



UNIVERSIDADE DA BEIRA INTERIOR

Ciências da Saúde

**Caracterização clínica e molecular de um caso de
síndrome de hipoparatiroidismo, surdez e
displasia renal**

Marisa João Horta Ferreira

Dissertação para obtenção do Grau de Mestre em

Medicina

(ciclo de estudos integrado)

Orientador: Professor Doutor Manuel Carlos Loureiro de Lemos

Coorientador: Dr. Carlos Alberto Lino Antunes

Covilhã, agosto de 2017

Pensamento

“Nunca pensei ter uma médica na família.”

Guilhermina Horta

Dedicatória

Quando vi este capítulo, indaguei se me estariam a solicitar a quem dedicaria a tese, ou o que esta significa: o culminar de muitos anos a perseguir um sonho, ser médica. Porque, se pode ser difícil escolher a quem dedicar uma tese, é muito mais difícil escolher a quem dedicar um sonho. Ora, paradoxalmente, deparo-me com uma facilidade inesperada, antes de o começar, se um dia o alcançasse, já teria dono esta dedicatória.

Razões? Só uma: porque lhe pertence, desde sempre. Desde todas as adversidades que lhe foram impostas, desde que passou com distinção pelas mãos daqueles de que um dia serei colega, desde que me ensinou a ser menina, moça e mulher, e nunca desistir de nada. Não que a vida lhe tenha ensinado isso, a vida apenas não lhe permitiu que optasse, impôs-se no seu caminho como que a obrigar a nunca poder desistir.

E se abdicou do seu bem-estar em prol do meu - também seu - sonho, eu não abduco desta página para si. E é pouco o espaço para poder dizer tudo o que merece, também não seria aqui que poderia fazer toda a demonstração de Amor que lhe pertence. Nem o espaço seria suficiente, nem o que sinto se explica só em palavras. Teria que inventar outras palavras, ou reinventar as que existem para descrever o que sinto: porque no meio do AMOR, está o M de Mãe.

Dedico-lhe esta etapa da minha vida. Muitas outras virão. Sei que as vai merecer também, pois sei que estará tão presente, como esteve nesta. Viveu-a na própria pessoa tantas vezes quantas eu vivi. Sonhou com este dia, talvez outras tantas vezes, e acredito que por vezes o imaginou mais do quem o vive na própria pele.

Por isto, por tudo o que ficou por dizer, pelos abraços que se tiveram que transformar em virtuais, pelas ausências prolongadas, pela falta de atenção que lhe é mais que devida, pelas palavras ásperas que por vezes saíram, pela troca do seu colo por outros, pelas lágrimas que ouviu e tentou limpar, pelo choro do seu coração tantas vezes em silêncio... pelos pulos de alegria nas conquistas, pela força que me deu nos momentos de incerteza, pelo apoio e crença quando eu por momentos deixei de acreditar, pelas suas tão sempre fortes palavras e pela frase que sempre a acompanha e me dá força: “filha tudo se faz”.

Este curso é-te dedicado a ti, Mãe Narcisa.

E porque há um espacinho (enorme!) para vocês no meu coração e nesta folha de papel, ao meu irmão Eurico e à minha avó Guilhermina.

Agradecimentos

Quero agradecer a todos os que tornaram esta tese possível.

Ao professor Manuel Lemos pelo seu apoio e acima de tudo compreensão, pelos meus atrasos e por ter acreditado em mim, há muitos anos atrás. Pelo seu sempre sorriso, e entusiasmo com que muitas vezes encara as adversidades. Obrigado por ser um exemplo a seguir e alguém a admirar pelo trabalho que tem desempenhado em prol desta faculdade e da ciência, dentro da qual a Medicina. Obrigada por tudo professor.

Ao Dr. Carlos Lino pela sua disponibilidade e entusiasmo sempre que foi solicitada a sua colaboração.

À minha família que sempre me apoiou nos momentos difíceis e me ajudou a celebrar quando estes foram de felicidade. O meu sincero Obrigada!

Aos meus amigos, alguns que considero família, e que me têm acompanhado neste percurso com um sorriso de admiração e de companheirismo admirável. Vocês têm sido o meu pilar, o meu porto de abrigo nesta longa caminhada. Muito Obrigada!

Aos meus colegas/amigos de trabalho que estiveram presentes na difícil tarefa de manter a fagulha do profissionalismo sempre elevada, quando decidi ingressar nesta aventura. Sem vocês, o vosso apoio, a vossa presença, compreensão e muitas vezes incentivo, nada disto seria possível. Obrigada amigos, outrora colegas de trabalho!

Aos meus colegas, agora amigos, de turma, rotação, estágio que me integraram quando caí de pára-quadras no meio de um grupo já formado e do qual agora faço parte. Obrigada por me acolherem!

A todos os que de alguma forma cruzaram este meu caminho e determinaram um pouco da médica que serei, pelos vossos exemplos de profissionalismo: professores, médicos, colegas e demais profissionais.

Resumo

Introdução: A síndrome de hipoparatiroidismo, surdez e displasia renal (HDR - *Hypoparathyroidism, Deafness and Renal dysplasia*) é uma endocrinopatia autossômica dominante com origem em mutações inativadoras do gene *GATA3* (*GATA binding protein 3*). O gene *GATA3*, localizado no cromossoma 10p14-15, codifica um fator de transcrição que regula a expressão de genes envolvidos no desenvolvimento embrionário. A síndrome HDR é muito rara, havendo apenas cerca de 100 famílias descritas na literatura mundial.

Doentes e métodos: Estudou-se um doente do sexo masculino com hipoparatiroidismo primário diagnosticado aos 51 anos de idade na sequência da investigação de uma crise convulsiva por hipocalcémia. Apresentava ainda uma insuficiência renal crónica de estadio 3b, de duração indeterminada, e uma surdez neurosensorial congénita. Como antecedentes familiares, apresentava o pai com surdez congénita, falecido aos 69 anos de idade com insuficiência renal. Para o estudo genético procedeu-se ao isolamento do ácido desoxirribonucleico (DNA) genómico do *propositus*, à amplificação dos exões 2 a 6 do gene *GATA3* por reação de polimerização em cadeia (PCR) e à análise das respetivas sequências por sequenciação automatizada.

Resultados: A sequenciação do gene *GATA3* revelou uma inserção de quatro nucleótidos (CAAG), no exão 3, entre as posições 357 e 358 da sequência do respetivo DNA complementar (cDNA) (c.357_358insCAAG). Esta mutação estava presente em heterozigotia e foi confirmada através da análise de heteroduplexes.

Discussão e conclusão: A mutação c.357_358insCAAG, identificada no gene *GATA3*, condiciona uma alteração do tipo *frameshift* com a introdução de um codão de terminação prematuro e produção de uma proteína truncada. A haploinsuficiência, decorrente da perda funcional de um dos alelos *GATA3*, tem como consequência provável a alteração da transcrição de genes importantes para o desenvolvimento das paratiróides, rins e ouvido interno. Esta mutação, até ao momento atual, ainda não se encontra descrita e alarga o espectro de mutações implicadas em casos de síndrome HDR.

Palavras-chave: síndrome HDR; gene *GATA3*; mutação; endocrinologia; genética

Abstract

Introduction: The Hypoparathyroidism, Deafness and Renal dysplasia (HDR) syndrome is an autosomal dominant endocrinopathy caused by inactivating mutations in the *GATA3* gene. The *GATA3* gene which is located on chromosome 10p14-15 and encodes a transcription factor that regulates the expression of genes involved in embryonic development. The HDR syndrome is very rare with only about 100 families reported in the literature.

Patients and methods: We studied a man with primary hypoparathyroidism diagnosed at 51 years of age, after the investigation of a seizure crisis due to hypocalcaemia. He also presented a stage 3b chronic kidney disease, and a neurosensorial congenital deafness. As family history, his father presented congenital deafness, and died at 69 years of age with chronic kidney disease. For the genetic study, we proceeded to the isolation of genomic deoxyribonucleic acid (DNA) of the patient, the amplification of exons 2 to 6 of the *GATA3* gene by polymerase chain reaction (PCR) and analysis of the sequences by automated sequencing.

Results: The sequencing of the *GATA3* gene showed an insertion of four nucleotides (CAAG) in exon 3, between the positions 357 and 358 of the cDNA sequence (c.357_358insCAAG). This mutation was present in heterozygosity and was confirmed by analysis of heteroduplexes.

Discussion and conclusion: The c.357_358insCAAG mutation, identified in the *GATA3* gene, determines a frameshift change with the introduction of a premature termination codon and the production of a truncated protein. The haploinsufficiency due to functional loss of one *GATA3* allele is likely to change the transcription of genes important for the development of the parathyroids, kidneys and inner ear. This mutation, until now, has not yet been described and extends the spectrum of mutations involved in cases of HDR syndrome.

Keywords: HDR syndrome; *GATA3* gene; mutation; endocrinology; genetics

Índice

Pensamento.....	II
Dedicatória	III
Agradecimentos.....	IV
Resumo	V
Abstract	VI
Índice	VII
Lista de figuras.....	VIII
Lista de tabelas	IX
Lista de abreviaturas.....	X
1. Introdução	1
2. Materiais e métodos	4
2.1 Caracterização clínica.....	4
2.2 Caracterização molecular	8
2.2.1 Isolamento de DNA	8
2.2.2 Amplificação do gene <i>GATA3</i>	8
2.2.3 Sequenciação do gene <i>GATA3</i>	10
2.2.4 Análise de heteroduplexes de DNA	10
3. Resultados	12
4. Discussão e conclusões	15
4.1 Caracterização da mutação	15
4.2 Caracterização do hipoparatiroidismo.....	16
4.3 Caracterização da surdez.....	17
4.4 Caracterização das alterações renais.....	17
4.5 Variabilidade fenotípica	18
4.6 Correlação genótipo-fenótipo.....	18
4.7 Diagnóstico molecular e aconselhamento genético	20
4.8 Tratamento e seguimento dos doentes.....	20
4.9 Conclusões	21
5. Bibliografia	22
6. Anexos.....	26
Anexo I. Autorização de reprodução de imagem - Figura 1	27
Anexo II. Autorização de reprodução de imagem - Figura 2	28
Anexo III. Autorização de reprodução de tabela - Tabela IV	29
Anexo IV. Síntese do <i>Curriculum Vitae</i>	30

Lista de figuras

Figura 1	Representação esquemática do braço curto (p) do cromossoma 10 onde se encontra o gene <i>GATA3</i> responsável pela síndrome HDR	2
Figura 2	Representação esquemática da estrutura do gene <i>GATA3</i>	3
Figura 3	Heredograma da família do doente	4
Figura 4	Audiograma	5
Figura 5	Imagem de TC-CE	6
Figura 6	Imagem de ecografia renal	7
Figura 7	Representação do gene <i>GATA3</i> e localização dos <i>primers</i> utilizados na PCR e sequenciação	8
Figura 8	Eletroferograma correspondente à sequenciação do exão 3 do gene <i>GATA3</i> com identificação da mutação por sequenciação do DNA	12
Figura 9	Representação esquemática do gene <i>GATA3</i> e da posição da mutação encontrada no exão 3	13
Figura 10	Deteção da mutação por análise de heteroduplexes de DNA	13
Figura 11	Exclusão da mutação por análise de heteroduplexes de DNA em controlos saudáveis	14

Lista de tabelas

Tabela I	Doseamentos séricos do doente.....	6
Tabela II	<i>Primers</i> utilizados na amplificação dos exões do gene <i>GATA3</i>	9
Tabela III	Reagentes utilizados na amplificação do gene <i>GATA3</i>	10
Tabela IV	Características fenotípicas presentes em casos de síndrome HDR.....	19

