

# MEPI

MESTRADO EM  
EPIDEMIOLOGIA

UNIVERSIDADE DO PORTO  
FACULDADE DE MEDICINA

Márcia de Pinho Martins

## **Regiões Subteloméricas dos Cromossomas: Os Finais (quase) Perfeitos.**

Porto, Fevereiro de 2010

## Resumo

O défice cognitivo (DC) afecta 1 a 3% da população geral e está associado a inúmeras causas, incluindo factores ambientais, anomalias cromossómicas e doenças monogénicas. Actualmente a etiologia ainda permanece desconhecida num número significativo de doentes, podendo atingir 50% nalgumas séries. As anomalias cromossómicas são a causa mais frequente de défice cognitivo e os rearranjos nas regiões subteloméricas, ricas em genes, são uma das principais causas de anomalias congénitas múltiplas e atraso mental, sendo detectados em 5% destes doentes.

Os rearranjos subteloméricos são indetectáveis pelas técnicas convencionais de bandagem cromossómica, quer pelo seu tamanho submicroscópico quer pela similaridade dos segmentos envolvidos. Vários métodos têm vindo a ser desenvolvidos nos últimos anos para aumentar a taxa de detecção de anomalias cromossómicas subtis. Baseados em técnicas de *FISH* (hibridação fluorescente *in situ*), *PCR* ( reacção da polimerase em cadeia) e, mais recentemente, em *microarrays*, os estudos que inicialmente eram dirigidos às regiões subteloméricas, rapidamente se desenvolveram de modo a abranger a totalidade do genoma.

Diversos trabalhos publicados atestam a utilidade dos exames de citogenética molecular no estudo destes doentes, começando agora a serem elucidados os mecanismos envolvidos na formação de rearranjos subteloméricos.

O presente trabalho teve como principal objectivo estudar doentes com atraso mental idiopático, associado a características dismórficas e/ou malformações congénitas e/ou história familiar de atraso mental, na população de Trás-os-Montes, por técnica *FISH*. Foram estudados doentes que frequentam a consulta de Genética do Centro Hospitalar de Trás-os-Montes e Alto Douro, com DC de causa não determinada que, tendo sido submetidos a todas as análises genéticas protocoladas na investigação de um atraso mental (cariótipo com bandas GTG de alta resolução, estudo molecular X-frágil e, em alguns casos, estudo metabólico, imagiologia cerebral e outros), permaneciam sem diagnóstico etiológico. A maioria foi seleccionada com base na *checklist* publicada por De Vries.

O grupo em estudo incluiu 97 doentes, 61 do sexo masculino e 36 do sexo feminino e a idade dos doentes à data de diagnóstico variou entre 0.1 – 62.3 anos.

Todos os doentes apresentavam DC classificado como ligeiro em 33 casos, moderado em 53 casos, grave em dez casos e profundo num. Existia história familiar de

DC/anomalias em cerca de 70% dos casos (68/91) e 86 doentes eram portadores de duas ou mais dismorfias (88%). Em 60 havia história de atraso de crescimento pré e/ou pós natal (62%).

Em seis doentes foram identificadas anomalias cromossómicas crípticas (6,19%), 4 de novo (3 deleções - 19p, 2p e 4q e uma duplicação 4p) e 2 casos familiares (deleção 3p e deleção 3q). A distribuição do *score* destes doentes (na *checklist*) foi a seguinte: 7- um caso, 5 - um caso, 4 - dois dos casos e 3 - dois casos.

Foi efectuada comparação estatística entre o subgrupo de portadores de rearranjos subteloméricos (3 do sexo masculino e 3 do feminino) e os restantes 91 com estudo normal (58 do sexo masculino e 33) que funcionou, para este efeito, como grupo controle.

Observou-se uma maior percentagem de casos com história familiar positiva de atraso mental no grupo de portadores de rearranjos subteloméricos (n=5; 83.3%), comparativamente ao grupo controle (n=63; 69.2%). Contudo, a análise estatística inferencial não permite afirmar que a incidência de história familiar de atraso mental seja um factor determinante.

No grupo de portadores de rearranjos subteloméricos não se encontraram casos de atraso mental grave ou profundo, verificaram-se 4 (66.7%) casos de atraso mental moderado e 2 (33.3%) de atraso mental ligeiro.

