

**Carla Marques Rondon Campos**

**Investigação da variação no número de cópias gênicas em  
crianças com defeito cardíaco conotruncal.**

Tese apresentada à Faculdade de Medicina da  
Universidade de São Paulo para obtenção do  
título de Doutor em Ciências

Programa de Pediatria

Orientadora: Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Chong Ae Kim

SÃO PAULO

2014

**Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)**

Preparada pela Biblioteca da  
Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo

©reprodução autorizada pelo autor

Campos, Carla Marques Rondon

Investigação da variação no número de cópias gênicas em crianças com defeito cardíaco conotruncal / Carla Marques Rondon Campos. -- São Paulo, 2014.

Tese(doutorado)--Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo.  
Programa de Pediatria.

Orientadora: Chong Ae Kim.

Descritores: 1.Cardiopatias congênitas 2.Variações do número de cópias de DNA 3.Síndrome da deleção 22Q11 4.Crianças

USP/FM/DBD-193/14

## ***DEDICATÓRIA***

À minha mãe, Catarina, que partiu no meio deste projeto, que ainda sinto presente em todos os momentos da minha vida e me deixou com saudades imensas...

À Francisco, Miriane e Máisa pelo carinho, apoio e paciência nos momentos difíceis

## ***AGRADECIMENTOS***

Aos **pacientes e seus familiares**, que aceitaram participar deste estudo, se mostraram sempre dispostos a ajudar, que muitas vezes me receberam em seus lares com tanta cordialidade e pelo exemplo de força e determinação que pude observar durante todo esse tempo de convivência, me enriquecendo de forma profissional e pessoal;

À **Profa. Dra. Chong Ae Kim**, orientadora desta Tese, pela paciência, orientações e suporte em todo esse tempo;

À **Profa. Dra. Leslie Kulikowski**, pela colaboração, disponibilidade e apoio científico na elaboração desta Tese;

Ao **Prof. Dr. Marcial Francis Galera**, por todo apoio e contribuição ao longo deste trabalho;

Às **Profa. Dra. Maria Cecilia Knoll Farah e Dra Daniela Maria Rosseto** cardiologistas pediatra, pela grande colaboração, profissionalismo e incentivo aos pacientes em participar desta pesquisa;

Ao **Prof. Dr. Paulo Roberto Bezerra de Mello**, coordenador do Dinter, pelo incentivo e esforço despendido para que todos os projetos do Dinter se concretizassem;

À **equipe do laboratório de Citogenômica – LIM 03 da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo (FMUSP)**, pelo suporte laboratorial, em especial à **Roberta Lelis Dutra e Evelin Zanardo**, que estiveram de forma mais próxima envolvidas na prática deste trabalho e por responder tão prontamente e carinhosamente minhas dúvidas;

Aos acadêmicos de medicina **Camila Gonzaga, Priscila Cosac e Ian Ribeiro**, pela colaboração e por tornar as horas no laboratório durante a extração de DNA mais alegres e mais leves;

Enfim, a **todos** que de alguma maneira tornaram este trabalho possível e dessa forma, contribuíram para a minha formação e para meu crescimento profissional e pessoal.

Esta dissertação está de acordo com as seguintes normas, em vigor no momento desta publicação:

Referências: adaptado de International Committee of Medical Journals Editors (Vancouver).

Universidade de São Paulo. Faculdade de Medicina. Divisão de Biblioteca e Documentação. Guia de apresentação de dissertações, teses e monografias. Elaborado por Anneliese Carneiro da Cunha, Maria Julia de A. L. Freddi, Maria F. Crestana, Marinalva de Souza Aragão, Suely Campos Cardoso, Valéria Vilhena. 3a ed. São Paulo: Divisão de Biblioteca e Documentação; 2011.

Abreviaturas dos títulos dos periódicos de acordo com List of Journals Indexed in Index Medicus.

## SUMÁRIO

---

Lista de tabelas	
Lista de figuras	
Lista de abreviaturas	
Lista de símbolos	
Lista de siglas	
Resumo	
Abstract	
1 INTRODUÇÃO .....	1
1.1 Defeito cardíaco congênito.....	3
1.2 Desenvolvimento cardíaco .....	4
1.3 Defeito cardíaco conotruncal.....	8
1.4 Variação no número de cópias.....	11
1.5 Diagnóstico laboratorial de CNVs.....	14
1.6 Síndrome da deleção 22q11.2 .....	15
1.6.1 Aspectos clínicos.....	17
1.6.1.1 Alterações craniofaciais.....	17
1.6.1.2 Anormalidades do palato.....	18
1.6.1.3 Alterações cardiovasculares.....	18
1.6.1.4 Alterações musculoesqueléticas .....	19
1.6.1.5 Alterações urogenitais .....	20
1.6.1.6 Alterações neurológicas e comportamentais.....	20
1.6.1.7 Alterações endócrinas .....	21
1.6.1.8 Alterações imunológicas.....	21
1.6.1.9 Alterações autoimune.....	21
1.6.1.10 Outras alterações .....	22
1.7 Microduplicação do 22q11.2.....	22
2 JUSTIFICATIVA .....	35
3 OBJETIVOS .....	39
3.1 Objetivo Geral .....	40
3.2 Objetivos Específicos .....	40
4 CASUÍSTICA E MÉTODOS .....	41

4.1 Casuística.....	42
4.2 Investigação clínica .....	42
4.3 Coleta das amostras de sangue.....	43
4.4 Estudo molecular.....	43
4.4.1 Multiplex Ligation-dependent Probe Amplification (MLPA).....	43
5 RESULTADOS/DISCUSSÃO .....	46
5.1 Amostra .....	47
5.2 Pacientes sem alteração no MLPA .....	47
5.3 Pacientes com alteração no MLPA .....	50
5.3.1 Quadro clínico .....	51
5.3.2 Investigação dos pais .....	52
5.3.3 Descrição e discussão de sete casos com alterações .....	53
5.3.3.1 Duplicação 15q11.2.....	53
5.3.3.2 Duplicação 20p12.2.....	55
5.3.3.3 Deleção 19p .....	56
5.3.3.4 Duplicação 15q.....	57
5.3.3.5 Deleção 22q11.2 .....	59
5.3.3.6 Duplicação 22q11.2.....	61
5.3.3.7 Duplicação 8p23.2 e duplicação 10p12.31 .....	63
6 CONSIDERAÇÕES FINAIS .....	58
7 CONCLUSÕES .....	70
8 REFERÊNCIAS.....	73
Anexos	

## LISTA DE TABELAS

---

<b>Tabela 1</b> – Frequência de CNVs em indivíduos com defeito cardíaco congênito na literatura .....	14
<b>Tabela 2</b> - Frequência da deleção 22q11.2 em indivíduos com defeito cardíaco congênito conotruncal na literatura .....	19
<b>Tabela 3</b> – Distribuição dos tipos de cardiopatia da amostra .....	47
<b>Tabela 4</b> – Características dos pacientes sem alteração no MLPA .....	48
<b>Tabela 5</b> – Alterações encontradas no MLPA.....	50
<b>Tabela 6</b> – Características dos pacientes com CNVs .....	52

## LISTA DE FIGURAS

---

<b>Figura 1</b> – Origem do sistema cardiovascular .....	5
<b>Figura 2</b> – Formação do tubo cardíaco.....	5
<b>Figura 3</b> – Contribuição do segundo campo cardíaco e das células da crista neural nos defeitos de desenvolvimento do trato de saída do coração .....	7
<b>Figura 4</b> – Ilustração de tetralogia de Fallot.....	8
<b>Figura 5</b> – Ilustração de <i>truncus arteriosus</i> .....	9
<b>Figura 6</b> – Ilustração de defeito de septo ventricular .....	10
<b>Figura 7</b> – Ilustração de transposição de grandes artérias.....	11
<b>Figura 9</b> – Paciente com duplicação 20p12.2.....	55
<b>Figura 10</b> – Paciente com deleção 19p .....	57
<b>Figura 11</b> – Paciente com duplicação 15q.....	58
<b>Figura 12</b> – Paciente com deleção 22q11.2 .....	60
<b>Figura 13</b> - Paciente com duplicação 22q11.2.....	62
<b>Figura 14</b> – Paciente com duplicação 8p23.2 e duplicação 10p12.31 .....	64

## LISTA DE ABREVIATURAS

---

Dr.	Doutor
Dra.	Doutora
et	al. e outros
Prof.	Professor
Profa.	Professora

## LISTA DE SÍMBOLOS

---

cm	centímetro
°C	graus Celsius
del	deleção
dup	duplicação
g	grama
Kb	quilobase
kg	kilograma
mL	mililitro
Mb	milhões de base
ng	nanograma
seg	segundos
U	unidade
µg	micrograma
µL	microlitro
>	maior que
<	menor que

