

## Duplicação 22q11.2 e Defeitos Cardíacos Congênitos

### 22q11.2 Duplication and Congenital Heart Defects

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>2</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

### Introdução

A síndrome de deleção 22q11.2 (SD22q11) (OMIM #188400/ #192430), também conhecida como síndrome Velocardiofacial e síndrome de DiGeorge, é considerada uma doença genética bastante comum. Com uma prevalência estimada de um para cada 2.000-6.000 nascimentos, essa síndrome representa, atualmente, uma das principais causas conhecidas de cardiopatia congênita<sup>1</sup>. Sabe-se que a região q11.2 do cromossomo 22 apresenta um rearranjo não usual, com regiões de repetições de baixo número de cópias que, durante a meiose, predisõem a um erro de pareamento entre os cromossomos e, consequentemente, um *crossing-over* desigual, podendo levar tanto a uma deleção (à SD22q11) como a uma duplicação da região q11.2<sup>2-4</sup>. Esta última condição foi identificada recentemente e tem sido caracterizada por um espectro fenotípico extremamente variável, que inclui a presença, entre tantas anormalidades, de defeitos cardíacos congênitos<sup>4,6</sup>. Contudo, ainda se desconhece a real frequência de tais malformações em indivíduos com a duplicação 22q11.2, bem como a desta duplicação em pacientes com cardiopatia congênita<sup>3</sup>.

Este estudo tem como objetivo verificar a incidência de duplicação 22q11.2 em uma amostra de pacientes com cardiopatia congênita, internados em uma unidade de tratamento intensivo (UTI) cardiológica de um hospital pediátrico no Brasil.

### Métodos

A amostra foi constituída por pacientes hospitalizados por cardiopatia congênita na UTI cardiológica do Hospital da Criança Santo Antônio (HCSA/ CHSCPA), Rio Grande do Sul, Brasil, durante o período de um ano. Foram incluídos somente indivíduos internados pela primeira vez nessa UTI. Os pacientes foram alocados de forma prospectiva e consecutiva, correspondendo aos pacientes presentes no estudo realizado

### Palavras-chave

Cardiopatias congênitas, duplicação gênica, transtornos cromossômicos, mosaicismos.

#### Correspondência: Giorgio Adriano Paskulin •

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

E-mail: paskulin@ufcsa.edu.br

Artigo recebido em 12/01/09; revisado recebido em 21/05/09; aceito em 22/06/09.

por Rosa e cols.<sup>1</sup>, que avaliou a incidência da SD22q11 por meio do cariótipo de alta resolução por bandas GTG (550 bandas) e técnica de hibridização *in situ* fluorescente (FISH). A primeira avaliação foi realizada em um microscópio *Axioskop Zeiss*, por meio da análise de 25 placas metafásicas para cada paciente. Nos casos suspeitos de mosaicismos, essa contagem foi expandida para 100.

A análise pela técnica de FISH foi realizada a partir do material fixado utilizado para análise cariotípica. Nesses experimentos, fez-se uso da sonda de DNA comercialmente disponível *DiGeorge/VCFS Region Probe (TUPLE 1)* (Vysis, Abbott Molecular Inc.), por meio de um protocolo de codenaturação padrão. Em cada caso, foram analisados 20 placas metafásicas e 100 núcleos interfásicos, por meio do microscópio de epifluorescência *Zeiss Axio Imager M1*, equipado com filtros *Texas Red, FITC, DAPI*, duplo e triplo. Em casos com suspeita de mosaicismos, a contagem foi expandida para 30 placas metafásicas e 500 núcleos interfásicos. Metáfases incompletas, muito próximas entre si e com alto sinal de fundo foram excluídas da análise. O mesmo se fez para núcleos interfásicos rompidos, desgastados pelo tratamento químico, sobrepostos ou com um importante sinal de fundo.

Este trabalho foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Instituição.

### Resultados

Da amostra inicial de 235 pacientes que haviam sido hospitalizados pela primeira vez na UTI cardiológica, 28 deles não foram incluídos no estudo ou por motivo de óbito ( $n = 11$ ) ou por receberem alta hospitalar antes da avaliação ( $n = 4$ ), ou ainda pelo fato dos pais optarem em não participar do trabalho ( $n = 13$ ). Dos 207 indivíduos restantes, em três a avaliação cariotípica não pôde ser realizada.