Numerosos estudos demonstram que desequilíbrios genómicos nas regiões subteloméricas contribuem significativamente para o DC/anomalias congénitas. Os resultados obtidos neste trabalho estão de acordo com a literatura e permitem-nos concluir que o rastreio anomalias subteloméricas por FISH melhora a capacidade diagnóstica quando uma deleção terminal citogenética é a responsável pelo fenótipo. Além disso, o diagnóstico de um rearranjo subtelomérico tem um impacto imediato sobre o aconselhamento genético, particularmente no caso dos rearranjos familiares. Esta continuará a ser uma ferramenta útil, até o cariótipo molecular tornar-se corrente e financeiramente viável na prática clínica.

## **Abstract**

Mental retardation (MR) affects between 1 to 3% of the general population and is associated with several causes including environmental factors, chromosomal abnormalities and monogenic diseases. The underlying cause remains unknown in up to 50% of patients. Chromosomal abnormalities are the most common known cause of mental retardation and rearrangements in the gene rich subtelomeric regions, are a major cause of multiple congenital anomalies and mental retardation, detected in 5% of these patients.

Subtelomeric rearrangements are undetectable by conventional techniques of chromosome banding, due to submicroscopic size or the similarity of the segments involved. Several methods based on FISH (fluorescent *in situ* hybridization), PCR (polymerase chain reaction) and array techniques have been developed over recent years to increase detection rate of subtle aneusomies. Initially targeted to the gene rich subtelomeric regions and currently and rapidly becoming genome wide.

Many studies in the literature confirmed the utility of molecular-cytogenetic screening in patients with MR/MCM and the mechanisms involved in the formation of subtelomeric rearrangements are now beginning to be elucidated.

The objective of this work was to study patients with idiopathic mental retardation associated with dysmorphic features and/or birth defects and/or family history of mental retardation from Trás-os-Montes region of Portugal, using FISH methodology. We studied patients referred to Genetics Outpatient Clinics of Centro Hospitalar de Trás-os-Montes e Alto Douro, with idiopathic mental retardation, with or without positive family history and with or without congenital abnormalities. All patients had previous normal investigation including normal 550 band karyotype and fragile X molecular testing in all cases, as well as metabolic testing, neuroimaging and other studies in particular cases. The patient selection was based in De Vries checklist.

Ninety seven patients, 61 males and 36 females, aged 0.1 to 62.3 years were recruited. All of them presented mental retardation classified as mild in 33 cases, moderate in 53, severe in 10 and profound in one case. There was family history of mental retardation in 70% of the cases (68/91). Eighty six patients presented at least 2 dysmorphisms at physical examination. In 60 cases there was also report of prenatal and/or post natal growth restriction (62%).

Six cryptic chromosomal anomalies have been identified in the cohort (6,19%), 3 *de novo* deletions (19p, 2p e 4q) and one *de novo* duplication (4p) and two familial cases (one deletion 3p and one 3q). These patients scored as follows in the checklist: 7 - one case, 5 - one case, 4 - two cases and 3 - two cases.

Statistic comparative studies were performed between the subgroup with cryptic anomalies (3 males and 3 females) and the remaining 91 patients (58 males and 33 females) considered as control group for this purpose.

There was a higher percentage of cases with positive family history of mental retardation in the group with cryptic chromosomal abnormalities (n=5; 83.3%), compared to the control group (n=63; 69.2%). However, inferential statistical analysis did not show that the incidence of family history of mental retardation was an important factor. Four patients with subtelomeric anomalies (66.7%) presented moderate mental retardation and two (33.3%) showed mild mental retardation.

As many studies demonstrated, genomic imbalances at subtelomeric regions contribute significantly to mental retardation/congenital anomalies. Our results are in agreement with the literature and allowed us to conclude that, screening subtelomeric anomalies by FISH improves the diagnostic ability when a terminal deletion is responsible for the phenotype. Subtelomeric screening by FISH enhances diagnostic yield when a cytogenetic terminal deletion is found. Furthermore, the diagnosis of a subtelomeric rearrangement has an immediate impact on genetic counseling, particularly in the case of familial rearrangements.

We share the conviction that FISH is still a very useful screening tool until molecular karyotyping becomes current and financially feasible in the clinical practice.