## LISTA DE SÍMBOLOS

---

AP	Atresia Pulmonar
CAFS	Conotruncal Anomaly Face Syndrome - Síndrome de Anomalias Faciais e Conotruncais
CATCH	Cardiac defects, Abnormal facies, Thymic hypoplasia, Cleft palate, hypocalcemia – Defeitos cardíacos, Anormalidades faciais, Fissura palatina, Hipocalcemia
CEP - FMUSP	Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo
CCN	células da crista neural
CGHarray	Comparative Genomic Hybridization - Hibridação Genômica Comparativa por array
CIV	Comunicação interventricular
CN	número de cópias
CNT	defeito(s) cardíaco(s) conotruncal (s)
CNV	Variação no número de cópias
DCC	Defeito(s) Cardíaco(s) Congênito(s)
del22q11	deleção da banda 11 do braço longo do cromossomo 22
DGCR	região cromossômica DiGeorge
DNA	Deoxyribonucleic acid - Ácido Desoxirribonucléico
DVSVD	Dupla via de saída do ventrículo direito
DSV/AP	Defeito do septo ventricular com atresia pulmonar
EDTA	Ethylenediamine tetraacetic acid – ácido etilenodiamino tetra-acético
EHMT	Euchromatic Histone-Lysine N-Methyltransferase
FISH	Fluorescence in Situ Hybridization – Hibridação in situ por fluorescência
FMUSP	Faculdade de Medicina da USP
HC	Hospital das Clínicas
HUJM	Hospital Universitário Júlio Müller
INCOR	Instituto do Coração
IAA	Interrupção do arco aórtico
LCR	Low Copy Repeats - repetições de poucas cópias
MLPA	Multiplex Ligation-dependent Probe Amplification – Amplificação de múltiplas sondas dependentes de ligação
NAHR	recombinação alélica não homóloga
ND1	mitochondrially encoded NADH dehydrogenase 1
NKKX2.5	NK2 transcription factor related 5
NOTCH1	Neurogenic locus notch homolog protein 1
OMIM	Online Mendelian in Man

PCC	primeiro campo cardíaco
PCR	Polymerase Chain Reaction – Reação em Cadeia de Polimerase
QI	quociente de inteligência
RPMI	Roswell Park Memorial Institute
SCC	segundo campo cardíaco
SDG	Síndrome de DiGeorge
SD22q11.2	Síndrome da deleção do cromossomo 22
STR	Short Tandem Repeats
SVCF	Síndrome Velocardiofacial
TA	Truncus Arteriosus
TGA	Transposição de grandes artérias
TOF	Tetralogia de Fallot
TUPLE1	TUP-Like Enhancer of split gene-1
UFMT	Universidade Federal de Mato Grosso
USP	Universidade de São Paulo

## RESUMO

---

Campos CMR. Investigação da variação no número de cópias gênicas em crianças com defeito cardíaco conotruncal [tese]. São Paulo: Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo; 2014.

**INTRODUÇÃO:** Os defeitos cardíacos congênitos (DCC) são um grupo de anormalidades estruturais mais prevalentes ao nascimento e uma das principais causas de morbidade e mortalidade infantil. Os fatores genéticos são importantes na etiologia dos DCC. Estudos têm mostrado a contribuição da variação no número de cópias (CNV) na gênese das malformações cardíacas. A deleção 22q11.2 é a causa mais comum de microdeleção humana e está relacionada com defeito cardíaco (DCC) conotruncal. O MLPA (*Multiplex Ligation-dependent Probe Amplification*) é um método eficaz para detectar microdeleções/microduplicações em pacientes com DCC. **OBJETIVO:** Detectar a presença da variação no número de cópias gênicas em pacientes portadores de cardiopatia conotruncal pela técnica de MLPA e associar ao fenótipo do paciente. **MÉTODOS:** Foram avaliados 39 pacientes (23 do sexo masculino, 16 do sexo feminino) com idade entre 2 dias e 19 anos (mediana de 6 anos), todos com cardiopatia conotruncal, a maioria dos pacientes (56%) apresentavam tetralogia de Fallot. Avaliação clínica e laboratorial foi realizada em todos os pacientes. O cariótipo foi normal em todos pacientes. MLPA foi realizada com os *kits* P064, P036/P070 e P250. **RESULTADOS:** Foi detectada CNVs em sete pacientes: deleção 22q11.2, duplicação 22q11.2, duplicação 15q11.2, duplicação 20p12.2, deleção 19p, duplicação 15q e duplicação 8p23.2 com duplicação 10p12.31. As cardiopatias encontradas nestes pacientes foram: dupla via de saída de ventrículo direito (2), coartação da aorta, tetralogia de Fallot (3) e transposição de grandes artérias. Os achados clínicos extracardíacos encontrados nestes pacientes foram dismorfismo facial, dente neonatal, atrofia e displasia cerebral, atresia duodenal, dificuldade de aprendizado, insuficiência velofaríngea, aplasia de timo, refluxo gastroesofágico, hérnia umbilical, asma, infecções de vias aéreas frequentes,

déficit de crescimento e somente três apresentavam retardo no desenvolvimento neuropsicomotor (dup 15q11.2, dup 15q, del 22q11.2). As características clínicas foram compatíveis com o relatado na literatura associado com a microdeleção/microduplicação encontrada. Nenhuma destas alterações foram herdadas de seus pais testados em seis casos. CONCLUSÃO: O uso do MLPA possibilitou a detecção de CNVs em pacientes com DCC. O diagnóstico precoce das CNVs em pacientes com DCC auxilia na prevenção de morbidade e diminuição da mortalidade nestes pacientes, contudo em um país com regiões com poucos recursos laboratoriais genéticos uma avaliação clínica minuciosa em todo paciente com DCC é imprescindível para direcionar qual melhor exame deve ser realizado.

Descritores: Cardiopatia congênita; variações do número de cópias de DNA; síndrome da deleção 22Q11; crianças.

## ABSTRACT

---

Campos CMR. Study of gene copy number variation in children with conotruncal heart defects. [thesis]. São Paulo: Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo; 2014.

**INTRODUCTION:** Congenital heart defects (CHD) are a group of structural abnormalities most prevalent birth and a major cause of infant morbidity and mortality. Genetic factors are important in the etiology of CHD. Studies have shown the contribution of copy number variation (CNV) in the genesis of cardiac malformations. The deletion 22q11.2 is the most common cause of human microdeletion and is related conotruncal cardiac defect (DCC). The MLPA (Multiplex Ligation-dependent Probe Amplification) is an effective method to detect microdeletions/micoduplications in patients with CHD. **PURPOSE:** Detect the presence of gene copies number variation in the patients with conotruncal heart defect by MLPA technique and associate the phenotype of the patient. **METHODS:** 39 patients (23 males, 16 females) aged 2 days old - 19 years old (median= 6 years old) with conotruncal cardiac defect were evaluated. Tetralogy of Fallot was more prevalent heart defect (56%). All patients were evaluated clinical and laboratory. Karyotypes were normal in all patients. MLPA was performed with the P064, P036/P070 and P250 kits. **RESULTS:** CNVs were detected in seven patients: 22q11.2 deletion, 22q11.2 duplication, 15q11.2 duplication, 20p12.2 duplication, 19p deletion, 15q duplication and 8p23.2 duplication with 10p12.31 duplication. The congenital heart defect found in these patients were: double outlet right ventricle (2), coarctation of the aorta, tetralogy of Fallot (3) and transposition of the great arteries. Clinical findings in these patients were facial dysmorphism, neonatal tooth, brain atrophy and dysplasia, duodenal atresia, learning disabilities, velopharyngeal insufficiency, thymic aplasia, gastroesophageal reflux, umbilical hernia, asthma, frequent infections of the airways , failure to thrive, and only three had delayed psychomotor development (dup 15q 11.2, dup 15q, del 22q11.2) The clinical features were consistent with those reported in the literature associated with the

microdeletion /microduplication found. None of these alterations were inherited from six parents tested. CONCLUSIONS: MLPA was effective to detect CNVs in patients with CHD. Early diagnosis of CNVs in patients with CHD assists in preventing morbidity and decreased mortality in these patients, however, in a country with regions with few genetic laboratory resources a thorough clinical evaluation in all patients with CHD is essential to direct which should be further analyzed performed.

Descriptors: heart defects, congenital; DNA copy number variations; 22Q11 deletion syndrome; children.

## ***1 INTRODUÇÃO***

---

Os defeitos cardíacos congênitos (DCC) são um grupo de anormalidades estruturais mais comuns ao nascimento, com uma prevalência estimada de 1% a 5% dos nascidos vivos, constituem uma das principais causas de morbidade e mortalidade infantil <sup>1,2</sup>.

A evolução clínica é altamente dependente da gravidade do defeito, da presença de anomalias extracardíacas e complicações cirúrgicas <sup>3</sup>. Atualmente, com o desenvolvimento das técnicas de cirurgia cardíaca pediátrica, a taxa de sobrevida tem aumentado consideravelmente, resultando em um aumento no número de adultos com DCC e conseqüentemente, um fator de risco para as próximas gerações <sup>4,5</sup>.

Os fatores genéticos são importantes na etiologia complexa dos DCC <sup>6</sup>. Síndromes mendelianas e cromossômicas ocorrem em 20% dos casos de defeito cardíaco congênito (DCC). Os mecanismos genéticos subjacentes que representam os 80% restantes são pouco compreendidos <sup>7,8</sup>.

Uma pesquisa no Online Mendelian in Man (OMIM) revela que o número de síndromes genéticas com envolvimento cardíaco é maior que 1300. Novos métodos diagnósticos levaram ao reconhecimento da base molecular dessas síndromes e maior delineamento das características <sup>9</sup>.

As malformações conotrunciais representam um grupo heterogêneo de malformações cardíacas envolvendo o sistema de saída dos ventrículos e o polo arterial do coração. Essas malformações comprometem o desenvolvimento das vias de saída do coração e são responsáveis por cerca de 10% a 25% de todos DCC diagnosticados após o nascimento <sup>1,10</sup>.

