluorescência. Confirmou-se a presença da delecção referida, ausente nos progenitores, e documentou-se um défice imunitário celular no probando.

Discute-se o papel da delecção em 22q11.2 na etiologia de várias anomalias congénitas e as suas implicações para o aconselhamento genético e o diagnóstico pré-natal.

Palavras-Chave: Delecção em 22q11.2 – FISH – síndrome de DiGeorge – Síndrome velocardiofacial.

Summary

Microdeletion of chromosomal region 22q11.2 may be present in clinical heterogeneous situations as the DiGeorge and velocardiofacial syndromes and in some cardiovascular malformations.

In this paper we describe a patient with neonatal hypocalcaemia and no cardiac defect in whom the presence of short stature and dysmorphic features were the reason for looking at a 22q11.2 deletion by fluorescent *in situ* hybridization. This deletion was present, although absent in the parents, and a cellular immunodeficiency was confirmed in the proband.

We discuss the role of 22q11.2 deletion in the etiology of several congenital anomalies and its implications for genetic counselling and prenatal diagnosis.

Key-Words: Deletion of 22q11.2 – DiGeorge syndrome – FISH – velocardiofacial syndrome.

Introdução

A microdelecção de uma região de dois Mb em 22q11.2 foi recentemente identificada como a causa de um grupo heterogéneo de anomalias congénitas⁽¹⁾. É consensual que a delecção de 22q11.2 é responsável por 88% dos casos de síndrome de DiGeorge⁽²⁾, 76% dos casos de síndrome velocardiofacial⁽²⁾, 29% das cardiopatias congénitas do tipo conotruncal⁽³⁾ e 22,5% das cardiopatias congénitas complexas⁽⁴⁾. Numa tentativa de definir as características clínicas associadas à presença desta micro-delecção foi sugerida a utilização do acrónimo CATCH 22 (C-Cardiopatia, A-Anomalia da face, T-hipoplasia do Timo, C-Fenda palatina e H-Hipocalcemia)⁽¹⁾.

No entanto foram já descritos casos de outros tipos de anomalias congénitas na presença da delecção em 22q11.2 como por exemplo a associação de atresia laríngea e de cardiopatia congénita⁽⁵⁾ ou a de agenesia renal, displasia renal e anomalia de Mayer-Rokitanski-Küster⁽⁶⁾.

A pesquisa da delecção em 22q11.2 é assim imprescindível na investigação etiológica de um número crescente de anomalias congénitas e o caso clínico que seguidamente descrevemos é elucidativo deste facto.

Caso Clínico

O probando, do sexo masculino, é o segundo filho de um casal saudável e não consanguíneo, com idade materna de 25 anos e paterna de 26 aquando do nascimento. Tem uma irmã, actualmente com cinco anos de idade,

Entregue para publicação em 01/09/97.

Aceite para publicação em 12/11/97.

com estrabismo. A gravidez decorreu sem intercorrências conhecidas excepto a referência a uma menor mobilidade fetal e a um diagnóstico pré-natal ecográfico de dilatação píelica. O parto, às 39 semanas, foi de cesariana e os índices de Apgar foram de nove ao primeiro minuto e de 10 aos cinco e 10 minutos. Ao nascimento o peso era de 3.200 gramas (percentil 50).

No segundo dia de vida iniciou convulsões tendo sido diagnosticada e corrigida uma hipocalcemia. Os valores iniciais da calcemia eram de 1,7 mmol/L e de 1,25 mmol/L aquando de um agravamento clínico aos 18 dias de vida. O valor do fósforo sérico era então de 2,4 mmol/L e o da paratormona de 24 ng/L. Os outros parâmetros laboratoriais, hematológicos, bioquímicos, nomeadamente a concentração sérica do magnésio e a calciúria, e bacteriológicos foram normais, bem assim como a ecocardiografia e as ecografias transfontanelar, abdominal e renal.

