

## Duplicación 22q11.2 y Defectos Cardíacos Congénitos

Rafael Fabiano Machado Rosa<sup>1,2</sup>, Paulo Ricardo Gazzola Zen<sup>1,2</sup>, Cláudia Pires Ricachinevsky<sup>2</sup>, Carlo Benatti Pilla<sup>3</sup>, Vera Lúcia Berenstein Pereira<sup>1</sup>, Tatiana Roman<sup>1</sup>, Marilela Varella-Garcia<sup>3</sup>, Giorgio Adriano Paskulin<sup>1,2</sup>

Universidade Federal de Ciências da Saúde de Porto Alegre (UFCSA)<sup>1</sup>; Complexo Hospitalar Santa Casa de Porto Alegre (CHSCPA)<sup>2</sup>, Porto Alegre, RS - Brasil; University of Colorado Denver<sup>3</sup>, Aurora, Colorado - EUA

### Introducción

El síndrome de delección 22q11.2 (SD22q11) (OMIM #188400/ #192430), también conocido como síndrome Velocardiofacial y síndrome de DiGeorge, es considerado una enfermedad genética bastante común. Con una prevalencia estimada de uno a cada 2.000-6.000 nacimientos, este síndrome representa actualmente una de las principales causas conocidas de cardiopatía congénita<sup>1</sup>. Se sabe que la región q11.2 del cromosoma 22 presenta un rearreglo no usual, con regiones de repeticiones de bajo número de copias que, durante la meiosis, predisponen a un error de apareamiento entre los cromosomas y, por consiguiente, un *crossing-over* desigual, pudiendo llevar tanto a una delección (a la SD22q11) como a una duplicación de la región q11.2<sup>2-4</sup>. Esta última condición fue identificada recientemente y fue caracterizada por un espectro fenotípico extremadamente variable que incluye la presencia, entre tantas anomalías, de defectos cardíacos congénitos<sup>4-6</sup>. Con todo, todavía se desconoce la real frecuencia de tales malformaciones en individuos con la duplicación 22q11.2, así como la de esta duplicación en pacientes con cardiopatía congénita<sup>3</sup>.

Este estudio tiene como objetivo verificar la incidencia de duplicación 22q11.2 en una muestra de pacientes con cardiopatía congénita, internados en una unidad de tratamiento intensivo (UTI) cardiológica de un hospital pediátrico en Brasil.

### Métodos

La muestra estuvo constituida por pacientes hospitalizados por cardiopatía congénita en la UTI cardiológica del Hospital da Criança Santo Antônio (HCSA/CHSCPA), Rio Grande do Sul, Brasil, durante el período de un año. Se incluyeron sólo individuos internados por primera vez en esa UTI. Los pacientes se dispusieron en forma prospectiva y consecutiva,

correspondiendo a los pacientes presentes en el estudio realizado por Rosa et al<sup>1</sup>, que evaluó la incidencia de la SD22q11 por medio de cariotipo de alta resolución por bandas GTG (550 bandas) y técnica de hibridación *in situ* fluorescente (FISH). La primera evaluación se realizó en microscopio *Axioskop Zeiss*, por medio de análisis de 25 placas metafásicas para cada paciente. En los casos de sospecha de mosaïcismo, este conteo se expandió a 100.

El análisis por la técnica de FISH se realizó a partir del material fijado utilizado para análisis cariotípico. En estos experimentos se usó la sonda de ADN disponible comercialmente *DiGeorge/VCFS Region Probe (TUPLE 1)* (Vysis, Abbott Molecular Inc.), por medio de un protocolo de codensnaturalización estándar. En cada caso se analizaron 20 placas metafásicas y 100 núcleos interfásicos, por medio del microscopio de epifluorescencia *Zeiss Axio Imager M1*, equipado con filtros *Texas Red, FITC, DAPI*, doble y triple. En casos con sospecha de mosaïcismo, el conteo se expandió para 30 placas metafásicas y 500 núcleos interfásicos. Se excluyeron del análisis metafásis incompletas, muy próximas entre sí y con alta señal de fondo. Lo mismo se realizó para núcleos interfásicos con ruptura o desgaste por el tratamiento químico, sobrepuestos o con una señal de fondo importante.