Após o sequenciamento do genoma humano, um novo tipo de alteração genômica foi descoberta: a variação no número de cópias (CNV) e sua associação com malformações cardíacas foi estabelecida <sup>9,11</sup>.

As CNVs são definidas como fragmentos de ácido desoxirribonucléico (DNA), maior ou igual a um quilobase (kb) que estão presentes em número variável em um genoma <sup>12</sup>.

As CNVs compreendem pelo menos 25% do genoma humano e, constituem uma parte importante da diversidade genética em relação a evolução e suscetibilidade a doenças, conseqüentemente sua detecção e associação com características e fenótipos constituem um importante passo para melhor entender a etiologia da afecção <sup>14</sup>. CNVs que abrangem vários genes podem afetar além do coração, outros órgãos importantes. Como o DCC pode ser o primeiro defeito a ser detectado no paciente, a investigação de CNVs em pacientes com DCC pode levar ao diagnóstico precoce e tratamento de sintomas extracardíaco <sup>16</sup>.

CNVs da região do cromossomo 22q11.2 são associados com pacientes com DCC, principalmente do tipo conotruncal <sup>17</sup>. A deleção do braço longo do cromossomo 22 resulta na síndrome da deleção 22q11.2 (SD22q11) também conhecida como síndrome de DiGeorge ou síndrome Velocardiofacial e, é considerada a mais comum das síndromes de microdeleção humana <sup>18</sup>.

A detecção de anormalidade cromossômica é importante para auxiliar no aconselhamento genético <sup>16</sup>. Alterações macroscópicas no número de cópias foi inicialmente detectada com citogenética clássica (cariótipo). Várias aberrações de tamanhos maiores foram identificadas antes do desenvolvimento de técnicas de alta resolução. A técnica de hibridação *in situ* com fluorescência (*Hibridacion fluorescente in situ* - FISH), tem melhorado esta resolução, possibilitando a detecção de CNVs sub-microscópicas que não poderiam ser detectadas por cariótipo <sup>15</sup>.

Análise molecular pela técnica de *Multiplex Ligation-dependent Probe Amplification* (MLPA), uma reação de cadeia de polimerase (*Polymerase Chain Reaction* - PCR) quantitativo múltiplo tem sido utilizado para determinar CNVs, esta técnica detecta várias síndromes de microdeleções/microduplicações associadas a DCC e poderia ser usado como um teste de diagnóstico para detectar relevantes CNVs e identificar pacientes síndrômicos <sup>16</sup>.

### **1.1 Defeito cardíaco congênito**

DCC resulta da morfogênese anormal da embriologia do sistema cardiovascular e usualmente envolve defeitos em componentes estruturais específicos do desenvolvimento do coração e dos vasos, induzido por influências

ambientais ou um gene alterado na dosagem ou na função, por fatores estocásticos ou por combinação dos mesmos<sup>3,19</sup>.

O desfecho clínico é altamente dependente da gravidade do defeito, a presença de anomalias cardíacas e complicações cirúrgicas. A sobrevivida prolongada tem trazido novos desafios, a emergência de co-morbidades e mortalidade tardia em adolescente e adultos com DCC, bem como risco de recorrência de sua prole<sup>21,22</sup>.

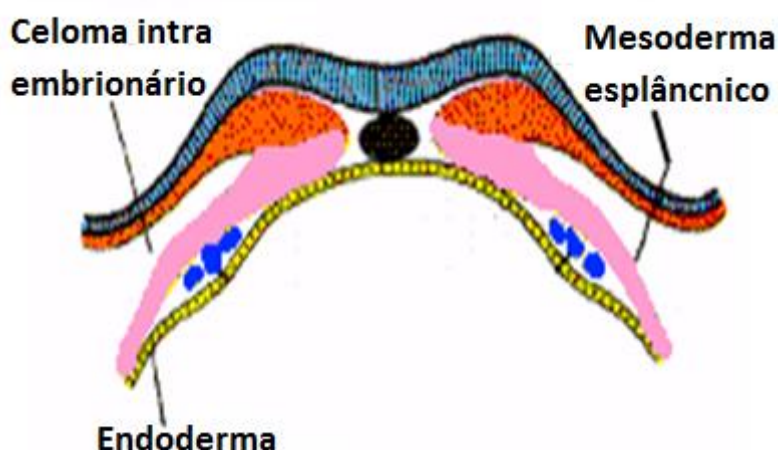
## 1.2 Desenvolvimento cardíaco

O coração é o primeiro órgão formado durante a embriogênese e a função circulatória é precocemente crítica na variabilidade do embrião. O desenvolvimento do tecido cardiovascular íntegro é resultado de múltiplas interações celulares envolvendo eventos temporais e espaciais sobre controle genético. A falha na propriedade de diferenciação celular, migração e apoptose resulta em DCC<sup>7</sup>.

A formação do coração passa por sequências reguladas por genes que determinam o destino das células e organizam células especializadas dentro de complexas unidades de estrutura e função tridimensional<sup>23</sup>.

DCC resulta da morfogênese anormal da embriologia do sistema cardiovascular e usualmente envolve defeitos em componentes estruturais específicos do desenvolvimento do coração e dos vasos<sup>19</sup>.

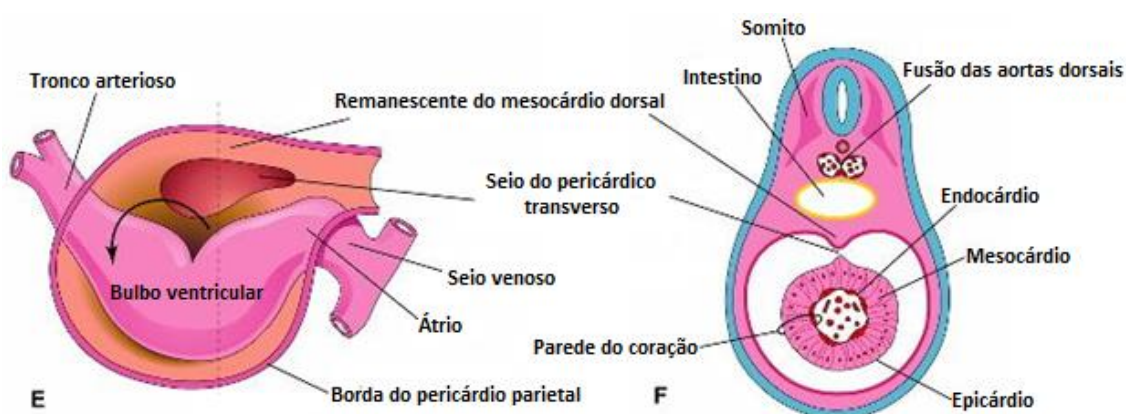
A embriologia, geralmente reconhece que o coração dos vertebrados é derivado a partir de um campo formador cardíaco consistindo de células do mesoderma lateral anterior. Este campo é chamado de primeiro campo cardíaco (PCC) e forma a crescente cardíaca na região mais anterior do embrião com aproximadamente duas semanas de gestação humana (Figura 1)<sup>19</sup>.



FONTE: Moore e Persuad, 2003

**Figura 1** – Origem do sistema cardiovascular

Um par de tubos endoteliais formados na crescente cardíaca se funde ao longo da linha ventral para formar um tubo cardíaco linear, constituído por uma camada interior de células endocárdicas e uma camada exterior de células miocárdicas, separadas por uma matriz extracelular. Em adição ao primeiro campo cardíaco, há uma segunda origem de células miocárdicas. No embrião do rato, estas células se encontram medialmente a crescente cardíaca e em seguida atrás do tubo cardíaco em formação, estendendo dentro da camada mesodérmica dos arcos faríngeos. Estas células são denominadas de segundo campo cardíaco (SCC) (Figura 2) <sup>19</sup>.