Assim, dos 204 pacientes que compuseram a amostra final, 29 (14,2%) apresentavam anormalidades cromossômicas. Nenhuma dessas alterações, contudo, envolvia uma duplicação da região 22q11.2. Do total de pacientes, em 198 pôde ser realizada a técnica de FISH, sendo que em 4 deles (2%) a microdeleção 22q11.2 foi detectada. Não foram observados casos de microduplicação 22q11.2, nem pela análise das placas metafásicas nem dos núcleos interfásicos.

### Discussão

A técnica de FISH é um método que integra o uso da citogenética clássica com a genética molecular, possibilitando

## Comunicação Breve

a identificação de regiões cromossômicas específicas por meio do uso de sondas de DNA marcadas com fluorocromos. A sonda *TUPLE1*, utilizada no presente estudo, reconhece tanto o gene homônimo como os microssatélites D22S553, D22S609, e D22S942 localizados dentro da região comumente deletada na SD22q11. Essa região corresponde também à usualmente duplicada, pois, como vimos antes, um erro no pareamento, seguido por uma recombinação da região 22q11.2, pode levar tanto à perda como à duplicação de partes deste segmento cromossômico. Em teoria, esses eventos deveriam ocorrer com igual frequência. Entretanto, relatos da síndrome de duplicação 22q11.2 têm sido bastante raros em comparação com a SD22q11<sup>4-6</sup>.

Alguns autores têm especulado que, provavelmente, a duplicação 22q11.2 possa ser subdiagnosticada, devido tanto à sua grande variabilidade clínica como a dificuldades técnicas<sup>2-8</sup>. A maior parte das duplicações é microscópica (microduplicações) e, desta forma, escapam à análise cromossômica de rotina. Além disso, o estudo pela técnica de FISH de metáfases é inadequado para excluir a duplicação 22q11.2, sendo que a avaliação de núcleos interfásicos é necessária para que se obtenha um diagnóstico acurado<sup>2,3,7</sup>. Uma possível explicação para isso é que o menor nível de condensação da cromatina nos núcleos interfásicos permite uma melhor discriminação dos dois sinais fluorescentes próximos, evidenciados nos casos de duplicação, ao contrário do que acontece nas metáfases, onde os cromossomos mostram-se mais condensados, dando a impressão da presença de apenas um sinal<sup>5</sup>.

Apesar de muitos dos casos de duplicação terem sido identificados em testes de triagem para pacientes com suspeita de SD22q11<sup>2,4,7</sup>, parece haver somente uma sobreposição parcial entre os fenótipos de ambas as condições<sup>3-5</sup>. Defeitos

cardíacos, especialmente do tipo conotruncal, são frequentes entre pacientes com a SD22q11. Por outro lado, a síndrome é tida como uma das causas conhecidas mais frequentes de cardiopatia congênita, com uma frequência que oscila entre 1-19%<sup>1</sup>. Em nosso trabalho, esse índice foi de 2%, sendo que não houve casos de duplicação 22q11.2. Defeitos cardíacos têm sido descritos em um quinto dos pacientes com essa duplicação (nesta contagem, foram considerados também relatos apresentados na forma de resumo, os quais incluíam um paciente com coarctação de aorta; um com insuficiência mitral e aórtica; um com tetralogia de Fallot; e um com defeito cardíaco desconhecido)<sup>5,6</sup>. A Tabela 1 lista os diferentes tipos de malformações cardíacas relatados em pacientes com a duplicação 22q11.2. Destacam-se, entre elas, as do tipo conotruncal (que envolvem as vias de saída do coração), correspondendo a cerca de metade dos casos<sup>2,7</sup>.

Entretanto, essa frequência de defeitos cardíacos, como anteriormente colocado, pode representar um viés, pois muitos dos pacientes com duplicação foram identificados a partir de amostras de indivíduos com suspeita de SD22q11. Isso é condizente com as baixas frequências ou mesmo a ausência de pacientes com a duplicação entre indivíduos com achados clínicos da SD22q11<sup>2,6</sup>. Sivertsen e cols.<sup>9</sup>, por exemplo, também não encontraram nenhum caso de duplicação 22q11.2 entre 169 pacientes com fenda palatina, um achado frequente na SD22q11 (neste estudo, a frequência da deleção foi de 1,2%). Talvez a melhor caracterização clínica desses pacientes tenha sido realizada por Ou e cols.<sup>4</sup> que, após a avaliação por meio da técnica de hibridização genômica comparativa por microarranjos (aCGH) de 7.000 casos referenciados por diversas indicações clínicas, verificaram a presença de duplicações 22q11.2 em 19 pacientes. Estes se caracterizaram, principalmente, por