Este trabajo fue aprobado por el Comité de Ética en Investigación de la Institución.

### Resultados

De la muestra inicial de 235 pacientes que había sido hospitalizados por primera vez en la UTI cardiológica, 28 de ellos no fueron incluidos en el estudio, sea por motivo de óbito ( $n = 11$ ) o por recibir alta hospitalaria antes de la evaluación ( $n = 4$ ), o incluso por el hecho de los padres haber optado por no participar en el trabajo ( $n = 13$ ). De los 207 individuos restantes, en tres no se pudo realizar la evaluación cariotípica.

Así, de los 204 pacientes que componían la muestra final, 29 (14,2%) presentaban anomalías cromosómicas. Con todo, ninguna de esas alteraciones involucraba una duplicación de la región 22q11.2. Del total de pacientes, en 198 se pudo realizar la técnica de FISH, detectándose en 4 de ellos (2%) microdelección 22q11.2. No se observaron casos de microduplicación 22q11.2, ni por análisis de las placas metafásicas ni de los núcleos interfásicos.

### Discusión

La técnica de FISH es un método que integra el uso de la citogenética clásica con la genética molecular, posibilitando

### Palabras clave

Cardiopatías congénitas, duplicación génica, trastornos cromosómicos, mosaïcismo.

Correspondencia: Giorgio Adriano Paskulin •

Genética Clínica UFCSA - Rua Sarmento Leite, 245/403 - Centro - 90050-170 - Porto Alegre, RS - Brasil

E-mail: paskulin@ufcsa.edu.br

Artículo recibido el 12/01/09; revisado recibido el 21/05/09; aceptado el 22/06/09.

la identificación de regiones cromosómicas específicas por medio del uso de sondas de ADN marcadas con fluorocromos. La sonda *TUPLE1*, utilizada en el presente estudio, reconoce tanto el gen homónimo como los microsatélites D22S553, D22S609, y D22S942 localizados dentro de la región que comúnmente sufre la delección en la SD22q11. Esta región corresponde también a la usualmente duplicada, pues, como vimos antes, un error en el apareamiento, seguido por una recombinación de la región 22q11.2, puede conducir tanto a la pérdida como a la duplicación de partes de este segmento cromosómico. En teoría, estos eventos deberían ocurrir con igual frecuencia. No obstante, relatos del síndrome de duplicación 22q11.2 son bastante raros en comparación con la SD22q11<sup>4-6</sup>.

Algunos autores especulan que, probablemente, la duplicación 22q11.2 pueda ser subdiagnosticada debido tanto a su gran variabilidad clínica como a dificultades técnicas<sup>2-8</sup>. La mayor parte de las duplicaciones es microscópica (microduplicaciones), y de esta forma escapan al análisis cromosómico de rutina. Además de ello, el estudio por la técnica de FISH de metafisis es inadecuado para excluir la duplicación 22q11.2, siendo que la evaluación de núcleos interfásicos es necesaria para obtener un diagnóstico preciso<sup>2,3,7</sup>. Una posible explicación para ello es que el menor nivel de condensación de la cromatina en los núcleos interfásicos permite una mejor discriminación de las dos señales fluorescentes próximas, evidenciadas en los casos de duplicación, al contrario de lo que sucede en las metafisis, donde los cromosomas se muestran más condensados, dando la impresión de la presencia de sólo una señal<sup>5</sup>.

A pesar de que muchos de los casos de duplicación se hayan identificado en test de selección para pacientes con sospecha de SD22q11<sup>2,4,7</sup>, sólo parece haber una sobreposición

parcial entre los fenotipos de ambas condiciones<sup>3-5</sup>. Defectos cardíacos, especialmente del tipo conotruncal, son frecuentes en pacientes con la SD22q11. Por otro lado, el síndrome es considerado una de las causas conocidas más frecuentes de cardiopatía congénita, con una frecuencia que oscila entre 1-19%<sup>1</sup>. En nuestro trabajo, este índice fue del 2%, sin casos de duplicación 22q11.2. Se han descrito defectos cardíacos en un quinto de los pacientes con esa duplicación (en este conteo se consideraron también relatos presentados en forma de resumen, los cuales incluían un paciente con coartación de aorta; uno con insuficiencia mitral y aórtica; uno con tetralogía de Fallot; y uno con defecto cardíaco desconocido)<sup>5,6</sup>. La Tabla 1 lista los diferentes tipos de malformaciones cardíacas relatadas en pacientes con la duplicación 22q11.2. Se destacan entre ellas las de tipo conotruncal (que involucran las vías de salida del corazón), correspondiendo a cerca de la mitad de los casos<sup>2,7</sup>.

