

CARDIOPATIAS CONGÊNITAS EM INDIVÍDUOS BRASILEIROS COM SÍNDROME DE DELEÇÃO 22q11.2 E POSSÍVEL RELAÇÃO COM A ORIGEM PARENTAL

Palavras-Chave: Síndrome de DiGeorge, Síndrome Velocardiofacial, Síndrome de Deleção 22q11.2, cardiopatias congênitas, Origem parental.

Autores/as:

FÁBIO DE OLIVEIRA COSTA [FCM- UNICAMP]

MELISSA BITTENCOURT WALLAU [DEPARTAMENTO DE MEDICINA TRANSLACIONAL – ÁREA DE GENÉTICA MÉDICA E MEDICINA GENÔMICA. FCM-UNICAMP]

Prof^a/Dr^a/ VERA LÚCIA GIL DA SILVA LOPES [DEPARTAMENTO DE MEDICINA TRANSLACIONAL – ÁREA DE GENÉTICA MÉDICA E MEDICINA GENÔMICA. FCM-UNICAMP]

Prof./ Dr./ TÁRSIS ANTONIO PAIVA VIEIRA [DEPARTAMENTO DE MEDICINA TRANSLACIONAL – ÁREA DE GENÉTICA MÉDICA E MEDICINA GENÔMICA. FCM-UNICAMP]

INTRODUÇÃO:

A Síndrome de Deleção 22q11.2, descrita pela primeira vez em 1965 como Síndrome de DiGeorge é causada pela deleção de um pequeno segmento do braço longo do cromossomo 22, na região 1, banda 1 e sub-banda 2. A característica mais marcante da síndrome está relacionada com o fato de haver um grande espectro fenotípico e elevada variabilidade clínica de manifestações e alterações, dentre as quais se destacam as alterações cardiovasculares, que foram objeto de pesquisa deste projeto. Além disso, para a SD22q11.2 existem poucos estudos que comparam os sinais clínicos dos pacientes com a origem parental, e que contém em sua maioria, casuísticas pequenas.

Sob a luz destes fatos, este projeto teve como objetivo descrever a frequência e tipos de cardiopatias congênitas em indivíduos brasileiros com a SD22q11.2, e estabelecer uma correlação entre a frequência de cardiopatia com a origem parental da deleção em SD22q11.2.

METODOLOGIA:

Casuística

O estudo incluiu 127 pacientes da base de dados do Projeto Crânio- Face Brasil (PCFB). Todas as informações clínicas desses pacientes já foram coletadas anteriormente e foram inseridas nessa base de dados. Os participantes eram provenientes de diferentes regiões do país e seus dados foram coletados em 12 diferentes centros de atendimento em genética clínica, os quais contribuíram com os dados para a pesquisa multicêntrica. Neste estudo, foram incluídos apenas pacientes que tiveram a SD22q11.2 confirmada após realização de teste de FISH (Hibridização *in situ* fluorescente ou MLPA (*Multiplex Ligaton-dependent Probe amplification*)). Foram coletadas as amostras dos pais dos indivíduos com a síndrome para a determinação de origem parental.

Descrição de frequência e tipos de cardiopatias

Para esta etapa foi realizada inicialmente uma compilação dos dados preexistentes na base do Projeto Crânio-Face Brasil (PCFB). Os dados continham informações a respeito da presença de malformações cardiovasculares e, caso sim, quais os tipos de malformações cardiovasculares observadas.

A identificação das alterações foi realizada previamente através de exames como ecocardiogramas e/ou eletrocardiogramas. Os dados coletados foram compilados e analisados utilizando o programa Excel (Microsoft®). Foram contabilizados pacientes que não apresentavam qualquer tipo de cardiopatia e pacientes que as apresentavam. Dentro deste segundo grupo, foram contabilizados os principais tipos de cardiopatias presentes através de um cálculo de divisão simples: nº de pacientes com cardiopatia específica/nº total de pacientes com cardiopatias.

A caracterização dos principais tipos de cardiopatias e a comparação com a literatura teve como base os artigos de (MCDONALD-MCGINN; SULLIVAN, 2011), (GRASSI; JACOB; KULIKOWSKI; PASTORINO et al., 2014) e (RAYANNAVAR; LEVITT KATZ; CROWLEY; LESSIG et al., 2018).