FONTE: Moore e Persaud, 2003

**Figura 2** – Formação do tubo cardíaco

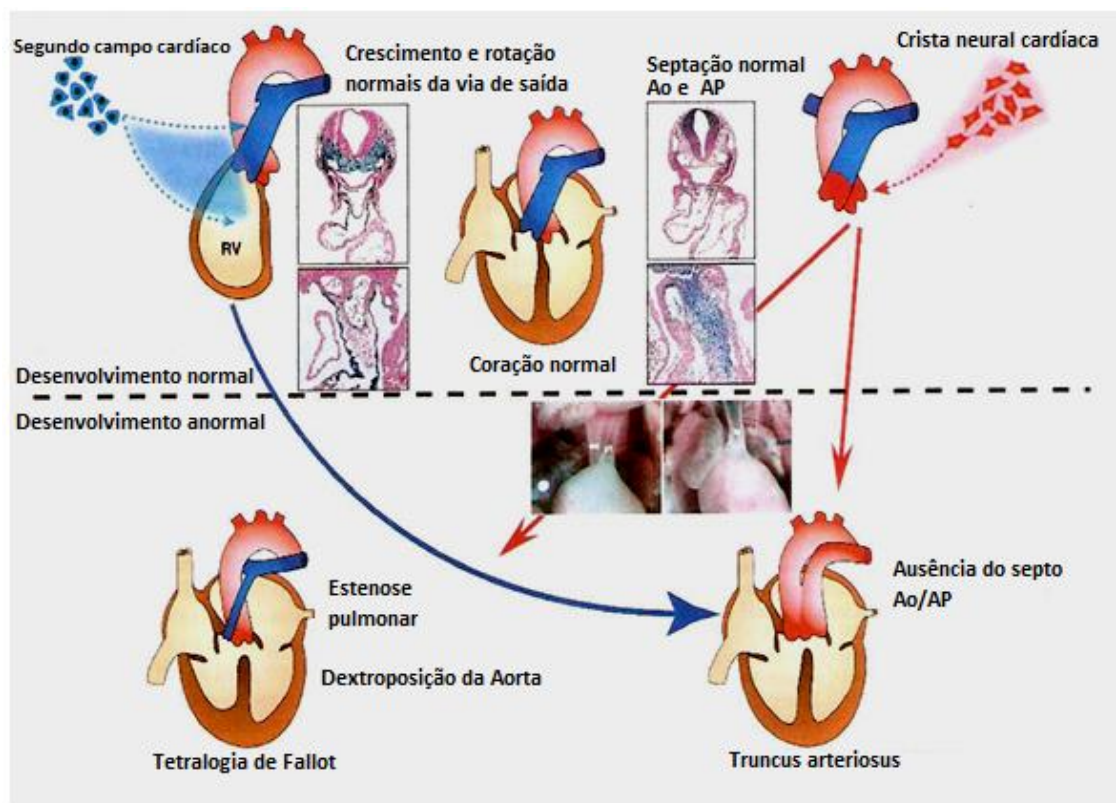
O tubo cardíaco derivado do primeiro campo cardíaco pode predominantemente fornecer uma estrutura sobre a qual células do segundo

campo cardíaco migram em ambos os pólos arterial e venoso do tubo cardíaco, onde eles subseqüentemente constroem os componentes cardíacos necessários. O PCC contribui exclusivamente para o ventrículo esquerdo e todas as partes do coração, exceto o trato de saída, enquanto o SCC que segrega relativamente mais tarde contribui exclusivamente com o trato de saída e outras partes do coração, exceto o ventrículo esquerdo <sup>19</sup>.

Quando forma o tubo cardíaco, células do SCC migram dentro de uma linha mediana e posicionam na região dorsal do tubo cardíaco no mesoderma faríngeo. O tubo cardíaco se dobra a direita e as células do SCC atravessam o mesoderma faríngeo dentro da porção anterior e posterior, se situando em uma grande porção do trato de saída, o futuro ventrículo direito e o átrio. A adição do SCC derivado do miocárdio para o trato de saída resulta em alongamento que é necessário para permitir que o trato de saída gire o suficiente para o correto alinhamento dos troncos da aorta e da pulmonar com seus respectivos ventrículos<sup>23</sup>.

As células da crista neural (CCN) originam do tubo neural dorsal entre a placa óptica e o limite caudal do terceiro somito. Após elas saírem do tubo neural dorsal as CCN migram para os arcos faríngeos caudais e o trato de saída onde formam o septo. A migração das CCN é também alvo dos 3<sup>o</sup>, 4<sup>o</sup> e 6<sup>o</sup> arcos faríngeos, que irão originar os futuros vasos. Várias vias de sinalização estão envolvidas na migração e condensação das CCN, incluindo sinalização recíproca entre CCN e o SCC que são essenciais para a formação do trato de saída e o arco aórtico <sup>23</sup>.

O septo da região conotruncal é dependente das células da crista neural para a sua formação. Essas células também participam na formação das estruturas da face e região cervical, daí a relação, entre cardiopatia, anomalias da face e de estruturas da região cervical (Figura 3) <sup>24</sup>.



FONTE: Yamagishi et al., 2009

**Figura 3** – Contribuição do segundo campo cardíaco e das células da crista neural nos defeitos de desenvolvimento do trato de saída do coração

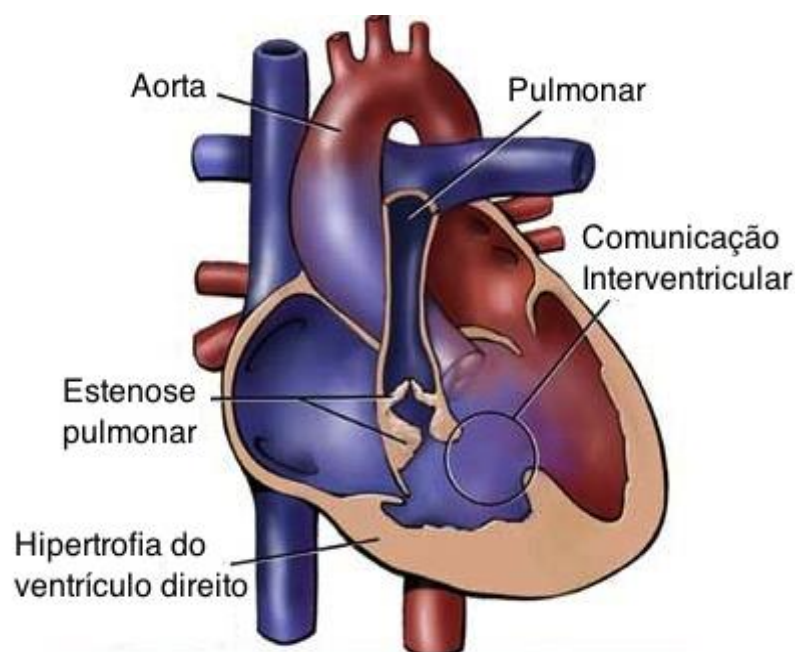
Há seis mecanismos de acordo com a classificação patogenética de Clark das malformações cardiovasculares: 1) Anormalidade da migração do tecido ectomesenquimal (causando defeitos de septação conotruncal e anomalias do arco aórtico); 2) Fluxo sanguíneo intracardíaco anormal (causando defeito septal e malformação obstrutiva esquerda e direita do coração); 3) Anomalias de morte celular (originando defeito septal e anomalias de válvulas); 4) Anomalias da matriz extracelular (originando defeitos do canal atrioventricular); 5) Crescimento anormal de tecido alvo (originando anomalia parcial ou total do retorno venoso pulmonar e cor triatriatum) e 6) Anomalias de lateralidade (originando problemas de posicionamento esquerdo-direito)<sup>25,26</sup>.

### 1.3 Defeito cardíaco conotruncal

Defeitos cardíacos conotruncal (CNT), resultam do processo anormal da septação aórtico-pulmonar e correspondem a 25 a 30% de defeitos cardíacos não sindrômicos <sup>27</sup>.

Fazem parte do grupo de defeito cardíaco conotruncal: a tetralogia de Fallot (TOF), a interrupção do arco aórtico (IAA), o *truncus arteriosus* (TA), o defeito do septo ventricular com atresia pulmonar (DSV/AP), a transposição de grandes artérias (TGA), a dupla via de saída do ventrículo direito (DVSVD) e a janela aorto-pulmonar ou defeito do septo ventricular <sup>25,28</sup>.

A tetralogia de Fallot (TOF) é a forma mais prevalente de DCC cianótico e ocorre em 1: 3000 nativos. A combinação de dextroposição da aorta, defeito do septo ventricular, estenose pulmonar e hipertrofia ventricular define TOF (Figura 4) <sup>38</sup>.

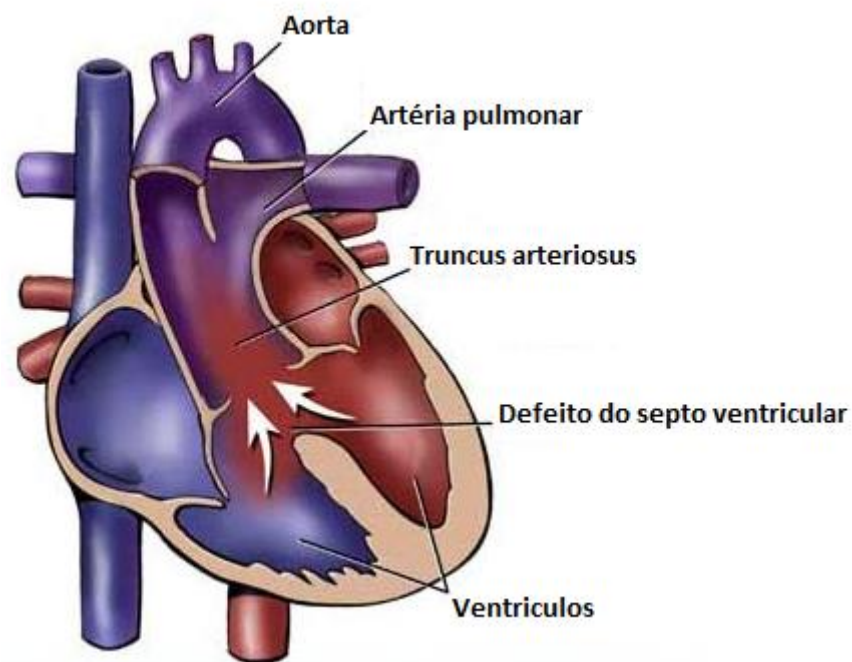


FONTE: [www.mayoclinic.org](http://www.mayoclinic.org)

**Figura 4** – Ilustração de tetralogia de Fallot

A interrupção do arco aórtico (IAA) é um raro DCC, corresponde a 1,5% de todos os DCC, caracteriza-se por uma falha na continuidade entre a porção ascendente e descendente, é uma cardiopatia dependente do canal que sem cirurgia está associada a alta taxas de mortalidade no período neonatal <sup>29</sup>.