Iniciou terapêutica com calcitriol e cálcio orais com normalização clínica e dos valores da calcemia. Suspendeu inicialmente os suplementos de cálcio e reduziu progressivamente a posologia do calcitriol, inicialmente 34 ng/kg/dia, para 25 ng/kg/dia (aos dois meses e duas semanas, quando tinha valores séricos de cálcio de 2,3 mmol/L, de magnésio de 1,1 mmol/L, de fósforo de 2,2 mmol/L, de fosfatase alcalina de 416 U/L, de paratormona de 24,3 ng/L -12 a 72- e de calcitonina de 17,1 ng/L -0 a 30-, com valores normais de calciúria, taxa de reabsorção de fósforo e fracção de excreção de magnésio). Suspendeu o calcitriol aos três meses mantendo-se assintomático e com valores laboratoriais considerados normais nas reavaliações periódicas.

O comprimento evoluiu sempre abaixo e de forma paralela ao percentil cinco e foi constatada uma diarreia prolongada, tendo sido excluída má absorção. Esta situação teve uma boa resposta a uma prova terapêutica para o diagnóstico provável de giardíase.

Foi observado na Consulta de Genética do Hospital Pediátrico de Coimbra aos 26 meses de idade por baixa estatura e atraso na fala. Tinha uma estatura de 82 cm (inferior ao percentil cinco para a idade cronológica, percentil 50 dos 18 meses), um peso de 11,8 kg (percentil 25 para a idade cronológica, percentil 50 dos 20 meses) e um perímetro cefálico de 50 centímetros (percentil 50 para a idade cronológica).

Era uma criança com baixa estatura e macrocefalia relativa, com dolicocefalia, face longa, nariz proeminente com a base elevada e quadrangular, as asas do nariz estreitas e micrognatia (Figura 1), rotação posterior dos pavilhões auriculares com forma circular por sobre-enrolamento das hélices superiores e aumento do diâmetro antero-posterior (Figura 2), sem outros dismorfismos. Não havia outras alterações ao exame objectivo. Cum-

pria os parâmetros dos 24 a 30 meses de idade em todas as áreas excepto nas da visão (18 meses) e falta e linguagem (15 meses).



FIG. 1 – Fotografia do probando onde se observa uma face longa, o nariz proeminente com a base elevada e quadrangular e as asas do nariz estreitas e micrognatia.

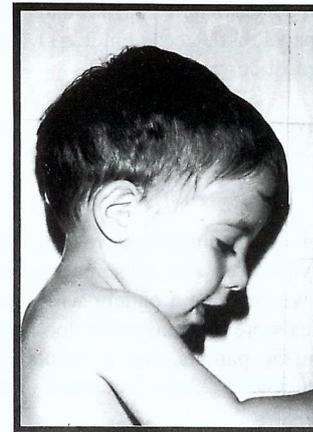


FIG. 2 – Fotografia do probando onde se constata a presença de rotação posterior dos pavilhões auriculares com forma circular por sobre-enrolamento das hélices superiores e aumento do seu diâmetro antero-posterior.

A reavaliação cardiológica foi de novo normal, a ecografia renal não confirmou a presença de alterações, o hemograma evidenciou a presença de leucopenia (4.660×10^6 leucócitos/L, com 1.870×10^6 linfócitos/L e 2.160×10^6 neutrófilos/L), a avaliação da imunidade humoral (IgA 0,18g/L, IgG 5,9g/L, IgM 0,92g/L, IgE 12,7 kU/L, IgG₁ 4,2g/L, IgG₂ 0,9g/L, IgG₃ 0,31g/L e IgG₄ 0,21g/L) foi normal, bem assim como os parâmetros bioquímicos (calcemia 2,0 mmol/L, fósforo sérico 1,4 mmol/L, paratormona 21,7 ng/L) e a avaliação da imunidade celular concluiu pela presença de défice imunitário celular (CD3 953, CD4 671, CD8 280, CD19 710 e CD56 187).