A relação de idade no diagnóstico dos pacientes com presença ou não de cardiopatias foi realizada utilizando-se média simples. Para comparação de peso e estatura ao diagnóstico dos pacientes foram adotadas cinco faixas distintas de percentis: menor que P2, entre P2 e P25, entre P25 e P75, entre P75 e P98, e maior que P98. Os percentis considerados correspondem a percentis específicos para pacientes com a SD22q11.2, que foram obtidos do artigo (TARQUINIO; JONES; JONES; BIRD, 2012). O número de pacientes correspondente a cada faixa de percentil foi contabilizado tanto para peso quanto estatura e, em seguida, foram calculadas as frequências de cada percentil, dividindo-se o número de pacientes de determinado percentil pelo total de pacientes considerando todas as faixas de percentis. Este processo foi realizado separadamente tanto para o grupo de pacientes sem cardiopatias, quanto para o de pacientes com cardiopatias.

Determinação da Origem Parental

Para a determinação da origem parental da deleção, utilizaram-se amostras de DNA de indivíduos afetados e de ambos os seus genitores, que foram extraídas previamente a partir de amostras de sangue periférico. Para amplificação, por reação em cadeia da polimerase, utilizou-se 0,2 µL de DNA com concentração de 100 ng/µL e 0,6 µL dos primers de cada marcador de DNA microssatélite (D22S941, D22S944, D22S264, D22S1638, D22S311 e D22S1623) marcados com fluorescência, além do kit Taq DNA polimerase (Thermo-Fisher D1806) como descrito pelo fabricante. O programa utilizado para amplificação foi iniciado com um processo de desnaturação a 94 °C por 5 minutos seguido de 20 ciclos de 94 °C por 30 segundos, 65°C por 30 segundos e 72 °C por 1 minuto, e outros 30 ciclos subsequentes de 94 °C por 30 segundos, 55 °C por 30 segundos e 72 °C por 1 minuto cada, com uma etapa final de 72 °C por 10 minutos. Os produtos de amplificação foram então analisados no sistema de eletroforese capilar (Applied Biosystems 3500xl Genetic Analyzer®). Os resultados obtidos foram analisados no programa Peak Scanner (Thermo Fisher Connect™) disponível eletronicamente para determinação dos alelos.

RESULTADOS E DISCUSSÃO:

Descrição de frequência e tipos de cardiopatias

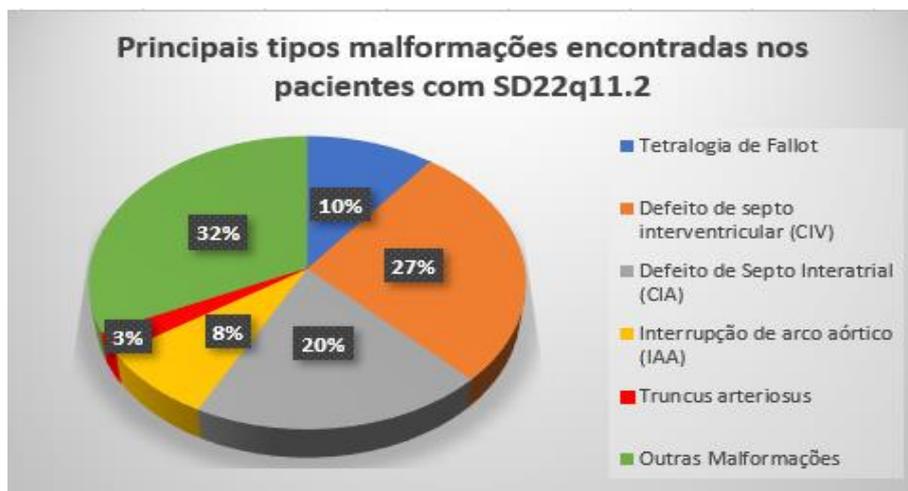
Após a compilação e análise dos dados de 127 pacientes com SD22q11.2 registrados na base do PCFB, constatou-se que 73 apresentavam uma ou mais cardiopatias, enquanto 54 dos pacientes não apresentaram nenhum tipo de cardiopatia. Dos 54 pacientes, 29 realizaram ecocardiograma que constatou ausência de malformações cardíacas.