Lista de abreviaturas

- A - adenina
C - citosina
°C - graus Celcius
cDNA - *complementary deoxyribonucleic acid* (ácido desoxirribonucleico complementar)
dL - decilitro
DNA - *deoxyribonucleic acid* (ácido desoxirribonucleico)
dNTPs - *deoxynucleotide triphosphates* (desoxirribonucleotídeos trifosfatos)
DPOC - doença pulmonar obstrutiva crónica
DRCT - doença renal crónica terminal
EDTA - *ethylenediamine tetraacetic acid* (ácido etilenodiamino tetra-acético)
EUA - Estados Unidos da América
FOG - *friends of GATA*
G - guanina
GATA3 - *GATA binding protein 3*
HDR - *Hypoparathyroidism Deafness and Renal dysplasia* (hipoparatiroidismo, surdez e displasia renal)
Kb - kilo bases
KCl - cloreto de potássio
LDH - lactato desidrogenase
mA - miliamperes
mg - miligramas
MgCl₂ - cloreto de magnésio
min - minuto
mL - mililitro
mM - milimolar
m² - metro quadrado
N/A - não aplicável
Ng - nanogramas
OMIM - *Online Mendelian Inheritance in Man*
p - braço curto cromossoma
pb - pares de bases
PCR - *polymerase chain reaction* (reação de polimerização em cadeia)
pg - picograma
PSA - persulfato de amónio
PTH - *parathyroid hormone* (paratormona)

RNA - *ribonucleic acid* (ácido ribonucleico)

T - timina

TA1 - domínio de transativação 1

TA2 - domínio de transativação 2

TC - tomografia computadorizada

TC-CE - tomografia computadorizada crânio-encefálica

Tris - tris(hidroximetil)aminometano

Tris-HCl - tris(hidroximetil)aminometano hidrocloreto

TSH - *thyroid-stimulating hormone* (hormona estimulante da tiróide)

TTGE - *temporal temperature gradient gel electrophoresis* (eletroforese em gel com gradiente de temperatura)

U - unidades

µg - micrograma

µM - micro molar

V - volt

VR - valores de referência

ZnF1 - *zinc finger 1*

ZnF2 - *zinc finger 2*

% - percentagem

1. Introdução

Em 1977, Barakat et al¹ descreveram o caso de dois irmãos com síndrome nefrótico, surdez neurosensorial e hipoparatiroidismo, cujo modo de transmissão parecia ser compatível com herança autossômica recessiva¹. Em 1992, Bilous et al² reconheceram a tríade de hipoparatiroidismo, surdez e displasia renal como uma entidade clínica, com herança autossômica dominante (*Online Mendelian Inheritance in Man* [OMIM] número 146255), com base na análise do padrão de transmissão da família em estudo². Esta entidade foi posteriormente nomeada de síndrome de hipoparatiroidismo, surdez e displasia renal (HDR - *Hypoparathyroidism, Deafness and Renal dysplasia*) por Hasegawa et al³. Foram entretanto sendo descritos vários casos da síndrome HDR⁴⁻⁶, até que Van Esch et al⁷ propuseram o gene *GATA3* (*GATA binding protein 3*) (OMIM 13120), como estando na origem desta síndrome. Os investigadores concluíram, após caracterização clínica e molecular de várias famílias portadoras desta tríade, que a haploinsuficiência do gene *GATA3* causava a síndrome HDR⁷.

A síndrome HDR é uma endocrinopatia autossômica dominante rara caracterizada pela tríade clássica de hipoparatiroidismo, surdez e displasia renal, no entanto as características clínicas dos doentes são bastante variáveis, mesmo dentro da mesma família⁸. Além disso, ainda não foi demonstrada uma correlação genótipo-fenótipo nos doentes com a síndrome HDR. Esta variabilidade e falta de associação genótipo-fenótipo podem ser explicadas por funções redundantes ou compensatórias das proteínas GATA⁹.

Clinicamente, o hipoparatiroidismo é caracterizado por baixos níveis séricos de cálcio como o resultado de uma secreção deficitária da paratormona (PTH - *parathyroid hormone*). Os níveis séricos de PTH dos doentes com HDR variam desde baixos a indetetáveis. Isto conduz quer a manifestações subclínicas, quer a manifestações sintomáticas como convulsões por hipocalcémia, depósitos de cálcio e desmineralização óssea.

A surdez presente nos doentes com HDR é do tipo neurosensorial, bilateral e presente à nascença. A perda auditiva é mais marcada para as altas frequências e a gravidade varia desde moderada a grave, com necessidade de recurso a aparelhos auditivos, incluindo implante coclear em casos selecionados¹⁰.

As alterações renais observadas nos doentes HDR pertencem a um amplo espectro que incluem quer malformações anatómicas, como displasia, hipoplasia, doença renal quística, deformidade pélvico-calicial, refluxo vesico-ureteral e agenesia renal, quer alterações funcionais como proteinúria, hematúria, acidose tubular renal distal e proximal, e nefrocalcinose^{10,11}.

O gene *GATA3* localiza-se no cromossoma 10p14-15 (Figura 1), tem 20 kilo bases (kb) de comprimento e é constituído por 6 exões que se estendem ao longo de 1332 pares de bases (pb), espaçados por intrões de tamanho similar¹².

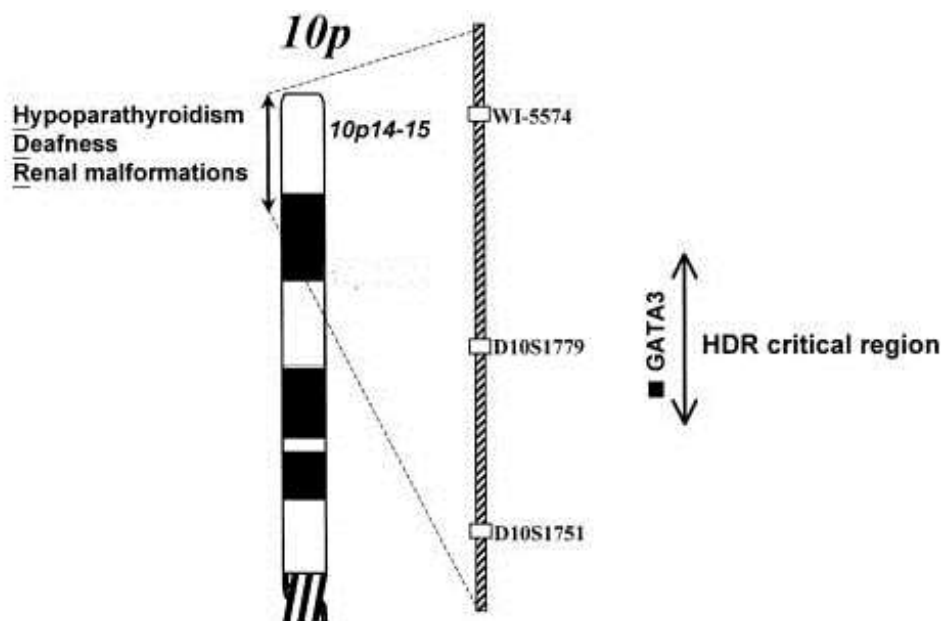


Figura 1. Representação esquemática do braço curto (p) do cromossoma 10 onde se encontra o gene *GATA3* responsável pela síndrome HDR (*Hypoparathyroidism, Deafness and Renal dysplasia*). Não desenhado à escala. Reproduzido e adaptado de H.Van Esch and K. Devriendt¹⁰ com autorização (ANEXO I).

Este gene codifica um fator de transcrição com 444 aminoácidos, que pertence a uma família de fatores de transcrição que contêm dois domínios *zinc finger* (ZnF) e dois domínios de transativação (TA1, TA2) (Figura 2)¹². O *zinc finger* C-terminal (ZnF2) é essencial para a ligação do DNA, enquanto o *zinc finger* N-terminal (ZnF1) ajuda a estabilizar esta ligação e interage diretamente com outras proteínas com múltiplos domínios *zinc finger*, denominadas *Friends of GATA* (FOG)¹³.

Esta família de fatores de transcrição, seis identificados até à data (GATA 1-6), está envolvida no desenvolvimento embrionário dos vertebrados¹⁴. O fator de transcrição *GATA3* é expresso nas glândulas paratiróides em desenvolvimento, ouvido interno, ducto coletor, mesângio glomerular, cristalino, sistema nervoso central, timo e linfócitos T, sendo que o mesmo é então essencial para o desenvolvimento embrionário das paratiróides, sistema auditivo e rins^{12,15}.

Os produtos de expressão do gene *GATA3* podem ser encontrados em vários órgãos a partir das 4 semanas de gestação, e estes produtos são consistentemente encontrados nos rins, vesículas auditivas e glândulas paratiróides, todos eles envolvidos na tríade que caracteriza a síndrome HDR¹⁵.

Este estudo teve como objetivo a caracterização clínica e molecular de um doente com suspeita clínica de síndrome de hipoparatiroidismo, surdez e displasia renal.

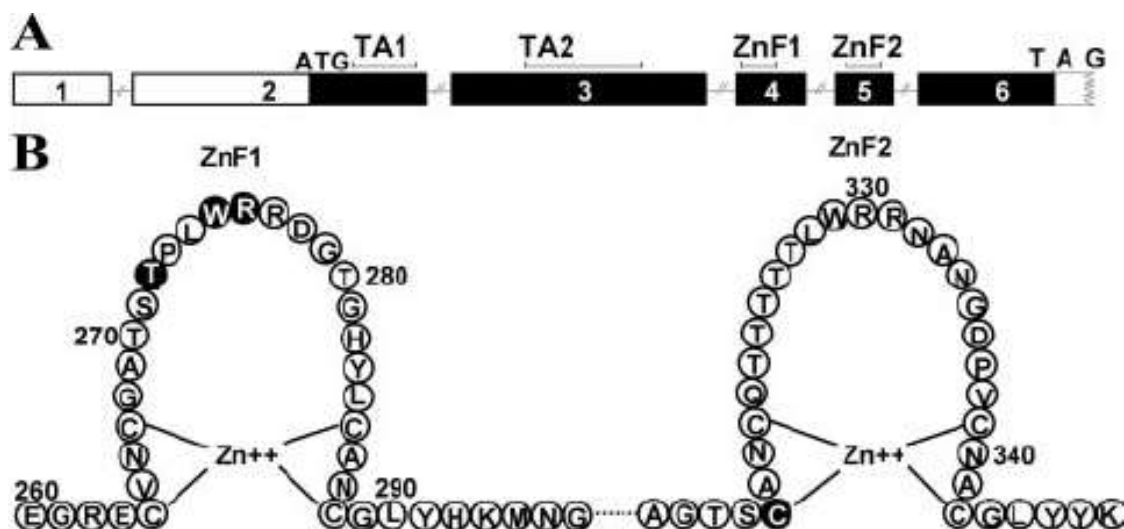


Figura 2. Representação esquemática da estrutura do gene *GATA3* (*GATA binding protein 3*), com a respetiva sequência de aminoácidos, mostrando os 6 exões (numeração 1 a 6), a localização do codão de iniciação (ATG) e de terminação (TAG), os domínios de transativação (TA1 e TA2), e os domínios *zinc finger* (ZnF1 e ZnF2). A) O *GATA3* humano está localizado no cromossoma 10p14-15 e consiste em 6 exões (188, 610, 537, 146, 126, e 806 pb) que se estendem por 20 kb de DNA genómico. Codifica um fator de transcrição de 444 aminoácidos que contém dois domínios *zinc finger* (ZnF1 e ZnF2) e dois domínios de transativação (TA1 e TA2)¹⁶. B) Pormenor dos domínios *zinc finger*. As sequências nas proteínas *GATA* dos mamíferos contêm uma estrutura Cis-X2-Cis-X17-Cis-X2-Cis (onde X representa um qualquer aminoácido), onde um resíduo de zinco é coordenado por 4 resíduos de cisteína¹⁷. A sua estrutura terciária revela duas folhas β anti-paralelas, uma α hélice e um longo *loop*. A α hélice liga-se ao sulco maior do DNA. No *GATA3*, o ZnF2 é essencial para a ligação do fator de transcrição à sequência consenso (A/T) GATA (A/G) na região promotora do gene alvo, enquanto o ZnF1 pensa-se que estabiliza esta ligação através da interação com outro co-fator, denominado FOG2 (*Friend of GATA, 2*)^{8,13}. O nome *GATA* deriva desta ligação do fator à sequência consenso GATA. Reproduzido e adaptado de Gaynor et al¹⁶ com autorização (ANEXO II).