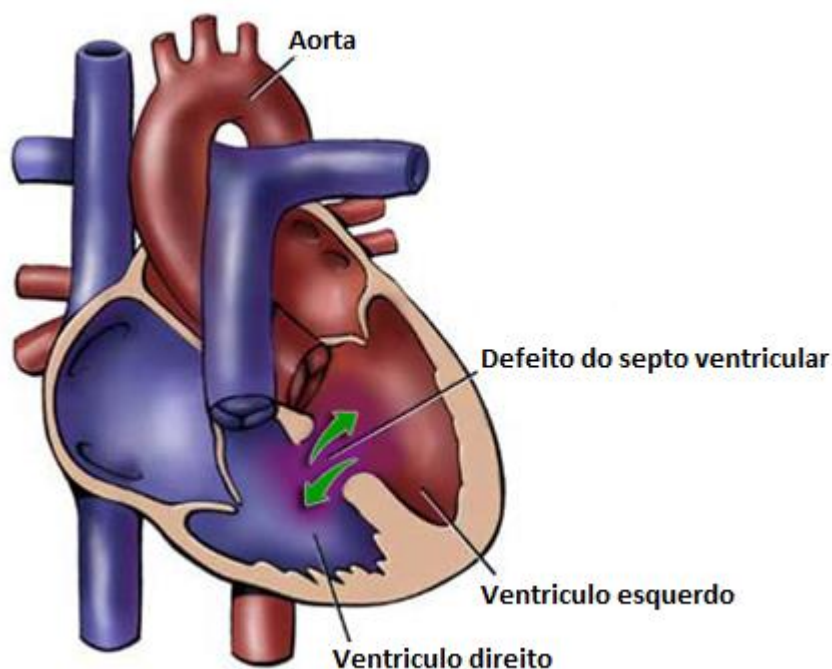
O *truncus arteriosus* (TA) é um raro DCC, corresponde a 1% de todos os defeitos cardíacos. Resulta da deficiência das cristas do tronco e do septo aórtico-pulmonar em se desenvolver normalmente e, assim, dividir o tronco arterial em aorta e tronco pulmonar, formando um único tronco da aorta torácica arterial que supre as articulações sistêmica, pulmonar e coronariana (Figura 5) <sup>20,25</sup>.



FONTE: [www.mayoclinic.org](http://www.mayoclinic.org)

**Figura 5** – Ilustração de *truncus arteriosus*

Os defeitos do septo interventricular representam o defeito congênito mais freqüente (25%). Esses defeitos podem ocorrer em qualquer parte do septo interventricular (membranoso ou muscular). Os defeitos decorrentes de alterações do septo membranoso, na região anterior do coração, são considerados de origem conotruncal (Figura 6) <sup>20</sup>.

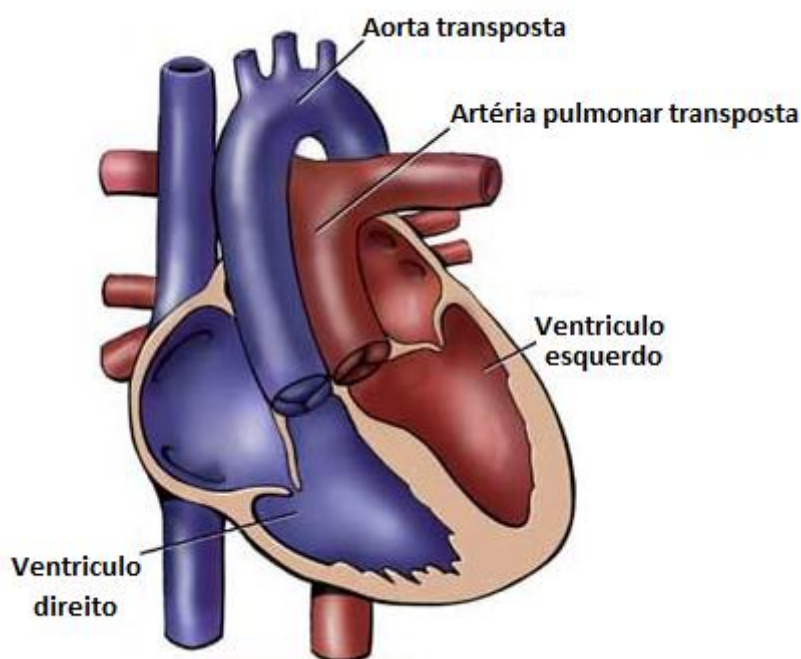


FONTE: [www.mayoclinic.org](http://www.mayoclinic.org)

**Figura 6** – Ilustração de defeito de septo ventricular

A atresia pulmonar ocorre quando a divisão do tronco é tão desigual que o tronco pulmonar não tem luz ou não há orifício no nível da válvula pulmonar <sup>20</sup>.

A transposição de grandes artérias (TGA) é o DCC cianogênico mais comum no período neonatal. Nos casos típicos, a aorta se localiza anterior e a direita do tronco pulmonar e se origina anteriormente ao ventrículo direito. A principal explicação para esse defeito seria a interrupção do prosseguimento do septo aórtico-pulmonar, num curso espiral durante a septação cardíaca e do tronco arterial. Isso pode ser resultado de um desenvolvimento anormal do cone arterial durante a incorporação do bulbo cardíaco aos ventrículos, causado por defeito na migração das células da crista neural (Figura 7) <sup>20</sup>.



FONTE: [www.mayoclinic.org](http://www.mayoclinic.org)

**Figura 7** – Ilustração de transposição de grandes artérias

A dupla via de saída do ventrículo direito (DVSVD) ocorre quando ambas aorta e artéria pulmonar originam do ventrículo direito<sup>30</sup>.

O defeito do septo aórtico-pulmonar ou janela aorto-pulmonar é uma condição onde existe uma abertura entre a aorta e o tronco pulmonar próximo à válvula aórtico-pulmonar<sup>20</sup>.

#### 1.4 Variação no número de cópias

Com o sequenciamento do genoma humano, novas informações sobre a diversidade genética foi revelada. Um tipo de variação genética, a variação no numero de cópias gênicas (CNV), consiste em duplicações e deleções de tamanho intermediário que levam a mudança de genes e afeta em torno de 12% do genoma humano, são eventos abundantes no genoma humano e relevantes para a patogênese de doenças raras e complexas. CNVs variam em tamanho de quilobase (kb) a vários milhões de base (Mb), são considerados polimorfismos quando presentes em >1% da população, e são associados a doença quando ocorrem em <1% dos indivíduos (Richards e Garg, 2010).

Embora alguns CNVs são descobertos em alta frequência na população humana e são portanto uma fonte potencial de diversidade genética, grandes CNVs, especialmente *de novo*, são associadas a várias doenças humanas complexas, em adição ao documentado envolvimento de CNVs em defeitos congênitos (ex. craniofacial, cardíaco, respiratório, renal), CNVs são também conhecidas por estarem envolvidas na gênese de patologias do neurodesenvolvimento e neurocognitivo, como deficiência intelectual, esquizofrenia e espectro autístico<sup>32,33</sup>.

As CNVs são divididas em dois grupos: as CNVs comuns, encontradas acima de 5% na população, influenciam no risco para algumas doenças e não estão relacionadas com a herdabilidade. As CNVs raras, encontradas em menos de 1% da população e podem agir como fatores de suscetibilidade<sup>34</sup>.

Atualmente, vários estudos têm estabelecido a relevância de CNVs na etiologia de DCC, autores demonstraram associação tanto de DCC sindrômico ou DCC isolado e desequilíbrios cromossômicos (Tabela 1)<sup>3,16,30</sup>.

Thiempont et al. (2007), detectaram 30% de CNVs raras em pacientes com DCC e outras anomalias ao nascimento com cariótipos normais<sup>35</sup>. Algumas dessas CNVs foram encontradas em regiões conhecidas por conter genes críticos para o desenvolvimento cardíaco como *NKX2.5*, *NOTCH1*, *ND1* e *EHMT*, a maioria ocorreu onde nenhum gene cardíaco foi localizado. CNV causal foi relatada quando esta continha genes importantes para o desenvolvimento cardíaco ou quando surgia *de novo*, esta análise sugeriu que 17% dos pacientes apresentavam CNV causal. Os 13% restantes de CNVs eram herdadas de algum dos pais não afetado. Este estudo mostrou que CNV é encontrado em DCC associado a outras anomalias ou com atraso no desenvolvimento.

Já Richards et al. (2008), estudando CNV em 40 indivíduos com DCC e cariótipo normal, 20 tinham DCC e outras anomalias ou atraso no desenvolvimento, enquanto os outros tinham DCC isolada<sup>36</sup>. Identificaram CNV causal em 25% dos indivíduos com DCC e anormalidades ou atraso de desenvolvimento. O risco de ter CNV causal aumenta para 45% naqueles com anormalidades neurológicas ou atraso no desenvolvimento. Estes estudos demonstram que CNV causal aparecem em indivíduos com DCC e atraso no desenvolvimento.