Com relação à idade ao diagnóstico, constatou-se que pacientes com cardiopatias tiveram diagnóstico mais precoce, com média de idade de 7,8 anos. Já os pacientes que não apresentavam cardiopatias apresentaram uma média mais elevada, correspondendo a 12 anos. Considerando a idade no diagnóstico dos pacientes em geral, a média obtida foi de 9,6 anos. Os pacientes diagnosticados com cardiopatias foram divididos de acordo com o número de malformações cardíacas presentes, variando de 1 a 4. O número de pacientes por grupo e a frequência estão contidos na tabela abaixo:

Número de Malformações Cardiovasculares Associadas	Número de Pacientes	Frequência
1	42	0,66
2	13	0,18
3	9	0,13
4	7	0,10

Os resultados mostram que a maior parte dos pacientes apresentava apenas 1 tipo de malformação cardíaca de relevância médica. Com o aumento da quantidade de cardiopatias o número de pacientes e a frequência diminuíram.

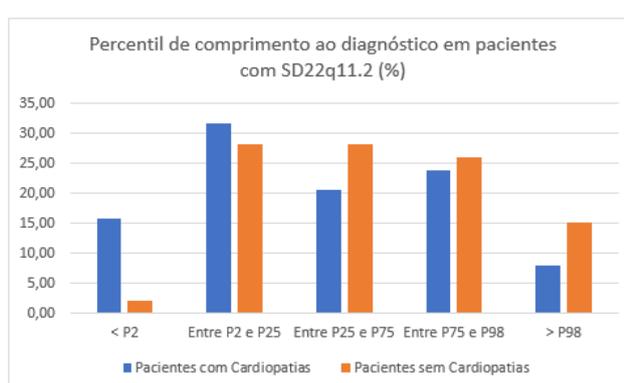
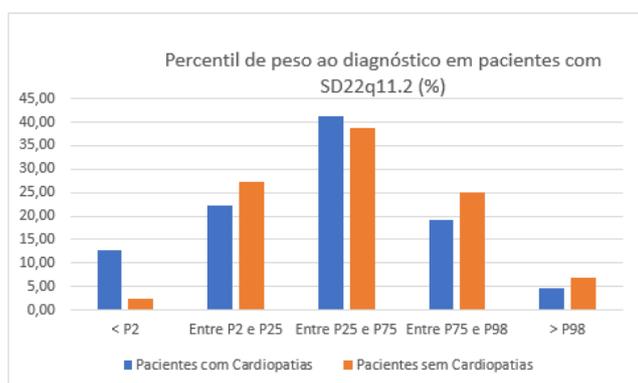
Com relação aos principais tipos de malformações cardíacas encontrados em pacientes com a SD22q11.2, observou-se que 32 pacientes apresentavam defeito do septo interventricular (CIV), 24 apresentavam defeito do septo interatrial (CIA), 11 pacientes apresentavam Tetralogia de Fallot, 10 apresentavam interrupção do arco aórtico (IAA), 3 apresentavam truncus arteriosus e 40 apresentavam outros tipos de malformações cardíacas. Os dados estão apresentados no gráfico abaixo em percentual:



Com relação à incidência de cardiopatias relacionadas ao sexo do paciente, obteve-se a seguinte distribuição, apresentada na tabela abaixo:

Sexo do paciente	Nº pacientes c/ cardiopatias	Nº pacientes s/cardiopatias	Total
Masculino	31	18	49
Feminino	42	36	78

Dentre os pacientes presentes no estudo, a maioria era composta por pacientes do sexo feminino. Houve um maior número bruto de pacientes do sexo feminino com cardiopatias. Tomando como foco a relação entre peso e estatura ao diagnóstico e presença ou não de cardiopatias, foram obtidos os seguintes resultados apresentados nos gráficos abaixo:



Origem parental da deleção

Com relação aos dados de origem parental da deleção, obteve-se o resultado da definição da origem parental da deleção em 25 casos, sendo que destes, em 15 casos a deleção foi de origem materna e em 10 de origem paterna. Dentre os pacientes com deleção de origem materna, 09 apresentavam cardiopatias congênitas enquanto 06 não apresentaram. Já nos casos de deleção de origem paterna 07 apresentavam cardiopatias enquanto 03 não apresentaram.