A técnica de citogenética molecular usada para confirmar ou excluir a delecção da região 22q11.2 foi a hibridação *in situ* com fluorescência (FISH). Foram uti-

lizadas simultaneamente duas sondas de DNA marcadas com digoxigenina. Uma delas (D22S39) funciona como controlo para o cromossoma 22 (22q13.3) enquanto a outra (D22S75) é específica para a região crítica do cromossoma 22 associada entre outros ao síndrome de DiGeorge. A hibridação foi efectuada em cromossomas em metafase obtidos a partir de linfócitos de sangue periférico e de acordo com o método recomendado pelo fornecedor (Oncor). As metafases foram fotografadas com um filme Kodak a cores 400 ASA num microscópio Nikon de fluorescência equipado com uma combinação de filtros apropriada. A presença da delecção em 22q11.2 foi comprovada no probando (Figura 3a) sendo negativa num controlo (Figura 3b). A pesquisa da delecção 22q11.2 utilizando a mesma metodologia foi negativa nos progenitores.

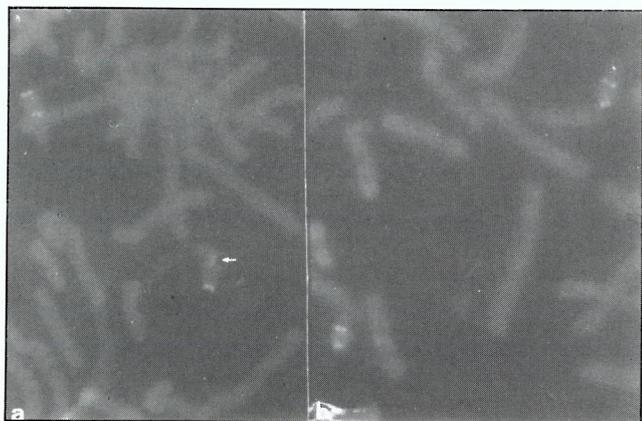


FIG. 3 – FISH com as sondas D22S75 e D22S39 específicas respectivamente das regiões 22q11.2 e 22q13.3 (região de controlo) em placas metafásicas de **a** o doente com uma microdelecção – apenas um dos cromossomas 22 tem hibridação com as sondas específicas das regiões 22q11.2 e 22q13.3, enquanto no outro cromossoma 22 não ocorreu a hibridação com a sonda mais proximal específica da região 22q11.2 (->), e **b** um controlo normal – ambos os cromossomas têm sinais de hibridação com as sondas específicas de 22q11.2 e de 22q13.3.

Estamos pois perante um caso em que a delecção 22q11.2 originou alterações fenotípicas comuns ao síndrome de DiGeorge e ao síndrome velocardiocfacial (hipocalcemia, atraso de desenvolvimento), outras específicas do primeiro (deficiência da imunidade celular e conformação dos pavilhões auriculares) e ainda outras consideradas características do segundo (baixa estatura, micrognatia e morfologia do nariz). Ao preencher os critérios de diagnóstico de ambas as situações é um bom exemplo da variabilidade clínica que pode resultar da presença da delecção 22q11.2.

Os pais foram esclarecidos do diagnóstico, do risco de recorrência provavelmente inferior a 1% em irmãos e de 50% em descendentes da criança, da grande variabi-

lidade dos problemas médicos associados à delecção em 22q11.2 e das possibilidades e limitações do diagnóstico pré-natal citogenético orientado desta situação.

Discussão

A delecção em 22q11.2 pode estar presente num grupo heterogéneo de anomalias congénitas, estendendo-se do síndrome de DiGeorge ao síndrome velocardiocfacial e a anomalias únicas.

O síndrome de DiGeorge caracteriza-se pela presença de três das quatro características seguintes: hipoplasia tímica, hipocalcemia, cardiopatias congénitas conotruncais e dismorfismos faciais ⁽⁷⁾. Há défice imunitário celular ou hipoplasia tímica em 87% das situações. A hipocalcemia está presente em 93% dos casos em que é investigada, surge geralmente no período neo-natal, excepcionalmente mais tarde, e tem resolução espontânea em 72% dos doentes. Noventa e cinco por cento dos indivíduos afectados tem cardiopatia congénita, maioritariamente interrupções do arco aórtico mas ocasionalmente hipoplasia do coração esquerdo. Os dismorfismos faciais são mais difíceis de quantificar. Deve ser valorizada a presença de telecanto, base do nariz larga e proeminente e inserção baixa e rotação posterior dos pavilhões auriculares. Nestes é particularmente relevante uma hipoplasia das hélices superiores concomitantemente com o aumento do diâmetro antero-posterior de que resulta uma forma circular. Podem estar presentes com alguma frequência outras características como surdez, anomalias renais, do palato e da faringe. Metade dos casos têm dificuldades de aprendizagem moderadas a graves.