Sin embargo, esta frecuencia de defectos cardíacos, como se dijo anteriormente, puede representar un sesgo, pues muchos pacientes con duplicación se identificaron a partir de muestras de individuos con sospecha de SD22q11. Esto concuerda con las bajas frecuencias o incluso la ausencia de pacientes con la duplicación entre individuos con hallazgos clínicos de la SD22q11<sup>2,6</sup>. Sivertsen et al<sup>9</sup>, por ejemplo, tampoco encontraron ningún caso de duplicación 22q11.2 entre 169 pacientes con paladar hendido, hallazgo frecuente en la SD22q11 (en este estudio la frecuencia de la delección fue del 1,2%). Tal vez la mejor caracterización clínica de estos paciente haya sido realizada por Ou et al<sup>4</sup> que, después de la evaluación por medio de la técnica de hibridación genómica comparativa por microarreglos (aCGH) de 7.000 casos referenciados por diversas indicaciones clínicas, verificaron la presencia de duplicaciones 22q11.2

**Tabla 1 - Tipo y frecuencia de los diferentes defectos cardíacos descritos en los pacientes portadores de duplicación 22q11.2 relatados en la bibliografía**

| Defectos cardíacos | Ensenauer et al (2003) <sup>2</sup> |      | Yobb et al (2005) <sup>7</sup> |      | Sparkes et al (2005) <sup>3</sup> |      | De La Rochebrochard et al (2006) <sup>5</sup> | Ou et al (2008) <sup>4</sup> | Laitenberger et al (2008) <sup>6</sup> | TOTAL |
|--------------------|-------------------------------------|------|--------------------------------|------|-----------------------------------|------|---|------------------------------|--|-------|
|                    | Pt.1                                | Pt.2 | Pt.1                           | Pt.2 | Pt.1                              | Pt.2 |   |                              |  |       |
| TOF                | +                                   |      | +                              |      | +                                 |      |   |                              |  | 3     |
| HCI                |                                     | +    |                                | +    |                                   | +    |   |                              |  | 3     |
| TGA                |                                     |      |                                |      |                                   |      | +   |                              | +                                      | 2     |
| IAAo               |                                     | +    |                                |      |                                   |      |   |                              |  | 1     |
| Atrio único        |                                     |      |                                |      |                                   |      | +   |                              |  | 1     |
| DVSVD              |                                     |      |                                |      |                                   |      | +   |                              |  | 1     |
| RVPAT              |                                     |      |                                |      |                                   |      | +   |                              |  | 1     |
| VCSI               |                                     |      |                                |      |                                   |      | +   |                              |  | 1     |
| CIV                |                                     |      |                                |      |                                   |      | +   |                              |  | 1     |
| FOP                |                                     |      |                                |      |                                   |      |   | +                            |  | 1     |
| ASDA               |                                     |      |                                |      |                                   |      |   | +                            |  | 1     |
| Ebstein            |                                     |      |                                |      |                                   |      |   |                              | +                                      | 1     |

TOF - Tetralogía de Fallot ; HCI - Hipoplasia de corazón izquierdo; TGA - Transposición de las grandes arterias; IAAo - Interrupción del arco aórtico; DVSVD - Doble vía de salida del ventrículo derecho; RVPAT - Retorno Venoso Pulmonar Anómalo total; VCSI - persistencia de vena cava superior izquierda; CIV - comunicación interventricular; FOP - Foramen oval permeable; ASDA - Arteria subclavia derecha anómala; Ebstein - anomalía de Ebstein.

en 19 pacientes. Éstos se caracterizan, principalmente, por un fenotipo leve y altamente variable que incluye dismorfias craneofaciales (como fisuras palpebrales oblicuas hacia arriba, raíz nasal achatada y ancha, micrognatia, rotación posterior de la oreja y fosetas preauriculares) y de miembros (como clinodactilia de quintos dedos de la manos y pliegue palmar único), retraso en el desarrollo neuropsicomotor y del habla, déficit auditivo y trastornos de comportamiento. Sólo en un paciente se observaron alteraciones cardíacas (ver Tabla 1)<sup>4</sup>.