Ao pesquisar CNVs em 150 indivíduos com DCC isolada, Erdogan et al. (2008), detectou 18 CNVs raras<sup>35</sup>. A maioria foi duplicação, em contraste com aquelas encontradas nos DCC sindrômicos que são predominantemente deleções. Adicionalmente, 44% foram familiar, também ocorrendo nos pais sem evidencia de DCC, talvez indicando que essas CNVs aumentem a suscetibilidade para DCC mas requer outros fatores para manifestar o fenótipo. Isto demonstra que CNV rara pode ser um importante contribuidor genético para DCC isolado.

Em 2009, Greenway et al., investigando 114 pacientes com TOF isolado e seus pais, identificaram 11 CNVs *de novo*<sup>38</sup>. Baseado em seus achados os autores concluíram que pelo menos 10% de TOF não sindrômico, esporádico podem ser atribuídos a CNV *de novo*.

Posteriormente, através da técnica de hibridação genômica comparativa por *array* (CGH array), Breckpot et al. (2010), encontraram 43 CNV em 150 pacientes com DCC sindrômico, destas 26 foram consideradas como CNVs causais<sup>37</sup>.

Fakhro et al. (2011), observaram um aumento estatisticamente significativo de CNVs raras entre pacientes com heterotaxia em comparação com os controles<sup>40</sup>.

Cooper et al. (2011), analisando CNV em 575 crianças com DCC e deficiência intelectual mostraram um aumento significativo do numero de CNVs em crianças com DCC<sup>41</sup>.

Ao pesquisar CNVs em pacientes com TOF, Soemedi et al. (2012) e Silversides et al. (2012), detectaram CNV em 5% e 12% respectivamente<sup>8,32</sup>.

Recentemente, Warburton et al. (2013) estudando 223 crianças com cardiopatia conotruncal e síndrome do coração esquerdo hipoplásico, encontraram del 22q11.2 em nove crianças e 33 CNVs *de novo*. Foi observada uma taxa 5,6% de CNV causais<sup>30</sup>.

**Tabela 1** – Frequência de CNVs em indivíduos com defeito cardíaco congênito na literatura

Referências	Tipo de cardiopatia	N TOTAL	CNVs N (%)
Kreprischi-Santos et al. (2006) <sup>42</sup>	DCC com alt.	7	3 (42,9%)
Thiempont et al. (2007) <sup>35</sup>	DCC com alt.	60	18 (30%)
Erdogan et al. (2008) <sup>37</sup>	DCC isolado	105	18 (17%)
Richards et al. (2008) <sup>36</sup>	DCC com alt.	20	5 (25%)
Greenway et al. (2009) <sup>38</sup>	TOF isolado	114	11 (9,6%)
Rauch et al. (2010) <sup>43</sup>	TOF com alt.	19	4 (21%)
Breckpot et al. (2010) <sup>3</sup>	DCC com alt.	90	16 (17,7%)
Breckpot et al. (2011) <sup>39</sup>	DCC isolado	46	2 (4,3%)
Fakhro et al. (2011) <sup>40</sup>	Htx +TGA	262	38 (14,5%)
Derwinska et al. (2012) <sup>44</sup>	DCC isolado e com alt.	150	16 (10,7%)
Silversides et al. (2012) <sup>32</sup>	TOF isolado e com alt.	433	43 (10%)
Sorensen et al. (2012) <sup>16</sup>	DCC isolado e com alt.	402	14 (3,2%)
Soemedi et al. (2012) <sup>8</sup>	DCC isolado	2256	66 (29,3%)
Warburton et al. (2013) <sup>30</sup>	CNT + SCEH	223	12 (5,6%)

CNVs: variação no número de cópias, DCC: defeito cardíaco congênito, alt.: alterações extracardíacas, TOF tetralogia de Fallot, Htx: heterotaxia, TGA transposição de grandes artérias, CNT: defeito cardíaco conotruncal, SCEH: síndrome do coração esquerdo hipoplásico.

### 1.5 Diagnóstico laboratorial de CNVs

Quando a análise citogenética convencional revela um cariótipo normal em pacientes com DCC, é altamente recomendável a investigação da presença de desequilíbrios genômicos com outros métodos, pois mesmo utilizando técnica de alta resolução, possui uma baixa sensibilidade e detecta apenas 10% a 20% das deleções<sup>45,16</sup>.

As CNVs podem ser detectadas por vários métodos laboratoriais, tais como a hibridação *in situ* por fluorescência (FISH), hibridação genômica comparativa por *array* (CGH *array*) e *Multiplex Ligation-dependent Probe Amplification* (MLPA), estas técnicas diferem em precisão, rendimento e resolução (Valcesia, 2013).

O MLPA foi desenhado para detectar vários rearranjos estruturais e aneuploidias em um simples ensaio. É um método fácil, rápido e econômico para o diagnóstico simultâneo de múltiplas anomalias com um simples *Kit* e permite

alta acurácia na análise do número de cópias (Fernandez et al., 2005; Dutra et al., 2012).

Descrita pela primeira vez por Schouten et al. (2002), o MLPA é uma técnica desenvolvida e comercializada pelo grupo MRC-Holland que permite a amplificação de um número elevado (40-45) de sequências de ácido nucléico em uma única reação<sup>48</sup>. Esta técnica permite detectar duplicações/deleções numa grande variedade de regiões do genoma.

Na técnica de MLPA, para cada sequência alvo existem duas sondas, cada sonda está acoplada a um segmento de DNA de tamanho variável e sequências idênticas em 3' e 5' (*stuffer sequence*), o qual, por sua vez, se liga a um par de *primers* idêntico em todas as sondas. Após hibridação das sondas com a sequência alvo, procede-se à ligação enzimática das mesmas (utilizando uma DNA ligase). A *stuffer sequence* não hibridiza com a sequência alvo, o que permitirá que cada fragmento a amplificar apresente diferentes tamanhos. Só quando as duas sondas são hibridadas a sequência alvo é que poderão ligar-se e permitir posteriormente, a amplificação. Apenas as sondas que foram eficientemente ligadas serão amplificadas e produzirão sinal. As outras, não ligadas e contendo apenas uma sequência *primer*, não serão amplificadas, assim não existirá o sinal fluorescente correspondente. A visualização dessas amplificações pode ser feita por eletroforese capilar e a análise com programas específicos<sup>48</sup>.

Recentemente alguns grupos têm focado suas pesquisas na utilização de CGH array para o estudo de pacientes com DCC sindrômico ou não sindrômico de causa desconhecida e promissores resultados tem sido obtido. MLPA tem vantagens significantes sobre outros métodos, na detecção de conhecidas CNVs, como FISH ou CGH *array*, baseado no fato que é uma técnica mais simples, rápida e econômica<sup>16,46,49,50</sup>.

## 1.6 Síndrome da deleção 22q11.2

A síndrome da deleção 22q11.2 (SD22q11) é conhecida também como síndrome de DiGeorge (SDG), Velocardiofacial (SVCF), de anomalias faciais e conotrunciais (CAFS), de Cayler, de Shprintzen e CATCH 22 (*Cardiac defects*,

*Abnormal facies, Thymic hypoplasia, Cleft palate, hypocalcemia* – Defeitos cardíacos, Anormalidades faciais, Fissura palatina, Hipocalcemia) <sup>18,49,51</sup>.

Esta síndrome é considerada a mais comum das síndromes de microdeleção humana e contém múltiplos genes. A prevalência estimada é de 1:4000 nascidos vivos <sup>9,52</sup>.

Uma submicroscópica deleção cromossômica é detectada por FISH, MLPA ou análise cromossômica por microarray. A grande maioria dos casos (90%) apresenta uma deleção do tamanho aproximado de 3 milhões de base (Mb) leva a deleção de aproximadamente 45 genes e resulta da recombinação e rearranjos de pontos. Porém, deleções maiores ou menores têm sido identificadas <sup>9,53,54</sup>.

A ausência de variação na extensão da deleção tem sido atribuída a presença de regiões de repetições de poucas cópias (low copy repeats - LCRs) intracromossomal, também referido como uma duplicação segmentar. Foi proposto que LCRs devem conferir instabilidade na região mediante recombinações homólogas aberrantes e eventos de “*crossing-over*” desigual durante a meiose devido a alta sequência similar entre segmentos repetidos. Isso faz com que um dos cromossomos 22 perca o segmento 3 Mb de ácido desoxirribonucléico (DNA) (sofra deleção) e o outro receba o material cromossômico extra (apresente duplicação) <sup>55</sup>.

A região 22q contém oito LCRs conhecidas como LCR22s. O evento de recombinação mais comum ocorre entre LCR22-2 e LCR22-4 e chega ao tamanho de uma deleção de 3 Mb, que está associada a SDG, SVCF. Esta deleção está associada com defeito cardíaco conotruncal, insuficiência velofaríngea, dificuldade de aprendizado, disfunção imunológica, hipocalcemia, defeitos urogenitais e alterações faciais, e é clinicamente indistinguível da deleção 1,5 Mb, que compreende a recombinação entre LCR22-2 e LCR22-3 <sup>56</sup>.