2. Materiais e métodos

2.1 Caracterização clínica

Um doente de 51 anos, do sexo masculino, recorreu ao serviço de urgência do Centro Hospitalar Cova da Beira por um quadro de crises convulsivas de repetição, desta vez acompanhado de perda de consciência. O doente era serralheiro de profissão, casado (Figura 3), fumador, com antecedentes pessoais de cataratas, surdez bilateral congénita (Figura 4), bócio multinodular e cirurgia a nódulo autónomo da tiróide (lobectomia tiroideia direita com istmectomia), insuficiência renal ligeira, episódios de convulsões e doença pulmonar obstrutiva crónica (DPOC) com suspeita de neoplasia do pulmão em estudo há um ano. Como antecedentes familiares, referia o pai com surdez congénita, falecido aos 69 anos de idade por doença renal crónica terminal (DRCT). Não tinha irmãos e tinha um filho aparentemente saudável e sem clínica sugestiva de síndrome HDR (Figura 3).

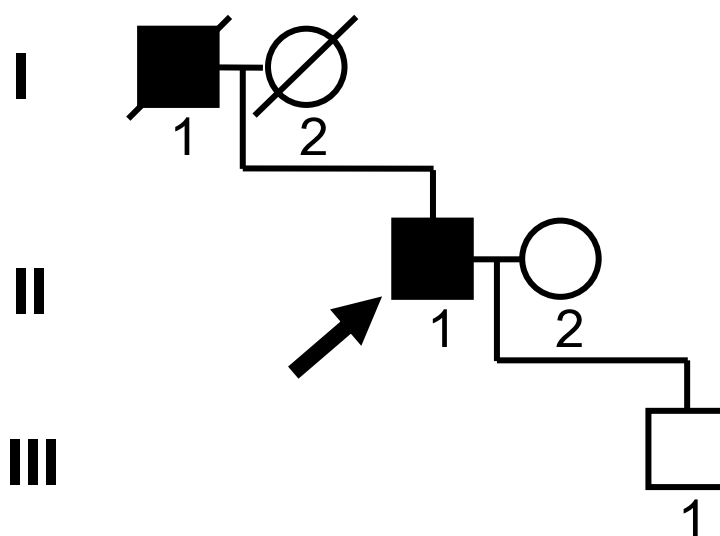


Figura 3. Heredograma da família do doente. A família apresenta dois membros afetados pela síndrome HDR, de transmissão autossómica dominante: o pai, falecido aos 69 anos com doença renal crónica terminal (I-1), e o doente em estudo (II-1) indicado por uma seta. Legenda: Quadrados - indivíduos do sexo masculino; Círculos - indivíduos do sexo feminino; Símbolos preenchidos - indivíduos afetados; Símbolos abertos - indivíduos saudáveis; Símbolos com traço - indivíduos falecidos.

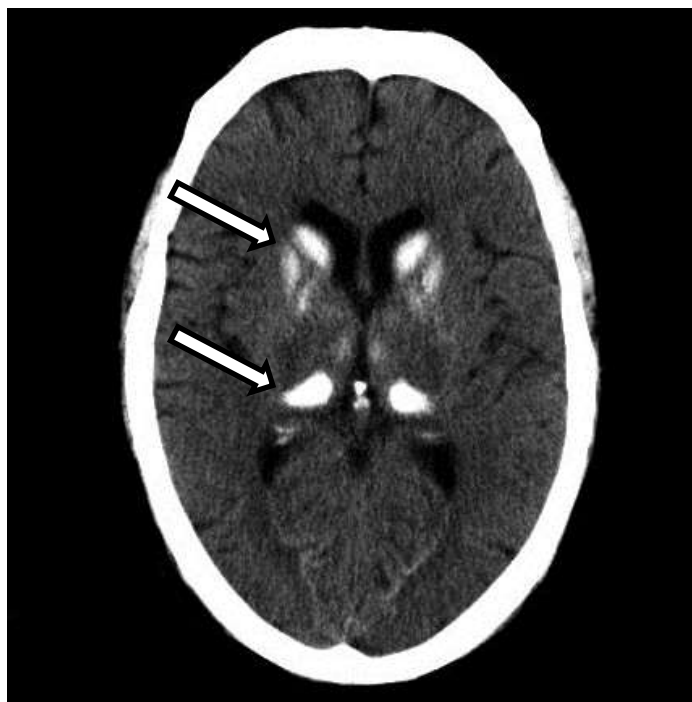


Figura 5. Imagem sagital de tomografia computadorizada crânio-encefálica (TC-CE) onde se visualizam calcificações dos núcleos da base e tálamo (setas), bilaterais e simétricas, traduzindo o distúrbio metabólico do hipoparatiroidismo.

Tabela I. Doseamentos séricos do doente

Parâmetro	Resultado	Unidades	Valores de referência (VR)
Cálcio total	4,2	mg/dL	8,4-10,2
Fósforo	6,6	mg/dL	2,5-4,6
Paratormona (PTH)	8,0	pg/dL	9-72
Creatinina	2,1	mg/dL	0,6-1,3
Ureia	60	mg/dL	15-50
Taxa de filtração glomerular	39	mL/min/1,73m ²	100-120

Valores de referência utilizados pelo serviço de patologia clínica do Centro Hospitalar Cova da Beira à data de realização dos doseamentos. Legenda: mg - miligrama; dL - decilitro; pg - picograma; min - minuto; mL - mililitro; m² - metro quadrado.

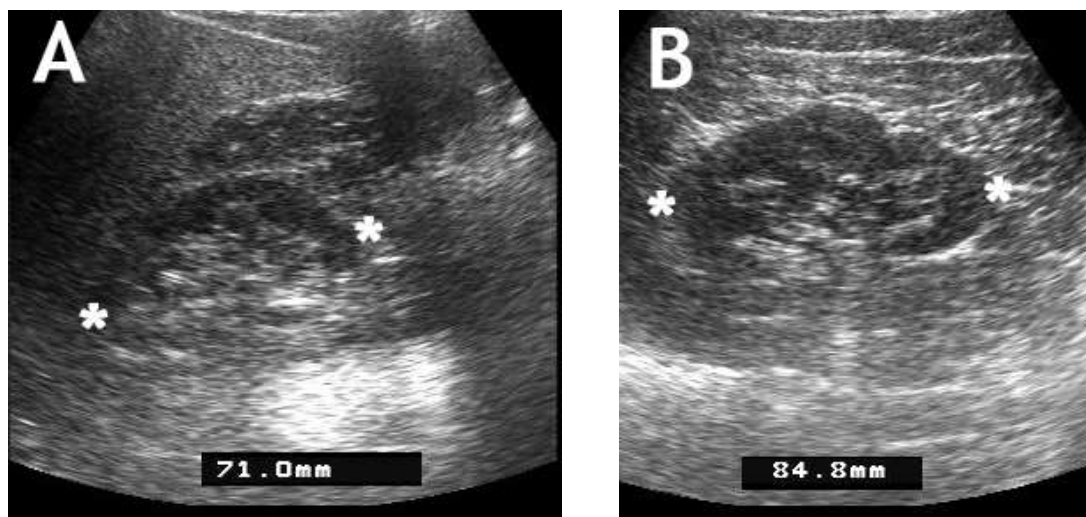


Figura 6. Imagem de ecografia renal - corte longitudinal - onde se visualizam alterações do tamanho de ambos os rins, medido pelo seu eixo longitudinal (delimitado pelos asteriscos). Os contornos de ambos os rins são regulares, havendo boa diferenciação parenquimocentral e normal espessura do córtex. **A)** Rim direito medindo 71,0 mm de maior eixo. **B)** Rim esquerdo medindo 84,8 mm de maior eixo.

As manifestações renais de origem desconhecida que o doente apresentava na altura da ida à urgência foram investigadas e os exames imagiológicos (tomografia computadorizada do abdómen superior com contraste oral) revelaram rins de dimensão inferior ao habitual - 6 cm de maior eixo do rim direito e 7 cm de maior eixo do rim esquerdo¹⁸, de contorno regular, mantendo razoável espessura parenquimatosa, não evidenciando hidronefrose ou litíase. Realizou-se uma ecografia renal que confirmou rins de dimensão inferior ao habitual, 7 e 8,5 cm de eixo longitudinal, respetivamente à direita e à esquerda (Figura 6, A e B), de contornos regulares, havendo boa diferenciação parenquimocentral e normal espessura do córtex. Em conjunto com os parâmetros analíticos do doente (Tabela I), estes resultados traduziam uma insuficiência renal de estadió 3b¹⁹ (taxa de filtração glomerular (TFG) 39 mL/min/1,73m²).

Após observação do doente e reunião de toda a informação clínica suportada pelos resultados dos exames complementares de diagnóstico, foi discutido o caso no seio de uma equipa multidisciplinar que culminou com a colocação da hipótese de diagnóstico de síndrome HDR pela co-ocorrência da hipocalcémia, resultante do hipoparatiroidismo primário (Tabela I), em combinação com a surdez congénita e a insuficiência renal.

Dada a provável origem genética desta síndrome, foi proposto ao doente a realização de um estudo genético, no qual concordou em participar. Foi obtido o consentimento informado do doente, filho e cônjuge, para a realização do estudo e utilização das suas amostras biológicas. O presente estudo foi aprovado pelas comissões de Ética da Faculdade de Ciências da Saúde (parecer CE-FCS-2013-017) e do Centro Hospitalar Cova da Beira (parecer 04/2017).

2.2 Caracterização molecular

2.2.1 Isolamento de DNA

Foram colhidas amostras de sangue venoso, do caso índice, portador da síndrome HDR, e de dois familiares do mesmo, cônjuge e filho. Os pais do caso índice eram falecidos à data da proposta do estudo e a indisponibilidade de material biológico dos mesmos não permitiu a sua inclusão no estudo genético. Foram colhidos aproximadamente 10mL de sangue venoso para tubos contendo ácido etilenodiamino tetra-acético (EDTA) (Sarstedt AG & Co., Nümbrecht, Alemanha), e foram congelados a -20°C. O sangue extraído foi posteriormente descongelado e o DNA leucocitário foi extraído recorrendo ao *kit* comercial *Puregene Blood Core Kit B* (Qiagen, Hilden, Alemanha). O DNA foi quantificado utilizando o espectrofotômetro *Pharmacia Biotech Ultrospec 3000* (Biochrom Ltd. Cambridge, Inglaterra).

2.2.2 Amplificação do gene *GATA3*

Os exões 2, 3, 4, 5 e 6 do gene *GATA3* foram amplificados por PCR. Foram utilizados oito pares de *primers* com sequências específicas para o gene *GATA3*, previamente descritos por Van Esch, et al⁷ (Tabela II; Figura 7).

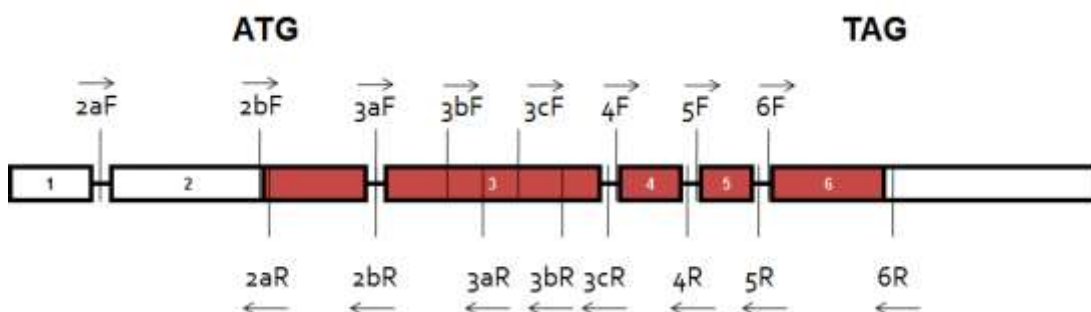


Figura 7. Representação do gene *GATA3* e localização dos *primers* utilizados na PCR e sequenciação. Legenda: ATG - codão iniciação; TAG - codão terminação; F - *forward*; R - *reverse*; Exões - numerados de 1 a 6.