### Conclusiones

A pesar de que nuestros hallazgos se limitaron a una población de individuos portadores de cardiopatía congénita hospitalizados en una UTI cardiológica, éstos, además de los resultados ya descritos en la bibliografía, indican que muy posiblemente el fenotipo de los individuos con la duplicación 22q11.2 relatado no sea representativo de esta condición. Defectos cardíacos parecen, al contrario de lo que ocurre en los pacientes con la SD22q11, no ser un hallazgo mayor en esos individuos.

### Referencias

1. Rosa RF, Pilla CB, Pereira VL, Flores JA, Golendziner E, Koshiyama DB, et al. 22q11.2 deletion syndrome in patients admitted to a cardiac pediatric intensive care unit in Brazil. *Am J Med Genet A*. 2008; 146A: 1655-61.
2. Ensenauer RE, Adeyinka A, Flynn HC, Michels VV, Lindor NM, Dawson DB, et al. Microduplication 22q11.2, an emerging syndrome: clinical, cytogenetic, and molecular analysis of thirteen patients. *Am J Hum Genet*. 2003; 73: 1027-40.
3. Sparkes R, Chernos J, Dicke F. Duplication of the 22q11.2 region associated with congenital cardiac disease. *Cardiol Young*. 2005; 15: 229-31.
4. Ou Z, Berg JS, Yonath H, Enciso VB, Miller DT, Picker J, et al. Microduplications of 22q11.2 are frequently inherited and are associated with variable phenotypes. *Genet Med*. 2008; 10: 267-77.
5. de La Rochebrochard C, Joly-Hélas G, Goldenberg A, Durand I, Laquerrière A, Ickowicz V, et al. The intrafamilial variability of the 22q11.2 microduplication encompasses a spectrum from minor cognitive deficits to severe congenital

### Agradecimientos

Agradecemos a la Coordinación de Perfeccionamiento de Personal de Nivel Superior (CAPES, por su sigla en portugués) por la beca de estudios recibida.

### Potencial Conflicto de Intereses

Declaro no haber conflicto de intereses pertinentes.

### Fuentes de Financiación

El presente estudio fue financiado por el programa de Postgrado en Patología de la UFCSPA, University of Colorado Denver (EEUU) y CAPES.

### Vinculación Académica

Este artículo forma parte de la disertación de Maestría de Rafael Fabiano Machado Rosa, Tatiana Roman y Giorgio Adriano Paskulin por el Programa de Postgrado en Patología de la Universidad Federal de Ciencias de la Salud de Porto Alegre (UFCSPA).

anomalies. *Am J Med Genet A*. 2006; 140: 1608-13.

6. Courtens W, Schramme L, Laridon A. Microduplication 22q11.2: a benign polymorphism or a syndrome with a very large clinical variability and reduced penetrance? - Report of two families. *Am J Med Genet A*. 2008; 146A: 758-63.
7. Yobb TM, Somerville MJ, Willatt L, Firth HV, Harrison K, MacKenzie J, et al. Microduplication and triplication of 22q11.2: a highly variable syndrome. *Am J Hum Genet*. 2005; 76: 865-76.
8. Laitenberger G, Donner B, Gebauer J, Hoehn T. D-transposition of the great arteries in a case of microduplication 22q11.2. *Pediatr Cardiol*. 2008; 29: 1104-6.
9. Sivertsen Å, Lie RT, Wilcox AJ, Åbyholm F, Vindenes H, Haukanes BI, et al. Prevalence of duplications and deletions of the 22q11 DiGeorge syndrome region in a population-based sample of infants with cleft palate. *Am J Med Genet A*. 2007; 143A: 129-34.