A alta frequência de del 22q11 originada *de novo* deve sugerir considerável instabilidade genômica na região do cromossomo 22. O mecanismo genético por trás da microdeleção é baseado em recombinação homóloga não alélica. Em 90% dos pacientes a identificação da microdeleção cobre uma região de 3 Mb, codificando 30 genes, referida na típica região deletada enquanto que a microdeleção de 1,5 Mb que inclui 24 genes tem sido descoberta em 8% dos

pacientes. Uma mínima região crítica de DiGeorge (DGCR) cobre em torno de 0,5 Mb e vários genes: *CTP*, *CLTD*, *TUPLE1*, *UFD1*, *TBX1*, *CDC45*. Os restantes 2% incluem pacientes com outras alterações cromossômicas (ex. del 10p13, 17p13 e 4q21,3-25) <sup>57,58</sup>.

### **1.6.1 Aspectos clínicos**

A SD22q11 possui um espectro fenotípico amplo. Mas de 180 características clínicas tem sido descrita, aspectos físicos e comportamentais, têm sido relatados anormalidades craniofaciais, oftalmológicas, otorrinolaringológicas, alimentares, gastrointestinais, neurológicas, de desenvolvimento psicossocial e de função cognitiva, psiquiátricas, auto-imunes, hematológicas, imunológicas, endocrinológicas, vasculares, músculoesqueléticas e urogenitais. Nenhuma característica única clínica ocorre em 100% dos casos e não há relato de casos que apresente todos ou a maioria dos achados clínicos <sup>51</sup>.

Características clínicas podem variar dependendo da idade do paciente. Porém, eles comumente incluem dois ou mais destes clássicos achados: distúrbios de desenvolvimento, dificuldades de linguagem, ou ambos, anomalias cardíacas conotruncal, defeitos do palato, regurgitação nasal, e/ou fala hiperanasalada, problemas comportamentais, doença psiquiátrica ou ambas, imunodeficiência, hipocalcemia e características faciais. Esta expressão variável também significa que del 22q11 pode ser detectada em pacientes que foram diagnosticados previamente com outras síndromes. Identificação da SD22q11 em adolescentes e adultos frequentemente requer índice maior de suspeição. Crianças do sexo masculino e feminino são igualmente afetadas <sup>59</sup>.

#### **1.6.1.1 Alterações craniofaciais**

Os achados faciais se caracterizam por uma face alongada; hipertelorismo (distância interpupilar aumentada); nariz proeminente com base e narinas pequenas e ponte alargada apresentando uma configuração tubular; filtro labial longo; redundância pálpebral com fendas estreitas; excesso maxilar vertical; retrognatia e anomalias auriculares menores <sup>57,60</sup>. Assimetria facial ao choro,

craniosinostose e malares planos também são observados. A microcefalia ocorre em 40% dos indivíduos com deleção 22q11.2. As características faciais são muito variáveis, pouco evidentes em lactentes, crianças jovens ou grupos étnicos, tende a ficar mais evidente com a idade<sup>52,61</sup>.

### **1.6.1.2 Anormalidades do palato**

A fissura do palato está frequente em 85% dos pacientes. O tipo mais comum de anomalia do palato encontrada na SD22q11 é a fissura submucosa e fissura submucosa oculta do palato, estas alterações são difíceis de serem diagnosticadas ao exame clínico. A maioria dos indivíduos com ou sem fissura palatal possuem algum grau de incompetência velofaríngea. A voz hiperanasalada ocorre em aproximadamente 75% dos indivíduos com SD22q11.2<sup>51</sup>. A insuficiência velofaríngea pode manifestar como atraso de linguagem, dificuldades na fonação, apnéia em neonatos, regurgitação nasal, refluxo gastroesofágico e dificuldade de alimentação. A insuficiência velofaríngea também é um fator de recorrente otite média, que pode ocasionar surdez<sup>18,52,57,61</sup>.

### **1.6.1.3 Alterações cardiovasculares**

As anomalias cardiovasculares são características chave da síndrome e são encontradas em 75 a 80% dos indivíduos (Bales et. al., 2010).

O impacto do problema cardíaco é muito importante em crianças com síndrome da deleção 22q11.2, destes a malformação cardíaca afeta 79% dos pacientes. Os clássicos defeitos cardíacos que ocorrem em pacientes com deleção 22q11 são defeitos conotrunciais, outros tipos de defeitos também são relatados, incluindo defeito do septo atrial, canal atrioventricular, atresia de tricúspide, transposição de grandes artérias, hipoplasia de ventrículo esquerdo, heterotaxia, coartação de aorta, anel vascular e outras anomalias do arco aórtico<sup>25</sup>.

A literatura tem mostrado uma associação de 2% a 48% dos casos de defeito cardíaco conotruncal com a del 22q11.2 (Tabela 2). A del22q11 é mais frequente em três defeitos cardíacos conotruncal: IAA, TA e TOF. A incidência da

del 22q11 em pacientes com tetralogia de Fallot tem sido relatada de 16% a 63%, nos pacientes com atresia pulmonar de 16 a 40%, e de 25% nos pacientes com defeitos do septo ventricular, nos que apresentam *truncus arteriosus* a estimativa é de 33% e chega a 50% nos pacientes portadores de interrupção do arco aórtico tipo B. Nos pacientes com defeito cardíaco conotruncal do tipo TGV e DVSVD a presença da del 22q11 é rara <sup>45,57,64</sup>.

**Tabela 2** - Frequência da deleção 22q11.2 em indivíduos com defeito cardíaco congênito conotruncal na literatura

Referências	Idade	N Total	del22q11
			N (%)
Goldmuntz et al. (1993) <sup>63</sup>	Crianças	17	5 (29%)
Goldmuntz et al. (1998) <sup>65</sup>	Crianças	251	45 (17,9%)
Iserin et al. (1998) <sup>66</sup>	recém - nascidos	104	50 (48%)
Worthington et al. (1998) <sup>67</sup>	Crianças	90	15 (17%)
Voigt et al. (2002) <sup>68</sup>	4 dias a 58 anos	100	2 (2%)
Mahle et al. (2003) <sup>69</sup>	1 dia a 4 anos	58	20 (34%)
Giray et al. (2003) <sup>70</sup>	idade?	36	7 (19,4%)
Anaclerio et al. (2004) <sup>71</sup>	1 dia a 5 anos	350	27 (8%)
Rauch et al. (2004) <sup>72</sup>	Crianças	23	9 (39,1%)
Khositserh et al. (2005) <sup>73</sup>	Adultos	61	9 (14,8%)
Beauchésne et al. (2005) <sup>74</sup>	Adultos	103	6 (5,8%)
Jianrong et al. (2006) <sup>75</sup>	Crianças	32	3 (9,3%)
Rosa et al. (2008) <sup>86</sup>	Crianças	198	4 (2%)
Ziolkowska et al. (2008) <sup>77</sup>	Crianças	214	15 (7%)
Lammer et al. (2009) <sup>27</sup>	Crianças	622	30 (10%)
Gargouri et al. (2009) <sup>76</sup>	26 meses a 30 anos	26	1 (3,9%)
Anilkumar et al. (2011) <sup>78</sup>	crianças abaixo de 2 anos	254	49 (19%)
Xu et al. (2011) <sup>14</sup>	Idade ?	212	13 (6%)
Agergaard et al. (2012) <sup>a79</sup>	Crianças	415	29 (7%)

#### 1.6.1.4 Alterações musculoesqueléticas

A baixa estatura é relatada em 35% a 40% dos indivíduos com del 22q11.2. Platibasia (achatamento da base do crânio) e escoliose ocorrem com uma

frequência de 75% e 15% respectivamente. Outras alterações incluem anomalias vertebrais, costelas ausentes ou supranumerárias, polidactilia, sindactilia e pé torto congênito. As hérnias umbilical e inguinal também podem estar presentes nos indivíduos afetados <sup>52,57</sup>.

#### **1.6.1.5 Alterações urogenitais**

Anormalidades genitais e renais são observadas e incluem hipospádia, criptorquidismo, imperfuração anal, agenesia renal, rins displásicos ou císticos, anormalidades obstrutivas, refluxo vesicoureteral, nefrocalcinose, hidronefrose, dilatação de ureteres e de cálice renal <sup>49,52</sup>.

#### **1.6.1.6 Alterações neurológicas e comportamentais**

Atraso no desenvolvimento neuromotor é frequente, hipotonia e déficit cognitivo podem ser responsáveis pelo atraso motor <sup>61</sup>.

O retardo mental leve a moderado é visto em aproximadamente 40 a 50% dos pacientes e o quociente de inteligência (QI) médio desses indivíduos é de 70. O déficit cognitivo é diretamente associado com a deleção 22q11 e não com a presença de defeitos cardíacos ou anomalias do palato <sup>18,52,57</sup>.

A dificuldade de aprendizado é observada em todos os pacientes. Distúrbio da linguagem ocorre no primeiro ano de vida. As crianças apresentam melhor desempenho em habilidades verbal e deficiências na área de percepção visual, habilidade espacial e pensamento abstrato. Matemática é geralmente uma área de grande dificuldade <sup>18,52</sup>.

Na infância, é descrito a presença de distúrbios comportamentais como transtorno de déficit de atenção e hiperatividade e instabilidade emocional, na adolescência são relatados depressão e ansiedade. No adulto a psicose de início tardio é uma característica, outras manifestações psiquiátricas como distúrbio bipolar, transtorno obsessivo-compulsivo e esquizofrenia afetam até 30% dos indivíduos. Distúrbios do comportamento como desinibição, impulsividade e dificuldade de interação social também são observados <sup>18,52,57,61</sup>.

O autismo e as desordens do espectro autístico são mais frequentes nesses pacientes que na população geral <sup>61</sup>.