Discussão

Com os resultados obtidos foi possível observar que na população estudada em questão uma maioria possuía algum tipo de malformação cardíaca (57%) enquanto uma minoria não apresentava (43%). Estes resultados estão de acordo com o que está presente na literatura acerca da síndrome, uma vez que a associação entre a SD22q11.2 e cardiopatias chega a ter uma frequência de até 77% (GRASSI et al., 2014). Vale ressaltar que a porcentagem de pacientes que não apresentaram cardiopatias pode não ser totalmente preciso, uma vez que destes 54 pacientes apenas 29 realizaram ecocardiograma que constatou ausência de malformações cardíacas.

Quanto à idade ao diagnóstico variar entre paciente com e sem cardiopatias, uma possível explicação pode estar relacionada com o fato de que a presença de cardiopatias congênitas poderia desencadear maiores suspeitas de cardiologistas e pediatras acerca da presença da SD22q11.2, que estariam mais propensos a pedir exames para investigação da síndrome, do que em pacientes sem malformações cardíacas. Com relação ao número de defeitos cardíacos em cada paciente, os resultados obtidos convergem com aqueles presentes na literatura, sendo mais comum a presença de uma única cardiopatia congênita nos pacientes e havendo diminuição da frequência com o aumento do número de cardiopatias associadas.

Para análise das frequências obtidas dos principais tipos de malformações cardíacas observadas, foi feita uma comparação com dados da literatura, que pode ser vista na tabela a seguir:

Malformação Cardíaca	Frequência no presente estudo	Frequência no artigo de McDonald-McGinn e Sullivan	Frequência no artigo de Rayavannar et al	Frequência no artigo de Grassi et al, 2014
Tetralogia de Fallot	18,31%	25,97%	25,0%	38,3%
Defeito de Septo interventricular (CIV)	47,89%	27,27%	21,0%	21,3%
Defeito de Septo interatrial (CIA)	35,81%	-	7,0%	6,4%
Interrupção de Arco Aórtico (IAA)	14,08%	15,58%	15,0%	8,5%
Truncus arteriosus	4,23%	7,79%	8,0%	8,5%
Outras malformações	56,34%	7,79%	24,36%	17,02%

Nota: * a porcentagem em questão ultrapassa de 100% pois 29 pacientes apresentavam mais de um tipo de cardiopatia

Nota-se pela tabela que a frequência de malformações como a CIV e a CIA do estudo está acima dos dados presentes na literatura. Por sua vez, a frequência da Tetralogia de Fallot, da IAA e do Truncus Arteriosus se aproximam dos dados presentes na literatura. A frequência de outras malformações também destoa dos dados presentes na literatura, uma vez que a variedade de cardiopatias menos relevantes presentes neste grupo foi diferente em cada tipo de estudo realizado.

Com relação ao peso e estatura dos pacientes no momento do diagnóstico, foi possível notar através da leitura de ambos os gráficos, que pacientes que apresentam cardiopatias congênitas tendem a estar mais distribuídos nas faixas mais baixas de percentis do que quando comparado com pacientes sem cardiopatias, que estão mais presentes em faixas intermediárias e altas dos percentis. Nota-se nitidamente que aqueles abaixo de P2 são principalmente pacientes com cardiopatia congênita. Isso pode mostrar que pacientes que possuem malformações cardíacas possuem seu desenvolvimento mais comprometido por causa das mesmas, quando comparado com pacientes sem alterações cardiovasculares.

Com relação à origem parental da deleção, os dados obtidos pelo estudo não trouxeram nenhuma evidência clara que comprove que haja uma maior probabilidade de apresentar cardiopatia, dependendo de a origem da deleção ser de origem materna ou paterna. Acerca disso é possível entender que não há maior predisposição da deleção se originar em um dos genitores ou que é necessário haver uma coorte maior para análise deste aspecto.