As reações de PCR foram preparadas num volume final de 50 µL de acordo com a tabela III. Realizou-se a otimização da temperatura de emparelhamento ideal de cada *primer* testando um gradiente de temperaturas com uma amostra de DNA do *propositus* e duas amostras de DNA de controlos. Foi testado um gradiente de temperaturas de emparelhamento entre 55°C e 68°C, MgCl₂ nas concentrações de 1 mM e 1,5 mM e os

tampões A e B que fazem parte integrante do *kit* da Taq DNA polimerase PL1202 (Vivantis Technologies Sdn Bhd, Malaysia).

As condições ótimas de realização da PCR foram determinadas após a análise da imagem da eletroforese a que foram submetidos os produtos de PCR, sendo a temperatura de emparelhamento de 68°C a que produziu uma banda de maior intensidade na mesma. As amostras (doente e controlos) foram então analisadas com o uso dos reagentes de acordo com a tabela III. As reações foram realizadas num termociclador *T100 Thermal Cycler* (Biorad, Hercules, Califórnia, EUA) com o seguinte programa de amplificação [1 ciclo de desnaturação a 94°C durante 5 minutos; desnaturação a 94°C durante 30 segundos, seguido de emparelhamento a 68°C durante 30 segundos e de extensão a 72°C durante 1 minuto, repetido por 35 ciclos; 1 ciclo de extensão final a 72°C durante 10 minutos]. Amplificou-se um, dois ou três segmentos por cada exão utilizando os *primers* descritos na tabela II.

Para cada exão/par *primers* prepararam-se duas reações diferentes: uma com o DNA do *propositus* e uma sem DNA - controlo negativo.

Tabela II. *Primers* utilizados na amplificação dos exões do gene *GATA3*

Designação do <i>primer</i>	Sequência	Tamanho do produto da PCR (pb)	Temperatura de emparelhamento °C
GATA3_2aF	5'-ccg cgc tcc cgt gcg ggt ct-3'	501	68
GATA3_2aR	5'-ggg cgc ccg tca cct cca t-3'		
GATA3_2bF	5'-ccc agg cgg acc gcc ctc c-3'	420	
GATA3_2bR	5'-ggg ggc ttt cgc ttg acc tct-3'		
GATA3_3aF	5'-cct gag ccc ggg ctt ttg ctg aa-3'	351	
GATA3_3aR	5'-ggg cgg gaa ggt gaa gag gt-3'		
GATA3_3bF	5'-ccc ctt ctc caa gac gtc cat cca-3'	343	
GATA3_3bR	5'-gta ggg cgg gta ggt ggt gat-3'		
GATA3_3cF	5'-atg aag ctg gag tcg tcc cac t-3'	267	
GATA3_3cR	5'-tgc ggc cct gga ttg agg aa-3'		
GATA3_4F	5'-att tta cgt ttc tcc ag-3'	296	
GATA3_4R	5'-aga gag gaa atg aga aac cca g-3'		
GATA3_5F	5'-cta ccg ggg agc agc agg tga aac t-3'	562	
GATA3_5R	5'-ctc ggc ctc agc acg gct atg c-3'		
GATA3_6F	5'-atc cgg ggc ggt cag tgg aa-3'	439	
GATA3_6R	5'-aaa ggc act gca ggc act ct-3'		

Legenda: F - *forward*; R - *reverse*; a - adenina; c - citosina; g - guanina; t - timina; PCR - reação de polimerização em cadeia; pb - pares de bases; °C - graus Celsius.

Tabela III. Reagentes utilizados na amplificação do gene *GATA3*

Reagente	Quantidade de	Fabricante
DNA em estudo	500 ng	N/A
<i>Primer forward</i>	0,5 μ M	StabVida, Portugal
<i>Primer reverse</i>	0,5 μ M	StabVida, Portugal
dNTPs	100 μ M	
Taq DNA polimerase	2 U	Vivantis
Tampão B 1x	50 mM KCl, 10 mM Tris-HCl, (pH 9,1 a 20°C), 0,01% Triton TM X-100, 1,5 mM MgCl ² e estabilizadores.	Technologies Sdn Bhd, Malaysia
Água livre de nucleases	Até perfazer volume final de 50 μ L	N/A

Legenda: °C - graus Celsius; dNTPs - desoxirribonucleotídeos fosfatados; N/A - não aplicável; ng - nanogramas; U - unidades; mM - miliMolar; μ L - microlitros; μ M - microMolar.

2.2.3 Sequenciação do gene *GATA3*

Para análise eletroforética dos produtos de PCR, preparou-se um gel de agarose a 1,5% em tampão tris-acetato-EDTA (40 mM tris(hidroximetil)aminometano, 20 mM ácido acético, 1 mM EDTA a pH 8,0) incorporado de um agente intercalante de ácidos nucleicos (brometo de etídio) na concentração de 500 μ g/ml, e submeteu-se o gel a um campo eléctrico de 80 miliamperes (mA) durante 30 minutos. Foram analisadas as amostras preparadas com 10 μ L de produto de PCR, e 2 μ L de corante azul de bromo-fenol/xileno cianol FF (*loading dye*) (Vivantis Technologies Sdn Bhd, Malaysia). Utilizou-se como marcador de peso molecular 1 μ L de *VC 100bp Plus DNA Ladder* (Vivantis Technologies Sdn Bhd, Malaysia), preparado com 2 μ L de *loading dye* e 9 μ L de água purificada (Milli-Q® Ultrapure Water Systems - Merck Millipore, Alemanha). A sequenciação pelo método de Sanger em sentido *forward* e *reverse*, dos produtos da reação de PCR, foi realizada recorrendo à prestação de serviços, por uma empresa externa (StabVida, Portugal). Foram enviados os produtos de reação de PCR não purificados, juntamente com 30 μ L dos respetivos *primers* usados na amplificação, à concentração de 10 μ M.

2.2.4 Análise de heteroduplexes de DNA

Para confirmação da mutação em causa, e excluir a sua presença em indivíduos normais, recorreu-se à deteção da formação de heteroduplexes de DNA como descrito na literatura²⁰ através da técnica de eletroforese em gel com gradiente de temperatura (TTGE). Para aplicação desta técnica, os produtos de amplificação de PCR foram desnaturados por aquecimento a 95°C durante 2 minutos e foram posteriormente arrefecidos de forma gradual à temperatura ambiente, para possibilitar a formação dos heteroduplexes.

As amostras foram posteriormente carregadas (5 μ L amostra + 1 μ L *loading dye*) num gel de poliacrilamida a 8% (Bio-Rad Laboratories) preparado com tampão tris-borato-EDTA pH 8,3 (89 mM tris(hidroximetil)aminometano, 89 mM de ácido bórico e 2 mM EDTA a pH 8,0), persulfato de amónio (PSA) a 0,09% (450 μ L de PSA a 10% em 50 ml de gel), tetrametiletilendiamina a 0,1%, e água purificada (Milli-Q® Ultrapure Water Systems - Merck Millipore, Alemanha) para perfazer o volume total de 50 ml de gel de poliacrilamida.

Por questões de controlo interno de qualidade da própria técnica, as amostras do *propositus* e do controlo negativo foram processadas em duplicado, sendo que uma amostra foi desnaturada para permitir a formação de heteroduplexes e a outra não sofreu processo de desnaturação, por forma a possibilitar a deteção de falsos positivos decorrentes da própria técnica. Em cada gel de poliacrilamida foi incluído um marcador de peso molecular, e o controlo positivo. Esta técnica foi usada para confirmar a alteração genética no doente e para excluir a mesma alteração num painel de DNAs provenientes de 95 voluntários anónimos recolhidos no âmbito de estudos genéticos populacionais anteriores²¹.

A técnica de TTGE foi realizada num sistema *SE600 Standard Dual Cooled Vertical Unit* (Hoefer, Inc., Holliston MA, EUA), com fonte de alimentação a 50 mA. Os géis de poliacrilamida foram posteriormente corados num banho com brometo de etídio e visualizados sob luz ultravioleta.

3. Resultados

A sequenciação do gene *GATA3* no *propositus*, revelou uma inserção de quatro nucleótidos (CAAG), no exão 3, entre as posições 357 e 358 da sequência do respectivo cDNA, c.357_358insCAAG (mutação c.354_357dup de acordo com a nomenclatura HGVS - human genome variation society) (Figura 8; Figura 9). A sequência de referência do cDNA utilizada para a numeração dos nucleótidos foi a NM_001002295.1.

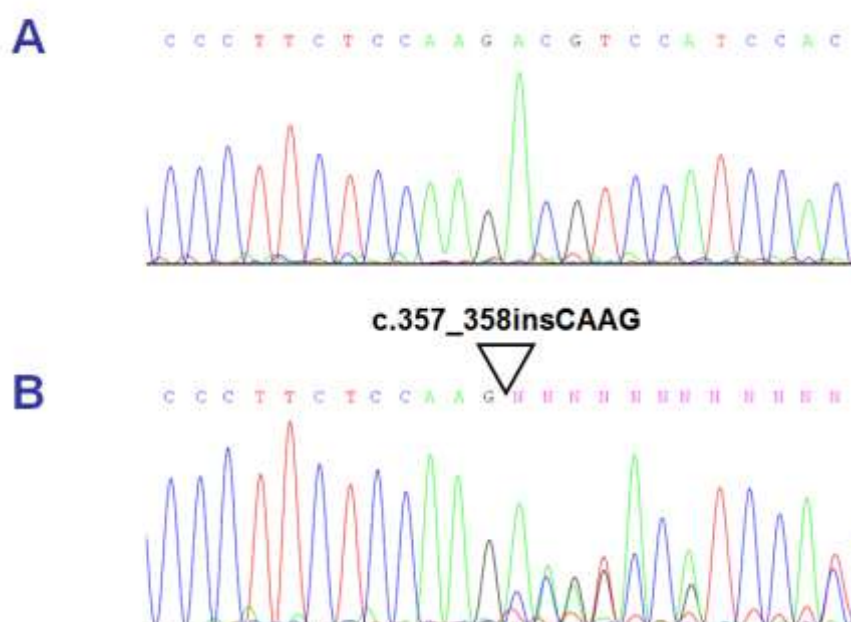


Figura 8. Eletroferograma correspondente à sequenciação do exão 3 do gene *GATA3* com identificação da mutação por sequenciação do DNA. **A)** Sequência de um indivíduo normal. **B)** Sequência do indivíduo afetado revelando uma inserção de 4 nucleótidos (CAAG) entre a posição 357 e 358. Legenda: A - adenina; C - citosina; G - guanina; T - timina.

Esta mutação estava presente em heterozigotia no *propositus* (indivíduo II-1) (Figura 10) como se pode ver pela sobreposição das duas sequências, normal e mutada, no eletroferograma do doente (Figura 8). A mutação foi posteriormente confirmada através da análise de heteroduplexes (Figura 10 - asteriscos), onde se pode ver a formação dos mesmos na amostra desnaturada do doente. A mutação foi excluída no filho (indivíduo III-1), pela ausência de formação de heteroduplexes na amostra deste (Figura 10) e num grupo de 95 indivíduos não aparentados (Figura 11).

A mutação c.357_358insCAAG, identificada no gene *GATA3*, condiciona uma alteração do tipo *frameshift* com a introdução de um codão de terminação prematuro e prevê-se que origine a produção de uma proteína truncada (p.Thr120Glnfs*185).

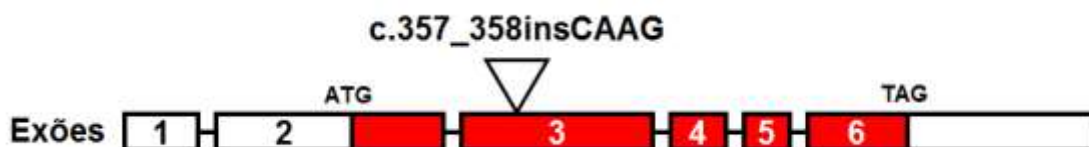


Figura 9. Representação esquemática do gene *GATA3* mostrando os 6 exões (regiões codificadoras a vermelho), a localização do codão de iniciação (ATG) e de terminação (TAG), e a posição da mutação encontrada no exão 3.