Apesar da delecção em 22q11.2 estar presente em 88% dos casos de síndrome de DiGeorge ⁽²⁾, foram descritas situações com monossomia de 10p13, de 18q21 e de 17p13 ⁽²⁾.

O síndrome velocardiocfacial associa a presença de anomalias cardíacas, fenda palatina, dismorfismos faciais e dificuldades de aprendizagem ⁽⁸⁾. Foi inicialmente descrita como uma situação de hereditariedade autossómica dominante e desde logo foi reconhecida a grande variabilidade fenotípica. É provável que 13% das situações de sequência de Pierre Robin e 8% das de fenda palatina sem lábio leporino sejam casos de síndrome velocardiocfacial. Na maior casuística publicada ⁽⁸⁾ está referido que há dificuldades de aprendizagem em 99% dos casos, fenda palatina em 98%, hipotonia faríngea em 90%, hipoplasia do tecido linfóide em 83%, cardiopatias congénitas em 82%, geralmente uma comunicação interventricular ou uma tetralogia de Fallot, hipocalcemia em 20% e alterações psiquiátricas em 10%. Os dismorfismos faciais caracterizam-se por um nariz proeminente com a base quadrangular e as asas do nariz estreitas.

Podem também existir baixa estatura, em 33% dos casos, microcefalia, em 40%, sequência de Pierre Robin em 17% e hipospadias, em 10% dos indivíduos do sexo masculino. Ocasionalmente foram descritas outras anomalias, nomeadamente situações de estenose ou de atresia anal ⁽⁹⁾.

A semelhança de várias das características do síndrome velocardiofacial com as do síndrome de DiGeorge ocorre também com outras situações como a associação de CHARGE e pode tornar ocasionalmente difícil a classificação de um caso clínico. O exemplo anteriormente descrito é elucidativo da sobreposição das características de um e do outro síndrome. Nesta perspectiva o facto de poderem partilhar a delecção 22q11.2 torna este resultado citogenético irrelevante.

O poder de resolução da citogenética com bandas de alta resolução é de quatro Mb o que explica os resultados normais na maioria dos casos com os diagnósticos em discussão. A citogenética molecular, nomeadamente a utilização do método de FISH, é pois imprescindível para confirmar ou excluir a presença de microdelecções com dimensões avaliadas em 500 kb a dois Mb ⁽¹⁾.

A delecção 22q11.2 foi herdada de um dos progenitores em quatro dos 15 casos estudados de síndrome de DiGeorge, em todos eles a mãe ⁽⁷⁾. A mesma metodologia identificou duas delecções, ambas de origem materna, nos 14 casos de síndrome velocardiofacial avaliados ⁽¹⁰⁾. Nas situações de cardiopatias congénitas isoladas os dados actualmente disponíveis referem a identificação da delecção em dois dos progenitores, um de cada sexo, nos nove casos analisados ⁽⁴⁾.

Em casuísticas maiores a presença da delecção 22q11.2 foi identificada em apenas 8% dos progenitores dos probandos ⁽²⁾, independentemente do diagnóstico destes. Este facto permitiria a este grupo (com uma probabilidade de recorrência de 50%) a oferta de um diagnóstico pré-natal citogenético por FISH. No entanto apesar de já ter sido descrita a existência de um mosaicismo gonadal num dos progenitores ⁽¹⁾ a frequência desta situação é desconhecida. Este diagnóstico pré-natal orientado tem também indicação para ser realizado nas situações de diagnóstico pré-natal ecográfico de cardiopatias congénitas.