CONCLUSÕES:

Através do estudo realizado, foi possível concluir que a maioria dos pacientes brasileiros com a SD22q11.2 apresentam cardiopatias congênitas relacionadas com a síndrome, sendo as mais comuns a CIV, CIA, Tetralogia de Fallot, IAA e truncus arteriosus, nesta ordem. Foi possível concluir também que cardiopatias múltiplas associadas são menos frequentes do que encontradas isoladamente nestes pacientes. Além disso, foi possível observar também que pacientes que possuem malformações cardiovasculares tendem a ter o diagnóstico de Síndrome de Deleção do 22 realizado de forma mais precoce do que aqueles que não possuíam. Notou-se também que o desenvolvimento destes pacientes é consideravelmente mais comprometido do que pacientes sem cardiopatias.

Por fim, foi possível concluir que a origem parental parece ter relação com a frequência de cardiopatias. Porém, a análise da origem parental em um maior número de casos poderá esclarecer melhor esse aspecto

BIBLIOGRAFIA

1. BELANGERO, S. I. N.; BELLUCCO, F. T. S.; KULIKOWSKI, L. D.; CHRISTOFOLINI, D. M. et al. Deleção 22q11.2 em pacientes com defeito cardíaco conotruncal e fenótipo da síndrome da deleção 22q11.2. *Arquivos Brasileiros de Cardiologia*, 92, p. 307-311, 2009.
2. BOTTO, L. D.; MAY, K.; FERNHOFF, P. M.; CORREA, A. et al. A Population-Based Study of the 22q11.2 Deletion: Phenotype, Incidence, and Contribution to Major Birth Defects in the Population. *Pediatrics*, 112, n. 1, p. 101, 2003.
3. DELIO, M.; GUO, T.; MCDONALD-MCGINN, D. M.; ZACKAI, E. et al. Enhanced maternal origin of the 22q11.2 deletion in velocardiofacial and DiGeorge syndromes. *Am J Hum Genet*, 92, n. 3, p. 439-447, Mar 7 2013.
4. KOSHIYAMA, D. B.; ROSA, R. F. M.; ZEN, P. R. G.; PEREIRA, V. L. B. et al. Síndrome de deleção 22q11.2: importância da avaliação clínica e técnica de FISH. *Revista da Associação Médica Brasileira*, 55, p. 442-446, 2009.
5. MCDONALD-MCGINN, D. M.; SULLIVAN, K. E. Chromosome 22q11.2 Deletion Syndrome (DiGeorge Syndrome/Velocardiofacial Syndrome). *Medicine*, 90, n. 1, 2011.
6. ROSA, R. F. M.; TREVISAN, P.; KOSHIYAMA, D. B.; PILLA, C. B. et al. Síndrome de deleção 22q11 e cardiopatias congênitas complexas. *Revista da Associação Médica Brasileira*, 57, p. 62-65, 2011.
7. ROSA, R. F. M.; ZEN, P. R. G.; ROMAN, T.; GRAZIADIO, C. et al. Síndrome de deleção 22q11.2: compreendendo o CATCH22. *Revista Paulista de Pediatria*, 27, p. 211-220, 2009.
8. THOMAS, N. S.; DURKIE, M.; POTTS, G.; SANDFORD, R. et al. Parental and chromosomal origins of microdeletion and duplication syndromes involving 7q11.23, 15q11-q13 and 22q11. *European Journal of Human Genetics*, 14, n. 7, p. 831-837, 2006/07/01 2006.
9. UNOLT, M.; VERSACCI, P.; ANACLERIO, S.; LAMBIASE, C. et al. Congenital heart diseases and cardiovascular abnormalities in 22q11.2 deletion syndrome: From well-established knowledge to new frontiers. *Am J Med Genet A*, 176, n. 10, p. 2087-2098, 10 2018.
10. ÓSKARSDÓTTIR, S.; PERSSON, C.; ERIKSSON, B. O.; FASTH, A. Presenting phenotype in 100 children with the 22q11 deletion syndrome. *European Journal of Pediatrics*, 164, n. 3, p. 146-153, 2005/03/01 2005.
11. RAYANNAVAR, A.; LEVITT KATZ, L. E.; CROWLEY, T. B.; LESSIG, M. et al. Association of hypocalcemia with congenital heart disease in 22q11. 2 deletion syndrome. *American Journal of Medical Genetics Part A*, 176, n. 10, p. 2099-2103, 2018.