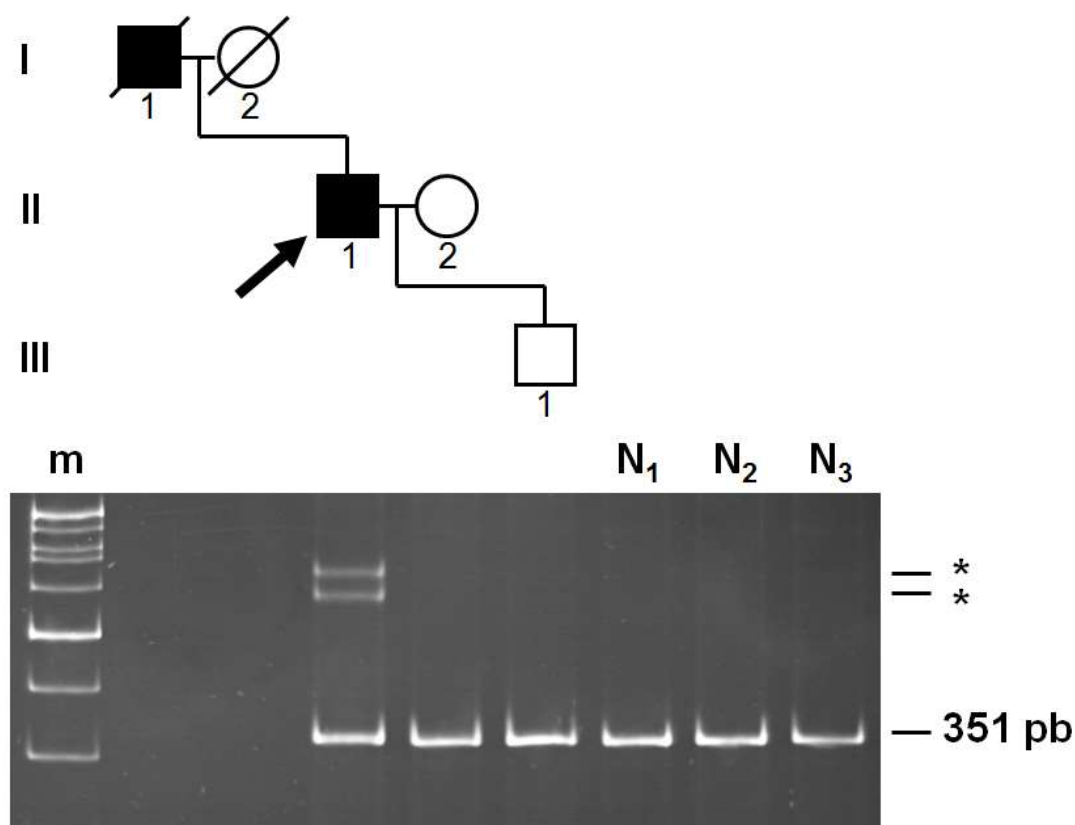


Figura 10. Detecção da mutação por análise de heteroduplexes de DNA (asteriscos). O painel superior representa o heredograma da família estudada. O *propositus* (indivíduo II-1) está indicado com uma seta. Os indivíduos I-1 e I-2 encontram-se falecidos e a indisponibilidade de material biológico não permitiu o seu estudo genético. Legenda: m - marcador de peso molecular; N1-N3 - indivíduos normais; pb - pares de bases.

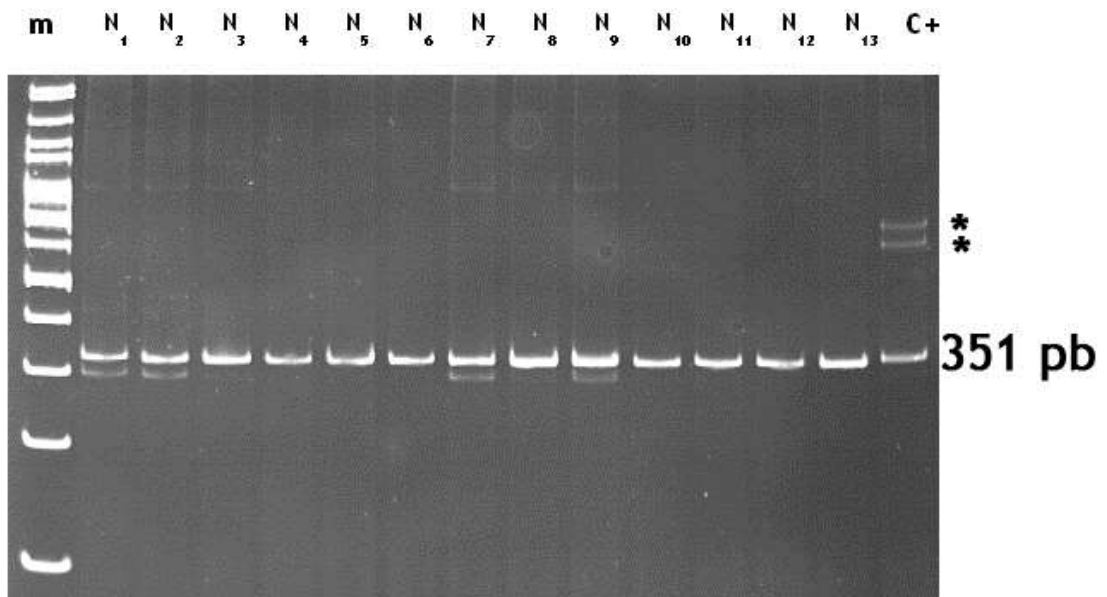


Figura 11. Exclusão da mutação por análise de heteroduplexes de DNA (asteriscos) em controlos saudáveis. Legenda: m - marcador de peso molecular; N1-N13 - indivíduos normais; C+ - controlo positivo (utilizou-se DNA do *propositus*); pb - pares de bases.

4. Discussão e conclusões

4.1 Caracterização da mutação

A sequenciação do gene *GATA3* no *propositus* revelou uma inserção de quatro nucleótidos (CAAG), no exão 3, entre as posições 357 e 358 da sequência do respectivo cDNA (c.357_358insCAAG). Esta mutação condiciona uma alteração do tipo *frameshift* com a introdução de um codão de terminação prematuro. Efetivamente as mutações responsáveis pela síndrome HDR, resultam na maioria dos casos em alterações do tipo *frameshift*, onde se incluem pequenas inserções ou deleções. Outras mutações descritas incluem mutações *missense* e *nonsense*, mutações do local de *splicing* e grandes deleções gênicas¹³.

Na mutação identificada, prevê-se que a alteração do tipo *frameshift* origine a produção de uma proteína truncada, ou dê origem a mecanismos de degradação de RNA mensageiro, mediados por *nonsense-mediated decay*. Outros mecanismos podem estar envolvidos na patogênese da síndrome HDR, como o mecanismo proposto por Ohta et al²², que sugeriram que, não apenas a haploinsuficiência do gene *GATA3*, mas também um efeito de inibição dominante-negativo sobre o *GATA3 wild-type* pela proteína *GATA3* mutada pode estar envolvido²². Também Gaynor et al¹⁶ identificaram uma mutação que demonstrou que não era necessário uma completa perda de função de um dos alelos do *GATA3* para que as alterações fenotípicas da síndrome HDR se manifestassem, mas que, uma perda parcial que leve a uma atividade inferior a um nível crítico, pode ter o mesmo efeito deletério¹⁶.

Apesar de a maioria das mutações identificadas até à data, corresponderem a mutações que se prevêem que originem formas truncadas da proteína¹⁹, como no caso aqui apresentado, Ali et al²³ propuseram uma classificação das mutações descritas em três classes, de acordo com as suas consequências funcionais no que respeita à ligação ao DNA.

A primeira classe engloba as mutações que levam a uma perda da ligação ao DNA, que resultam em formas truncadas ou deletadas da proteína *GATA3* que perdem o *ZnF2*, o que corresponde à maioria das mutações (92%). Esta classe inclui também a mutação identificada no nosso doente no exão 3, que resulta na perda de ambos os *ZnF1* e *ZnF2* que são codificados pelos exões 4 e 5 respetivamente (Figura 2).

A segunda classe é definida pela perda de afinidade na ligação ao DNA. Este tipo de mutações, que envolvem o *ZnF1*, originam uma proteína que se liga ao DNA, mas com reduzida afinidade de tal modo que rapidamente se dissocia a ligação ao DNA quando comparado com o *GATA3* normal. A terceira classe é caracterizada por uma ligação ao DNA normal, com afinidade mantida e está relacionada com a perda de interação com a *FOG2*²³.

A mutação identificada neste trabalho dá origem a uma alteração da sequência da proteína a partir da posição 120 (p.Thr120Glnfs*185) onde uma treonina (Thr) é substituída por uma glutamina (Gln), com conseqüente alteração de toda a sequência de aminoácidos a partir dessa localização e introdução de um codão de terminação prematuro na posição 185.

A mutação identificada no presente estudo, não se encontra descrita na literatura até à data e vem alargar o espectro das mutações conhecidas. Com este estudo, contabilizam-se duas mutações do gene *GATA3* causadoras da síndrome HDR e identificadas em doentes portugueses. Em 2011 Moldovan et al²⁵, descreveram o caso de uma doente portuguesa de 29 anos, com malformações genitais graves (agenesia da vagina e útero), surdez neurosensorial bilateral moderada e hipoparatiroidismo grave.

Não tendo sido possível estudar os progenitores, não foi possível determinar se a mutação identificada ocorreu *de novo*, ou se foi herdada. Num estudo que incluiu 40 doentes com síndrome HDR, a taxa de mutações identificadas *de novo* foi descrita em 45%²⁶. No entanto o pai do doente foi referido como tendo antecedentes de surdez congénita e faleceu aos 69 anos de insuficiência renal crónica terminal, o que sugere que este poderia também ter a síndrome HDR, apesar de não haver referência a antecedentes de hipoparatiroidismo. De facto, a gravidade do fenótipo HDR, que está associado à haploinsuficiência do gene *GATA3*, é muito variável^{23,24}.

4.2 Caracterização do hipoparatiroidismo

O hipoparatiroidismo nos doentes com síndrome HDR é a característica que exhibe a maior variabilidade individual²⁷, englobando desde hipocalcémia assintomática a parestesias, dores musculares ou quadros exuberantes de tetania e convulsões, que cursam com valores de PTH séricos baixos ou normais²⁷, sendo que a idade de início destas manifestações é amplamente variável²⁸, e pode ir desde o nascimento até à sexta década de vida como é o caso do nosso doente que iniciou o seu quadro de convulsões aos 51 anos de idade.

O presente caso apresentava calcificações intra-cranianas dos núcleos da base e tálamo, bilaterais e simétricas, traduzindo um provável distúrbio metabólico (fosfo-cálcico). Estas calcificações dos gânglios da base que se apresentam como bilaterais e simétricas (Figura 5) e que estão em associação com o hipoparatiroidismo foram inicialmente descritas por Eaton et al²⁹.

O mecanismo destas calcificações, mais frequentemente encontradas no pseudo-hipoparatiroidismo, do que no hipoparatiroidismo idiopático, não está completamente elucidado, mas crê-se estar mais relacionado com a duração da hipocalcemia e hiperfosfatémia do que com paratormona diretamente. A calcificação ectópica é promovida pela hiperfosfatémia. Na insuficiência renal, esta calcificação verifica-se nos vasos sanguíneos do tecido periarticular, mas curiosamente no hipoparatiroidismo estas encontram-se preferencialmente no tecido cerebral³⁰. A deposição de colóide microscópico à volta dos vasos sanguíneos cerebrais é seguida pela calcificação dos gânglios da base, mas também do tálamo, núcleo dentado, córtex cerebral, centro oval e matéria cinzenta mesencefálica³¹. A extensão das calcificações é variável e depende do estadio da doença, da duração das alterações metabólicas, e do volume dos depósitos de cálcio²⁹. Apesar de o nosso doente ter sido diagnosticado na idade adulta, o que significa uma duração

prolongada das alterações metabólicas, não apresentava qualquer sintomatologia neurológica relacionada com as calcificações, o que sugere que estas por si só podem ter pouco efeito nos sintomas associados ao sistema nervoso central, o que é compatível com os casos clínicos previamente estudados^{11,30-41}.