**Tabela 1 - Tipo e frequência dos diferentes defeitos cardíacos descritos nos pacientes portadores de duplicação 22q11.2 relatados na literatura**

| Defeitos cardíacos | Ensenauer e cols. (2003) <sup>2</sup> |      | Yobb e cols. (2005) <sup>7</sup> |      | Sparkes e cols. (2005) <sup>3</sup> |      | De La Rochebrochard e cols. (2006) <sup>5</sup> | Ou e cols. (2008) <sup>4</sup> | Laitenberger e cols. (2008) <sup>8</sup> | Total |
|--------------------|---------------------------------------|------|----------------------------------|------|-------------------------------------|------|---|--------------------------------|--|-------|
|                    | Pt.1                                  | Pt.2 | Pt.1                             | Pt.2 | Pt.1                                | Pt.2 |   |                                |  |       |
| TOF                | +                                     |      | +                                |      | +                                   |      |   |                                |  | 3     |
| HCE                |                                       | +    |                                  | +    |                                     | +    |   |                                |  | 3     |
| TGA                |                                       |      |                                  |      |                                     |      | +   |                                | +  | 2     |
| IAAo               |                                       | +    |                                  |      |                                     |      |   |                                |  | 1     |
| Átrio único        |                                       |      |                                  |      |                                     |      | +   |                                |  | 1     |
| DVSVD              |                                       |      |                                  |      |                                     |      | +   |                                |  | 1     |
| RVPAT              |                                       |      |                                  |      |                                     |      | +   |                                |  | 1     |
| VCSE               |                                       |      |                                  |      |                                     |      | +   |                                |  | 1     |
| CIV                |                                       |      |                                  |      |                                     |      | +   |                                |  | 1     |
| FOP                |                                       |      |                                  |      |                                     |      |   | +                              |  | 1     |
| ASDA               |                                       |      |                                  |      |                                     |      |   | +                              |  | 1     |
| Ebstein            |                                       |      |                                  |      |                                     |      |   |                                | +  | 1     |

TOF - Tetralogia de Fallot; HCE - Hipoplasia do coração esquerdo; TGA - Transposição das grandes artérias; IAAo - Interrupção do arco aórtico; DVSVD - Dupla via de saída de ventrículo direito; RVPAT - Retorno venoso pulmonar anômalo total; VCSE - persistência de veia cava superior esquerda; CIV - comunicação interventricular; FOP - Forame oval patente; ASDA - Artéria subclávia direita anômala; Ebstein - anomalia de Ebstein.

um fenótipo leve e altamente variável que incluiu dismorfias craniofaciais (como fendas palpebrais oblíquas para cima, raiz nasal achatada e larga, micrognatia, orelhas rotadas posteriormente e fossetas pré-auriculares) e de membros (como clinodactilia de quintos dedos das mãos e prega palmar única), atraso no desenvolvimento neuropsicomotor e de fala, déficit auditivo e transtornos comportamentais. Alterações cardíacas foram observadas somente em um paciente (ver Tabela 1)<sup>4</sup>.

## Conclusões

Apesar de nossos achados limitarem-se a uma população de indivíduos portadores de cardiopatia congênita, hospitalizados em uma UTI cardiológica, eles, em adição aos resultados já descritos na literatura, indicam que, muito possivelmente, o fenótipo dos indivíduos com a duplicação 22q11.2 relatado não seja representativo desta condição. Defeitos cardíacos parecem, ao contrário do que ocorre nos pacientes com a SD22q11, não ser um achado maior nesses indivíduos.

## Referências

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

## Agradecimentos

Agradecemos à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela bolsa de estudos recebida.

## Potencial Conflito de Interesses

Declaro não haver conflito de interesses pertinentes.

## Fontes de Financiamento

O presente estudo foi financiado pelo programa de Pós-graduação em Patologia da UFCSPA, University of Colorado Denver (EUA) e CAPES.

## Vinculação Acadêmica

Este artigo é parte de dissertação de Mestrado de Rafael Fabiano Machado Rosa, Tatiana Roman e Giorgio Adriano Paskulin pela Programa de Pós-graduação em Patologia da Universidade Federal de Ciências da Saúde 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.