A presença da delecção em 22q11.2 no doente descrito permitiu confirmar a etiologia do quadro clínico e, em conjunto com a ausência da delecção referida nos progenitores, concluir por um risco de recorrência baixo em irmãos e de 50% em futuros descendentes do probando.

A maior dificuldade das delecções em 22q11.2 é a variabilidade fenotípica e a impossibilidade de estabele-

cer um prognóstico baseado apenas no resultado da citogenética molecular. Por um lado a possibilidade de ausência de manifestações fenotípicas valorizáveis torna obrigatório o estudo dos progenitores dos casos índice. Por outro a confirmação laboratorial da presença da delecção 22q11.2 em diagnóstico pré-natal pode esclarecer a etiologia de uma anomalia estrutural: ou confirmar a recorrência da situação numa gestação previamente identificada como de risco: mas em nenhuma destas situações permite prever o prognóstico do caso. Um resultado normal é tranquilizador mas um resultado que confirme a presença da delecção não pode ser valorizado isoladamente ^(2, 11).

BIBLIOGRAFIA

1. Dallapiccola B, Pizzuti A, Novelli G. How many breaks do we need to CATCH on 22q11.2? *Am J Hum Genet* 1996; 59: 7-11.
2. Driscoll DA, Salvin J, Sellinger B, Budarf ML, McDonald-McGinn DM, Zackai EH, et al. Prevalence of 22q11 microdeletions in DiGeorge and velocardiofacial syndromes: implications for genetic counselling and prenatal diagnosis. *J Med Genet* 1993; 30: 813-7.
3. Goldmuntz E, Driscoll D, Budarf ML, Zackai EH, McDonald-McGinn DM, Biegel JA, et al. Microdeletions of chromosomal region 22q11 in patients with congenital conotruncal cardiac defects. *J Med Genet* 1993; 30: 807-12.
4. Mehraein Y, Wippermann CF, Michel-Behnke I, Ngo TKN, Hillig U, Giersberg M, et al. Microdeletion 22q11 in complex cardiovascular malformations. *Hum Genet* 1997; 99: 433-42.
5. Fokstuen S, Bottani A, Medeiros PFV, Antonarakis SE, Stoll C, Schinzel A. Laryngeal atresia type III (glottic web) with 22q11.2 microdeletion: report of three patients. *Am J Med Genet* 1997; 70: 130-3.
6. Devriendt K, Moerman P, van Schoubroeck D, Vandenberghe K, Fryns JP. Chromosome 22q11 deletion presenting as the Potter sequence. *J Med Genet* 1997; 34: 423-5.
7. Wilson DI, Burn J, Scambler P, Goodship J. DiGeorge syndrome: part of CATCH 22. *J Med Genet* 1993; 30: 852-6.
8. Goldberg R, Motzkin B, Marion R, Scambler PJ, Shprintzen RJ. Velocardio-facial syndrome: a review of 120 patients. *Am J Med Genet* 1993; 45: 313-9.
9. Worthington S, Colley A, Fagan K, Dai K, Lipson AH. Anal anomalies: an uncommon feature of velocardiofacial (Shprintzen) syndrome? *J Med Genet* 1997; 34: 79-82.
10. Driscoll DA, Spinner NB, Budarf ML, McDonald-McGinn DM, Zackai EH, Goldberg RB, et al. Deletions and microdeletions of 22q11.2 in velo-cardio-facial syndrome. *Am J Med Genet* 1992; 44: 261-8.
11. van Hemel JO, Schaap C, van Opstal D, Mulder MP, Niermeijer MF, Meijers JHC. Recurrence of DiGeorge syndrome: prenatal detection by FISH of a molecular 22q11 deletion. *J Med Genet* 1995; 32: 657-8.

Correspondência: Dr. Jorge M. Saraiva
 Consulta de Genética
 Hospital Pediátrico de Coimbra
 Avenida Bissaya Barreto
 3000 COIMBRA
 Fax: 039-71 72 16
 Tel.: 039-48 03 23