4.3 Caracterização da surdez

A perda auditiva de origem neurosensorial e de instalação precoce ou congénita, está presente na maioria dos doentes com a síndrome HDR^{37,42}, e pode ser a primeira manifestação a suscitar este diagnóstico⁴³. A surdez é bilateral e caracterizada por perda auditiva mais marcada nas altas frequências, tal como se verificou no caso do nosso doente (Figura 4). Os doentes apresentam também reconhecimento da voz limitado para as baixas frequências. A perda auditiva vai progredindo com a idade, tornando-se mais acentuada para as altas frequências. Apesar de os doentes não serem capazes de evocar emissões otoacústicas, apresentam uma resposta normal, para potenciais evocados auditivos do tronco encefálico, o que sugere que o mecanismo da perda auditiva envolve as células ciliadas externas⁴². O nosso doente apresentava perda auditiva desde a nascença, cuja correção foi feita com auxílio a utilização de aparelho auditivo. Esta perda era caracterizada por ser bilateral e de características neurosensoriais, como é típico desta síndrome. Também a perda auditiva era mais marcada para as altas frequências, como frequentemente encontrado nos doentes com síndrome HDR.

4.4 Caracterização das alterações renais

As alterações renais na síndrome HDR têm uma apresentação variável e podem estar presentes bilateral ou unilateralmente³⁷. Esta variabilidade pode ser de tal ordem marcada que estão descritos na literatura até 20% de casos com ausência de envolvimento renal^{11,26}. Está também descrito que, entre membros da mesma família, portadores da mesma mutação do gene *GATA3*, pode existir variabilidade do padrão fenotípico renal e expressar diferentes alterações renais^{2,3}.

As manifestações renais incluem alterações de dois tipos, alterações anatómicas e alterações funcionais. No primeiro grupo podemos incluir hipoplasia, displasia, doença renal quística, deformidade pélvico-calicial, refluxo vesico-ureteral e agenesia renal. No segundo incluem-se alterações como insuficiência renal, proteinúria, hematúria, acidose tubular renal distal e proximal, e nefrocalcinose^{3,7,8,10,11,13,16,22-25,43-48}.

O doente estudado apresentava rins de dimensão inferior ao normal (Figura 6) e parâmetros analíticos com alterações características de insuficiência renal crónica de estadio 3b¹⁹.

4.5 Variabilidade fenotípica

O nosso caso apresentava a tríade completa que caracteriza a síndrome HDR: hipoparatiroidismo, surdez neurosensorial congénita e insuficiência renal. No entanto, Ferraris et al²⁴ descreveram a variabilidade fenotípica interfamiliar e intrafamiliar, entre indivíduos com a mesma mutação, nos 77 casos reportados até àquela data. Esta variabilidade fenotípica causada pela haploinsuficiência do *GATA3* demonstra uma ampla gama de penetrância destas mutações. Esta variabilidade fenotípica dificulta a tentativa de correlacionar genótipo-fenótipo. Dos casos identificados por Ferraris et al²⁴, 48 (62,3%) exibiam a tríade clínica completa, 22 doentes (28,6%) tinham hipoparatiroidismo e surdez, 2 doentes (2,6%) apresentavam displasia renal e surdez e 5 doentes (6,5%) manifestavam surdez isolada. Todos os doentes partilhavam entre si a característica surdez²⁴. Efetivamente a surdez é a manifestação mais característica da síndrome HDR³⁶. Mutlu et al³⁰ compilaram outras alterações fenotípicas manifestadas por doentes com mutações no gene *GATA3* (Tabela IV), o que demonstra a grande variabilidade de características fenotípicas presentes nestes doentes, dificultando ainda mais uma possível relação genótipo-fenótipo³⁰.

4.6 Correlação genótipo-fenótipo

Esta expressividade variável das manifestações clínicas apresentadas pelos doentes portadores de mutações no gene *GATA3* que temos vindo a descrever ao longo deste trabalho, elucida um pouco o porquê de ainda não ter sido demonstrada uma correlação genótipo/fenótipo nos doentes com a síndrome HDR. Alguns autores sugerem que esta variabilidade e falta de associação genótipo-fenótipo podem ser explicadas por funções redundantes ou compensatórias das proteínas *GATA*⁹ o que pode estar na origem da variabilidade interfamiliar e mesmo intrafamiliar para a mesma mutação^{8,27}. Ali et al²³ num estudo que incluiu 63 doentes com diagnóstico clínico da síndrome HDR, mais de 90% dos que apresentavam a tríade fenotípica completa tinham mutações no gene *GATA3*. Nos doentes com manifestações de surdez e hipoparatiroidismo, mas sem alterações renais, apenas 65% apresentavam mutação do *GATA3*. Nos doentes com hipoparatiroidismo isolado não foram encontradas mutações, e não foram realizados estudos nos doentes que apenas apresentavam displasia renal isolada ou surdez não sindrómica. Ali et al²³ relataram ainda oito casos de indivíduos cuja análise genética das regiões codificantes, e locais de *splicing* adjacentes, não identificou mutações no gene *GATA3*. Os autores sugeriram que estes doentes poderão ser portadores de mutações nas regiões reguladoras que flanqueiam o gene *GATA3*, ou de deleções que envolvam exões completos ou todo o gene, ou ainda que representem uma heterogeneidade genética. Os autores referiram ainda que destes oito, sete não apresentavam alterações renais, e isto pode ser concordante com o facto de que provavelmente as mutações do gene *GATA3* têm elevada penetrância e resultam nas manifestações fenotípicas que envolvem as paratiróides, rins e perda auditiva²³.

Tabela IV. Características fenotípicas presentes em casos de síndrome HDR

Características Fenotípicas
Alterações Renais
Hipoplasia
Displasia
Aplasia
Proteinúria
Quistos
Rim pélvico
Alterações genitourinárias
Útero duplo
Útero bicórneo
Útero didelfo
Agenesia da vagina-útero
Criptorquidismo
Alterações neurológicas
Atraso do desenvolvimento psicomotor
Epilepsia
Hemimegalencefalia
Sintomas extrapiramidais
Autismo
Características faciais dismórficas
Orelhas de baixa implantação
Nariz em sela
Hipertelorismo
Ptose palpebral
Fissuras palpebrais pequenas
Alterações esqueléticas
Clinodactilia
Pectus excavatum
Escoliose

Reproduzido com autorização de Mutlu et al³⁰ (ANEXO III).

4.7 Diagnóstico molecular e aconselhamento genético

Devido à grande heterogeneidade clínica, vários autores consideram o rastreio das mutações no gene *GATA3* útil para o diagnóstico e aconselhamento genético⁴⁹. Outros autores consideram que este tem importância clínica, para o diagnóstico e aconselhamento genético, apenas quando, duas ou três manifestações típicas da tríade da síndrome HDR são identificadas, e não se justifica no caso de manifestações isoladas²³.

No entanto, Goodwin et al⁵⁰, ao aplicarem técnicas de sequenciação de nova geração a doentes sem diagnóstico, como parte de um projeto para determinar um diagnóstico definitivo em doentes com doença endócrina subjacente, no contexto de patologia multisistémica de etiologia desconhecida, identificaram mutações em dois genes distintos que conduzem a fenótipos díspares (*GATA3*, que leva à síndrome HDR e *STS* (*steroid sulfatase gene*) que causa a ictiose ligada ao X) cujos painéis de teste genético não incluem em simultâneo. Este caso permitiu a identificação de uma nova mutação no gene *GATA3*, num doente com patologia multisistémica de etiologia desconhecida, onde se incluíam a surdez congénita e o hipoparatoroidismo⁵⁰.

Outro estudo³⁵ que veio levantar algumas dúvidas quanto ao aconselhamento genético destes casos, e sobre quando ou não deve ser realizado o rastreio das mutações do gene *GATA3*, identificou uma nova mutação do gene *GATA3* ao aplicar técnicas de sequenciação de nova geração. Este estudo pretendeu identificar um diagnóstico molecular em famílias com deficiência auditiva hereditária, sem mutações habitualmente diagnosticadas por testes genéticos convencionais. Curiosamente, nos quatro membros da família onde se identificou a presença da mutação, três, incluindo o *propositus*, não apresentavam manifestações ou sinais quer de hipoparatiroidismo, quer de alterações renais, após investigação minuciosa destas alterações³⁵.

Dada a dificuldade em muitas vezes estabelecer um diagnóstico clínico precoce, como o do caso apresentado, alguns autores sugerem, que todos os doentes com surdez e contrações musculares devem efetuar uma audiometria, determinação do cálcio, fosfato e paratormona séricos, bem como realizar ecografia renal, tendo por base o facto de que a surdez é a manifestação mais característica da síndrome HDR³⁶.

4.8 Tratamento e seguimento dos doentes

O tratamento imediato passa por corrigir situações agudas, como no caso do doente em estudo que se apresentou na urgência com quadro convulsivo, que devem ser resolvidas rapidamente, para evitar consequências como traumatismos, ferimentos, paralisia dos músculos respiratórios e eventual paragem respiratória. A curto prazo a correção da hipocalcémia, nos casos em que esta manifestação esteja presente, deve ser feita com suplementação oral de cálcio e vitamina D (calcitriol), terapêutica que foi instituída no nosso doente, com posterior vigilância dos valores séricos de cálcio e fosfato para ajuste da terapêutica.

O seguimento a longo prazo destes doentes deve ser feito por uma equipa multidisciplinar, que inclua especialidades de Endocrinologia, Medicina Interna, Otorrinolaringologia, Nefrologia e Genética Médica.

Visto que o prognóstico destes doentes está habitualmente relacionado com a função renal, incluindo a necessidade de diálise e transplante em casos particulares⁴⁹, a proteção da função renal deve ser o foco de tratamento, no sentido de prolongar a sobrevivência dos mesmos.

Desta forma torna-se importante considerar a síndrome HDR no diagnóstico diferencial em doentes com hipoparatiroidismo ou surdez congénita, para que seja feito um estudo da sua função renal e da manifestação em falta que caracteriza a tríade da síndrome HDR, de forma a prevenir diagnósticos incorretos.

4.9 Conclusões

A mutação identificada no presente estudo, no gene *GATA3*, não se encontra descrita na literatura até à data e vem alargar o espectro das mutações conhecidas causadoras da síndrome HDR. Sendo uma doença rara, é natural que os médicos nem sempre estejam alertados para a mesma e que este facto atrase o diagnóstico, como foi o caso do presente estudo. É no entanto impraticável, quer a nível económico, quer a nível logístico, a realização de ações de informação e sensibilização dirigidas a cada doença rara em particular. Cremos no entanto que é possível alertar os médicos, de uma forma geral, para a existência destas patologias de prevalência rara e em casos de dúvida, discutir estas situações no seio de uma equipa multidisciplinar, como foi o presente caso.

Este estudo vem reforçar a importância de considerar na clínica a relação entre alterações aparentemente díspares, que podem ser manifestações duma mesma patologia. Estas manifestações clínicas podem ter origem numa síndrome de baixa frequência na população, como foi o caso da patologia em estudo.

5. Bibliografia

1. Barakat AY, D'Albora JB, Martin MM, Jose PA. Familial nephrosis, nerve deafness, and hypoparathyroidism. *J Pediatr.* 1977; 91 (1): 61-64 .
2. Bilous RW, Murty G, Parkinson DB, Thakker RV, Coulthard MG, Burn J *et al.* Brief report: autosomal dominant familial hypoparathyroidism, sensorineural deafness, and renal dysplasia. *N. Engl. J. Med.* 1992; 327 (15): 1069-1074.
3. Hasegawa T, Hasegawa Y, Aso T, Koto S, Nagai T, Tsuchiya Y *et al.* HDR syndrome (hypoparathyroidism, sensorineural deafness, renal dysplasia) associated with del(10)(p13). *Am J Med Genet.* 1997; 73 (4): 416-418.
4. Beetz R, Zorowka P, Schönberger W, Kruse K, Wilichowski E, Zabel B *et al.* Hypoparathyreoidismus und Innenohrschwerhörigkeit. *Monatsschr Kinderheilkd.* 1997; 145: 347-352.
5. Watanabe T, Mochizuki H, Kohda N, Minamitani K, Minagawa M, Yasuda T, *et al.* Autosomal dominant familial hypoparathyroidism and sensorineural deafness without renal dysplasia. *Eur J Endocrinol.* 1998; 139 (6): 631-634.
6. Fujimoto S, Yokochi K, Morikawa H, Nakano M, Shibata H, Togari H *et al.* Recurrent cerebral infarctions and del(10)(p14p15.1) de novo in HDR (hypoparathyroidism, sensorineural deafness, renal dysplasia) syndrome. *Am J Med Genet.* 1999; 86 (5): 427-429.
7. Van Esch H, Groenen P, Nesbit MA, Schuffenhauer S, Lichtner P, Vanderlinden G *et al.* GATA3 haplo-insufficiency causes human HDR syndrome. *Nature.* 2000; 406 (6794): 419-422.
8. Zahirieh A, Nesbit MA, Ali A, Wang K, He N, Stangou M *et al.* Functional analysis of a novel GATA3 mutation in a family with the hypoparathyroidism, deafness, and renal dysplasia syndrome. *J Clin Endocrinol Metab.* 2005; 90 (4): 2445-2450.
9. Saito T, Fukumoto S, Ito N, Suzuki H, Igarashi T, Fujita T. A novel mutation in the GATA3 gene of a Japanese patient with PTH-deficient hypoparathyroidism. *J Bone Miner Metab.* 2009; 27 (3): 386-389.
10. Van Esch H, Devriendt K. Transcription factor GATA3 and the human HDR syndrome. *Cell Mol Life Sci.* 2001; 58 (9): 1296-1300.
11. Chenouard A, Isidor B, Allain-Launay E, Moreau A, Le Bideau M, Roussey G. Renal phenotypic variability in HDR syndrome: Glomerular nephropathy as a novel finding. *Eur J Pediatr.* 2013; 172 (1): 107-110.
12. Labastie MC, Bories D, Chabret C, Grégoire JM, Chrétien S, Roméo PH. Structure and expression of the human GATA3 gene. *Genomics.* 1994; 21 (1): 1-6.
13. Nesbit MA, Bowl MR, Harding B, Ali A, Ayala A, Crowe C *et al.* Characterization of GATA3 mutations in the hypoparathyroidism, deafness, and renal dysplasia (HDR) syndrome. *J Biol Chem.* 2004; 279 (21): 22624-22634.

14. Pandolfi PP, Roth ME, Karis A, Leonard MW, Dzierzak E, Grosveld FG *et al.* Targeted disruption of the GATA3 gene causes severe abnormalities in the nervous system and in fetal liver haematopoiesis. *Nat Genet.* 1995; 11 (1): 40-44.
15. Debacker C, Catala M, Labastie MC. Embryonic expression of the human GATA-3 gene. *Mech Dev.* 1999; 85 (1-2): 183-187.
16. Gaynor KU, Grigorieva IV, Nesbit MA, Cranston T, Gomes T, Gortner L *et al.* A missense GATA3 mutation, Thr272Ile, causes the hypoparathyroidism, deafness, and renal dysplasia syndrome. *J Clin Endocrinol Metab.* 2009; 94 (10): 3897-3904.
17. Yang Z, Gu L, Romeo PH, Bories D, Motohashi H, Yamamoto M *et al.* Human GATA-3 trans-activation, DNA-binding, and nuclear localization activities are organized into distinct structural domains. *Mol Cell Biol.* 1994; 14 (3): 2201-2212.
18. Glodny B, Unterholzner V, Taferner B, Hofmann KJ, Rehder P, Strasak A *et al.* Normal kidney size and its influencing factors - a 64-slice MDCT study of 1.040 asymptomatic patients. *BMC Urol.* 2009; 9: 19.
19. Kidney Disease: Improving Global Outcomes (KDIGO) CKD Work Group. KDIGO 2012 Clinical Practice Guideline for the Evaluation and Management of Chronic Kidney Disease. *Kidney inter., Suppl.* 2013; 3: 1-150.
20. Higashimoto T, Yano S, Ito M, Clark-Sheehan NC, Cowan L, Boles RG. Rapid Detection of FGFR Mutations in Syndromic Craniosynostosis by Temporal Temperature Gradient Gel Electrophoresis. *Clin Chem.* 1999; 45 (11): 2005-2006.
21. Lemos MC, Coutinho E, Gomes L, Bastos M, Fagulha A, Barros L *et al.* The CTLA4 +49 A/G polymorphism is not associated with susceptibility to type 1 diabetes mellitus in the Portuguese population. *Int J Immunogenet.* 2009; 36 (3): 193-195.
22. Ohta M, Eguchi-Ishimae M, Ohshima M, Iwabuki H, Takemoto K, Murao K *et al.* Novel dominant-negative mutant of GATA3 in HDR syndrome. *J Mol Med (Berl).* 2011; 89 (1): 43-50.
23. Ali A, Christie PT, Grigorieva IV, Harding B, Van Esch H, Ahmed SF *et al.* Functional characterization of GATA3 mutations causing the hypoparathyroidism-deafness-renal (HDR) dysplasia syndrome: insight into mechanisms of DNA binding by the GATA3 transcription factor. *Hum Mol Genet.* 2007; 16 (3): 265-275.
24. Ferraris S, Del Monaco AG, Garelli E, Carando A, De Vito B, Pappi P *et al.* HDR Syndrome: A novel 'de novo' Mutation in GATA3 Gene. *Am J Med Genet A.* 2009; 149A (4): 770-775.
25. Moldovan O, Carvalho R, Jorge Z, Medeira A. A new case of HDR syndrome with severe female genital tract malformation: comment on "Novel mutation in the gene encoding the GATA3 transcription factor in a Spanish familial case of hypoparathyroidism, deafness, and renal dysplasia (HDR) syndrome with female genital tract malformations" by Hernández *et al.* *Am J Med Genet A.* 2011; 155A (9): 2329-2330.

26. Upadhyay J, Steenkamp DW, Milunsky JM. The Syndrome of Hypoparathyroidism, Deafness, and Renal Anomalies. *Endocr. Pract.* 2013; 19(6): 1035-1042.
27. Hernández AM, Villamar M, Roselló L, Moreno-Pelayo MA, Moreno F, Del Castillo I. Novel mutation in the gene encoding the GATA3 transcription factor in a Spanish familial case of hypoparathyroidism, deafness, and renal dysplasia (HDR) syndrome with female genital tract malformations. *Am J Med Genet A.* 2007; 143A(7): 757-762.
28. Döneray H, Usui T, Kaya A, Dönmez AS. The First Turkish Case of Hypoparathyroidism, Deafness and Renal Dysplasia (HDR) Syndrome. *J Clin Res Pediatr Endocrinol.* 2015; 7 (2): 140-143.
29. Eaton LM, Camp JD, Love JG. Symmetric cerebral calcification, particularly of the basal ganglia, demonstrate roentgenographically: calcification of the finer cerebral blood vessels. *Arch Neurol Psychiatry.* 1939; 41(5): 921-942.
30. Yeşiltepe Mutlu G, Kırmızıbekmez H, Nakamura A, Fukami M, Hatun Ş. A Novel De Novo GATA Binding Protein 3 Mutation in a Turkish Boy with Hypoparathyroidism, Deafness, and Renal Dysplasia Syndrome. *J Clin Res Pediatr Endocrinol.* 2015; 7 (4): 344-348.
31. Nanba K, Usui T, Nakamura M, Toyota Y, Hirota K, Tamanaha T *et al.* A novel GATA3 nonsense mutation in a newly diagnosed adult patient of hypothyroidism, deafness, and renal dysplasia (HDR) syndrome. *Endocr Pract.* 2013; 19(1): e17-20.
32. Lindstrand A, Malmgren H, Verri A, Benetti E, Eriksson M, Nordgren A *et al.* Molecular and clinical characterization of patients with overlapping 10p deletions. *Am J Med Genet A.* 2010; 152A(5): 1233-1243.
33. Meena RL, Maloo SK, Samar N, Ruhela A, Saini S. The Syndrome of Familial Hypoparathyroidism, Sensorineural Deafness and Renal Dysplasia. *J Assoc Physicians India.* 2015; 63(6): 73-75.
34. Okawa T, Yoshida M, Usui T, Kudou T, Iwasaki Y, Fukuoka K *et al.* A novel loss-of-function mutation of GATA3 (p.R299Q) in a Japanese family with Hypoparathyroidism, Deafness, and Renal Dysplasia (HDR) syndrome. *BMC Endocr Disord.* 2015; 15:66.
35. Lin YH, Wu CC, Hsu TY, Chiu WY, Hsu CJ, Chen PL. Identification of a novel GATA3 mutation in a deaf Taiwanese family by massively parallel sequencing. *Mutat Res.* 2015; 771: 1-5.
36. Chen L, Chen B, Leng W, Lui X, Wu Q, Ouyang X *et al.* Identification of a novel de novo GATA3 mutation in a patient with HDR syndrome. *J Int Med Res.* 2015; 43 (5): 718-724.
37. Shim YS, Choi W, Hwang IT, Yang S. Hypoparathyroidism, sensorineural deafness, and renal dysgenesis syndrome with a GATA3 mutation. *Ann Pediatr Endocrinol Metab.* 2015; 20 (1): 59-63.
38. Zhu ZY, Zhou QL, Ni SN, Gu W. GATA3 mutation in a family with hypoparathyroidism, deafness and renal dysplasia syndrome. *World J Pediatr.* 2014; 10(3):278-280.

39. Hayashi Y, Suwa T, Inuzuka T. Intracranial Calcification in a Patient with HDR Syndrome and a GATA3 Mutation. *Intern Med.* 2013; 52(1): 161-162.
40. Maleki N, Bashardoust B, Iranparvar Alamdari M, Tavosi Z. Seizure, deafness, and renal failure: a case of barakat syndrome. *Case Rep Nephrol.* 2013; 2013: 261907.
41. Hiramatsu R, Ubara Y, Tajima T, Usui T, Namba K, Takeuchi Y *et al.* Tumoral calcinosis in a patient with hypoparathyroidism, sensorineural deafness, and renal dysplasia syndrome undergoing hemodialysis. *Clin Case Rep.* 2015; 3(2): 73-75.
42. van Looij MA, Meijers-Heijboer H, Beetz R, Thakker RV, Christie PT, Feenstra LW *et al.* Characteristics of hearing loss in HDR (hypoparathyroidism, sensorineural deafness, renal dysplasia) syndrome. *Audiol Neurotol.* 2006; 11 (6): 373-379.
43. Chiu WY, Chen HW, Chao HW, Yann LT, Tsai KS. Identification of three novel mutations in the GATA3 gene responsible for familial hypoparathyroidism and deafness in the Chinese population. *J Clin Endocrinol Metab.* 2006; 91 (11): 4587-4592.
44. Muroya K, Hasegawa T, Ito Y, Nagai T, Isotani H, Iwata Y *et al.* GATA3 abnormalities and the phenotypic spectrum of HDR syndrome. *J Med Genet.* 2001; 38 (6): 374-380.
45. Al-Shibli A, Al Attrach I, Willems PJ. Novel DNA mutation in the GATA3 gene in an Emirati boy with HDR syndrome and hypomagnesemia. *Pediatr Nephrol.* 2011; 26(7): 1167-1170.
45. Al-Shibli A, Al Attrach I, Willems PJ. Novel DNA mutation in the GATA3 gene in an Emirati boy with HDR syndrome and hypomagnesemia. *Pediatr Nephrol.* 2011; 26(7): 1167-1170.
46. Fukami M, Muroya K, Miyake T, Iso M, Kato F, Yokoi H *et al.* GATA3 abnormalities in six patients with HDR syndrome. *Endocr J.* 2011; 58(2): 117-121.
47. Mino Y, Kuwahara T, Mannami T, Shioji K, Ono K, Iwai N *et al.* Identification of a novel insertion mutation in GATA3 with HDR syndrome. *Clin Exp Nephrol.* 2005; 9(1): 58-61.
48. Nakamura A, Fujiwara F, Hasegawa Y, Ishizu K, Mabe A, Nakagawa H *et al.* Molecular analysis of the GATA3 gene in five Japanese patients with HDR syndrome. *Endocr J.* 2011; 58(2): 123-130.
49. Higuchi Y, Hasegawa K, Yamashita M, Fujii Y, Tanaka H, Tsukahara H. HDR syndrome in a Japanese girl with biliary atresia: a case report. *BMC Pediatr.* 2016; 16: 14.
50. Goodwin G, Hawley PP, Miller DT. A case of HDR syndrome and ichthyosis: Dual diagnosis by whole-genome sequencing of novel mutations in GATA3 and STS genes. *J Clin Endocrinol Metab.* 2016; 101(3): 837-840.

6. Anexos

Anexados a esta tese encontram-se os seguintes documentos:

Anexo I. Autorização de reprodução de imagem

Anexo II. Autorização de reprodução de imagem

Anexo III. Autorização de reprodução de tabela

Anexo IV. Síntese do *Curriculum Vitae*

Anexo I. Autorização de reprodução de imagem - Figura 1

2017-6-9

RightsLink Printable License

**SPRINGER LICENSE
TERMS AND CONDITIONS**

Jun 08, 2017

This Agreement between Mrs. Marisa Horta ("You") and Springer ("Springer") consists of your license details and the terms and conditions provided by Springer and Copyright Clearance Center.

License Number	4124470869951
License date	Jun 08, 2017
Licensed Content Publisher	Springer
Licensed Content Publication	Cellular and Molecular Life Sciences
Licensed Content Title	Human Genome and Diseases: Review of Transcription factor GATA3 and the human HDR syndrome
Licensed Content Author	H. Van Esch
Licensed Content Date	Jan 1, 2001
Licensed Content Volume	58
Licensed Content Issue	9
Type of Use	Thesis/Dissertation
Portion	Figures/tables/illustrations
Number of figures/tables/illustrations	2
Author of this Springer article	No
Order reference number	
Original figure numbers	2
Title of your thesis / dissertation	Molecular and clinical characterization of an HDR syndrome case
Expected completion date	Jul 2017
Estimated size(pages)	36
Requestor Location	Mrs. Marisa Horta Av. Marques D Avila e Bolama n355 5DTO 6200-053 Covilha, 6200-053 Portugal Attn: Mrs. Marisa Horta
Billing Type	Invoice
Billing Address	Mrs. Marisa Horta Av. Marques D Avila e Bolama n355 5DTO 6200-053 Covilha, Portugal 6200-053 Attn: Mrs. Marisa Horta
Total	0.00 EUR
Terms and Conditions	

Introduction

The publisher for this copyrighted material is Springer. By clicking "accept" in connection with completing this licensing transaction, you agree that the following terms and conditions apply to this transaction (along with the Billing and Payment terms and conditions

Anexo II. Autorização de reprodução de imagem - Figura 2

2017-6-13

RightsLink Printable License

**OXFORD UNIVERSITY PRESS LICENSE
TERMS AND CONDITIONS**

Jun 13, 2017

This Agreement between Mrs. Marisa Horta ("You") and Oxford University Press ("Oxford University Press") consists of your license details and the terms and conditions provided by Oxford University Press and Copyright Clearance Center.

License Number	4127060915041
License date	Jun 13, 2017
Licensed content publisher	Oxford University Press
Licensed content publication	The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism
Licensed content title	A Missense GATA3 Mutation, Thr272Ile, Causes the Hypoparathyroidism, Deafness, and Renal Dysplasia Syndrome
Licensed content author	Gaynor, Katherine U.; Grigorieva, Irina V.
Licensed content date	Oct 1, 2009
Type of Use	Thesis/Dissertation
Institution name	
Title of your work	Molecular and clinical characterization of an HDR syndrome case
Publisher of your work	n/a
Expected publication date	Jul 2017
Permissions cost	0.00 EUR
Value added tax	0.00 EUR
Total	0.00 EUR
Requestor Location	Mrs. Marisa Horta Av. Marques D Avila e Bolama n355 5DTO 6200-053 Covilha, 6200-053 Portugal Attn: Mrs. Marisa Horta
Publisher Tax ID	GB125506730
Billing Type	Invoice
Billing Address	Mrs. Marisa Horta Av. Marques D Avila e Bolama n355 5DTO 6200-053 Covilha, Portugal 6200-053 Attn: Mrs. Marisa Horta
Total	0.00 EUR
Terms and Conditions	

**STANDARD TERMS AND CONDITIONS FOR REPRODUCTION OF MATERIAL
FROM AN OXFORD UNIVERSITY PRESS JOURNAL**

1. Use of the material is restricted to the type of use specified in your order details.
2. This permission covers the use of the material in the English language in the following territory: world. If you have requested additional permission to translate this material, the terms and conditions of this reuse will be set out in clause 12.
3. This permission is limited to the particular use authorized in (1) above and does not allow you to sanction its use elsewhere in any other format other than specified above, nor does it

Anexo III. Autorização de reprodução de tabela - Tabela IV



J Clin Res Pediatr Endocrinol. 2015 Dec; 7(4): 344-348.
Published online 2015 Dec 3. doi: 10.4274/jcrpe.2248

PMCID: PMC4805226

A Novel De Novo GATA Binding Protein 3 Mutation in a Turkish Boy with Hypoparathyroidism, Deafness, and Renal Dysplasia Syndrome

Gül Yesiltepe Mutlu,^{1,4} Heves Kirmizibekmez,¹ Akie Nakamura,² Maki Fukami,² and Şükrü Hatun³

¹ Zeynep Kamil Gynecologic and Pediatric Training and Research Hospital, Clinic of Pediatric Endocrinology, Istanbul, Turkey

² National Research Institute for Child Health and Development, Setagaya, Japan

³ Kocaeli University Faculty of Medicine, Department of Pediatric Endocrinology and Diabetes, Kocaeli, Turkey

⁴ Address for Correspondence: Zeynep Kamil Gynecologic and Pediatric Training and Research Hospital, Clinic of Pediatric Endocrinology, Istanbul, Turkey Phone: +90 262 303 87 31 E-mail: gulyesiltepe@gmail.com

Received 2015 Jul 21; Accepted 2015 Sep 13.

Copyright © Journal of Clinical Research in Pediatric Endocrinology. Published by Galenos Publishing.

This is an open-access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License, which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

Abstract

Go to:

Hypoparathyroidism, deafness, and renal dysplasia (HDR; OMIM 146255) syndrome is a rare disease, inherited dominantly and found to be related with GATA3 (GATA binding protein 3) gene mutations. A 13-year and 8-month-old boy who presented with hypocalcemia was diagnosed with hypoparathyroidism. He also had dysmorphic facial features, renal anomaly (pelvic kidney), and mild sensorineural hearing loss. His cranial computed tomography revealed multiple calcifications in bilateral centrum semiovale, corona radiata, and basal ganglions suggesting a persistent hypoparathyroidism. Thus, the presence of triad of HDR syndrome was considered, and genetic analysis using a next-generation sequencer identified a novel de novo missense mutation in exon 4 p.R276Q (c.827G>A) of GATA3 gene. This is the second patient who was reported to have a mutation in GATA3 gene from Turkey. In conclusion, although HDR syndrome is a rare condition, it should be kept in mind in patients with hypoparathyroidism. Classical triad can easily be identified if patients diagnosed with hypoparathyroidism are also evaluated with a urinary tract ultrasound and an audiometer.

Keywords: GATA binding protein 3 gene, hypoparathyroidism, deafness, renal dysplasia

WHAT IS ALREADY KNOWN ON THIS TOPIC?

Hypoparathyroidism, deafness, and renal dysplasia is a rare syndrome, generally inherited dominantly and characterized with classic triad of hypoparathyroidism, deafness, and renal dysplasia. It is usually related to GATA3 (GATA binding protein 3) gene mutations.

WHAT THIS STUDY ADDS?

A novel heterozygous missense mutation p.R276Q(c.827G>A) in exon 4 of GATA3 gene was identified by DNA sequencing. The lack of this mutation in family members suggests that this is a de novo mutation, however, presence of renal anomaly in the mother suggested plausible mosaic somatic mutation in her ovaries and kidneys.

INTRODUCTION

Go to:

Anexo IV. Síntese do *Curriculum Vitae*

Nome: Marisa João Horta Ferreira

Data de nascimento: 31 de Maio de 1979

Residência: Sardoal

Contato: marisahorta@sapo.pt

Formação académica:

2011 a 2017 - Mestrado Integrado em Medicina - Actualmente a frequentar o 6º Ano

| Faculdade de Ciências da Saúde - Universidade da Beira Interior (FCS-UBI)

2008 a 2010 - Licenciatura em Enfermagem - Frequência do 2º ano em 2009/2010

| Escola Superior de Saúde Dr. Lopes Dias

2003 a 2004 - Pós-Graduação em Imunologia Clínica

| Faculdade de Ciências da Saúde - Universidade da Beira Interior

1997 a 2002 - Licenciatura em Análises Clínicas e Saúde Pública

| Escola Superior de Tecnologias da Saúde de Coimbra

Formação Complementar:

2013 (Agosto) - Modern Treatment of acute coronary syndromes with or without ST

elevation | Universidade de Medicina de Sófia / Queen Giovanna Hospital Sófia, Bulgária

2006 (Setembro a Outubro) - Certificado Aptidão Profissional (CAP), Universidade da Beira Interior“FORMAÇÃO PEDAGÓGICA INICIAL DE FORMADORES”. FDTI, duração total 100 horas.

Experiência profissional:

2002 a 2015 - Técnica de Análises Clínicas e De Saúde Pública | FCS - UBI

Responsável pelos Laboratórios Multidisciplinares / Bacteriologia / Farmacologia

2003 a 2011 - Simulação Médica - LaC: Clinical Skills Lab | FCS - UBI

Coordenação processos Ensino/Avaliações - 1º ao 6ºano de Medicina | Concursos Públicos

Aquisições

2011 a 2014 - Formadora | Grupo Viva Mais

Módulo Primeiros Socorros | Mais de 100 horas formação lecionada |

2009 a 2011 - Laboratórios de Prática Cirúrgica e Gestos Cirúrgicos | FCS - UBI

Concursos Públicos Aquisições | Colaboração e organização de cursos de formação interna e externa

2000 a 2002 - Técnica de Análises Clínicas e De Saúde Pública

Hospitais da Universidade de Coimbra | Imunohemoterapia

Centro Hospitalar de Coimbra | Microbiologia

Hospital de Santo André (Leiria) | Imunohemoterapia

Hospital de Faro | Microbiologia / Imunohemoterapia

Actividade Científica:

2002 a 2010 - 2008 a 2010 - Membro Integrado | 2002-2007 Investigadora Integrada

Centro de investigação em Ciências da Saúde (CICS) | FCS - UBI

- Colaboração em actividades inseridas em projectos de investigação

- Desenvolvimento e actualização da Base de Dados de Gestão de Reagentes

Projectos desenvolvidos:

- Síndrome HDR (hipoparatiroidismo, surdez e displasia renal) causado por uma nova mutação do gene Gata3

- Study of the genetics aspects of anergy in human T lymphocytes

Comunicações:

- 2016 - “SÍNDROME HDR CAUSADA POR UMA NOVA MUTAÇÃO DO GENE GATA3” Horta M, Lino C, Lemos MC, VIII Congresso MedUBI, Covilhã - Universidade da Beira Interior, Faculdade de Ciências da Saúde, 28 - 30 Outubro 2016

- 2000 - “Conhecimentos, Atitudes e Estado de Imunização Para o Vírus da Hepatite B em Alunos da Escola Superior de Tecnologias da Saúde de Coimbra”, Horta, M; Madeira, JC; Paiva, A, II Congresso Médico de Investigação, Faculdade de Medicina, Universidade de Coimbra, Novembro 2000