As anormalidades cerebrais descritas na SD22q11 incluem: redução do cerebelo, agenesia do corpo caloso, cisto periventricular, atrofia cerebral e alteração volumétrica de substância branca e cinzenta, e podem ser ocasionadas pelo desenvolvimento anormal de células da crista neural <sup>18,52,80,81</sup>.

#### **1.6.1.7 Alterações endócrinas**

A hipocalcemia é observada em 17 a 60% dos pacientes, é considerada uma das principais características da SD22q11, presente entre o nascimento e três meses de idade com uma variedade de sintomas como convulsões, tremores e rigidez. Hipotireoidismo e hipoparatiroidismo também podem ocorrer <sup>49,82</sup>.

#### **1.6.1.8 Alterações imunológicas**

A imunodeficiência ocorre como resultado de hipoplasia tímica. Uma forma variável de imunodeficiência combinada pode estar presente. Os pacientes podem ter hipergamaglobulinemia, auto anticorpos e elevados níveis de anticorpos para antígenos naturais que podem estar relacionado a falha na resposta imune mediada pelo linfócito T <sup>49,57</sup>. Infecções recorrentes são comuns na SD22q11 e não estão correlacionadas com a função dos linfócitos T, fatores como defeitos anatômicos, refluxo, alergias, doença cardíaca, desnutrição contribuem para as infecções recorrentes <sup>61</sup>.

#### **1.6.1.9 Alterações autoimune**

Associação com doenças autoimune tem sido relatada acima de 30% na SD22q11, o mecanismo responsável pela alta incidência ainda não foi elucidado (McLean-Tooke et al., 2007). Outras doenças autoimune como a síndrome de Bernard-Soulier (trombocitopenia e plaquetas gigantes), neutropenia, anemia hemolítica, artrite reumatóide juvenil, doença de Graves e vitiligo também são observadas <sup>49,61</sup>.

#### **1.6.1.10 Outras alterações**

São descritos alterações oftamológicas como vasos da retina tortuosos, estrabismo, ambliopia e ptose palpebral (Hay, 2007).

Complicações gastrointestinais são relatadas nos pacientes com deleção do 22q11.2, como a atresia de esôfago, doença de Hirshsprung, constipação, má rotação intestinal <sup>52</sup>.

Pode haver associação com polimicrogíria, obesidade e alterações dermatológicas. Pacientes com deleção 22q11.2 podem apresentar achados clínicos que sobrepõem a varias síndromes genéticas conhecidas, incluindo a síndrome de Noonan, de Opitz, associação de CHARGE e de VATER <sup>52,84</sup>.

#### **1.7 Microduplicação do 22q11.2**

Considerável atenção é agora devotada não somente a deleção, mas também a microduplicação do 22q11.2. Microduplicação do 22q11.2 pode ocorrer com uma frequência aproximada de metade da deleção. O fenótipo dos pacientes com microduplicação 22q11.2 é extremamente variável, mas ocorre significativa sobreposição as características da SDG/SVCF. O espectro da DCC associada com microduplicação 22q11.2 é vasta, incluindo defeitos conotruncal e não conotruncal, defeito do septo ventricular, síndrome do coração esquerdo hipoplásico, anomalias valvulares e anomalia total do retorno venoso pulmonar, entre outras. Interessantemente, há uma alta variabilidade de expressão interfamiliar e intrafamiliar entre membros da família com o mesmo tamanho da duplicação <sup>85</sup>.

## **2 JUSTIFICATIVA**

---

Investigações citogenéticas e moleculares são fundamentais para um diagnóstico preciso, aconselhamento genético familiar e adequada avaliação e manejo clínico nos pacientes com anomalias cardíacas conotrunciais associadas, ou não, a outras manifestações clínicas. Desta forma, a presente pesquisa foi proposta no intuito de determinar a presença de variações no número de cópias gênicas em pacientes portadores de cardiopatia conotruncal e seus pais, importante ressaltar que no Brasil, exceto estudos com SD22q11 (Rosa et al., 2008; Gioli-Pereira et al., 2008; Belanger et al., 2009; Monteiro et al., 2013), não há estudos que relacionam DCC e CNVs. Estes dados adquirem relevância visto que, o estudo é inédito no estado de Mato Grosso.

Este estudo utilizou como método diagnóstico a técnica de biologia molecular (MLPA), realizado no Laboratório de Citogenômica – LIM 03 da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo (FMUSP).

### **3 OBJETIVOS**

---

### **3.1 Objetivo Geral**

- Detectar a presença da variação no número de cópias gênicas em pacientes portadores de cardiopatia conotruncal.

### **3.2 Objetivos Específicos**

- Descrever os achados moleculares pela técnica de MLPA e associar ao fenótipo do paciente.
- Realizar MLPA nos pais dos pacientes nos quais foram detectados CNV

## ***4 CASUÍSTICA E MÉTODOS***

---

#### 4.1 Casuística

Para o estudo prospectivo participaram 39 pacientes portadores de cardiopatia congênita do tipo conotruncal e coartação da aorta.

Os pacientes presentes no estudo eram oriundos dos seguintes serviços: Ambulatório de Cardiologia Pediátrica e Unidade de Terapia Intensiva Neonatal do Hospital Universitário Júlio Müller (HUJM); Ambulatório de Cardiologia Pediátrica da Secretaria Estadual de Saúde; Unidade de Terapia Intensiva Neonatal do Hospital e Maternidade Femina, todos localizados em Cuiabá - Mato Grosso.

O período de coleta foi de março de 2012 a novembro de 2012. O critério de inclusão foi a presença das lesões ao exame ecocardiográfico: *truncus arteriosus*, tetralogia de Fallot, interrupção do arco aórtico, atresia pulmonar e defeito do septo ventricular, transposição de grandes artérias e coartação da aorta. E foram excluídos os pacientes com cariótipo com banda G alterado.

Os pacientes ou pais e/ou responsáveis foram informados da realização da pesquisa, assinando um termo de consentimento livre e esclarecido (Anexo A) aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo (CEP-FMUSP nº 323/11) (Anexo B) e pelo Comitê de Ética do Hospital Universitário Júlio Müller/UFMT (Projeto n 957) (Anexo C).

Nos pacientes com alterações de CNVs foram incluídos avaliação clínica e laboratorial de seus pais.

#### 4.2 Investigação clínica

Todos os pacientes foram avaliados pela pesquisadora, foi preenchida uma ficha clínica (anexo D) para cada indivíduo constando dados de identificação, antropometria, história familiar, e os sinais clínicos mais frequentes presentes na SD22q11 foram pesquisados a partir de dados da *Specialist Fact Sheet* retirado do site *The Velo-Cardio-Facial Syndrome Educational Foundation*

([www.vcfsef.org](http://www.vcfsef.org)). A avaliação de aspectos dismórficos foram analisados posteriormente através de fotografias ou pessoalmente por um geneticista.

### 4.3 Coleta das amostras de sangue

Foram coletados oito mililitros (8 mL) de sangue venoso periférico dos probandos e seus familiares quando disponíveis, sendo um frasco de 4 mL de seringa heparinizada para a realização de citogenética clássica e 4 mL com EDTA para realização da técnica de MLPA.

### 4.4 Estudo molecular

#### 4.4.1 Multiplex Ligation-dependent Probe Amplification (MLPA)

As amostras de sangue foram encaminhadas para o Laboratório de Citogenômica – LIM 03 da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo (FMUSP), onde foi realizada a técnica de MLPA, sob a supervisão da Dra. Leslie Domenici Kulikowski.

As reações de MLPA foram realizadas de acordo com o protocolo do fabricante utilizando os *kits*-SALSA P036, P070, P064 e P250 (MRC-Holland®, Amsterdam, The Netherlands) com algumas modificações para maior rendimento dos reagentes.

Os *kits* P036 e P070 detectam alterações subteloméricas e são utilizados para descartar outros microrrearranjos envolvendo as porções finais dos cromossomos.

O *kit* P064 é indicado para as principais síndromes de microdeleções, detecta alterações em 22q11.2 e em outras regiões críticas para algumas síndromes, tais como: deleção 1p36; síndrome de Williams; síndrome de Smith-Magenis; síndrome de Miller-Dieker; síndrome de Saethre-Chotzen, síndrome de Sotos, síndrome de PraderWilli/Angelman, síndrome de Allagille e outras.

O *kit* P250 é específico para a síndrome de DiGeorge, detecta microdeleções/microduplicações em 22q11.2, além de identificar microalterações

em 22q11.2, possui a vantagem de conter sondas para outras regiões envolvidas na formação das cardiopatias

A técnica começou com aproximadamente 250 ng de DNA genômico (5  $\mu$ L) sendo adicionados a um microtubo e levados ao termociclador (Veriti® ThermalCycler – Life Technologies) para desnaturação a 98°C por 15 minutos. Em seguida, uma mistura das sondas (específicas para cada *kit*) e solução tamponada foi adicionada ao DNA desnaturado, para o processo de hibridação das sondas de MLPA ao DNA a 60°C por 3 horas. Sem retirar os tubos do termociclador, soluções tamponadas juntamente com a enzima ligase, foram adicionadas à solução de hibridação para a ligação das sondas em cada região alvo específica a 54°C por 15 minutos. Na última etapa, em temperatura ambiente, devido a *Taq* Polimerase ser termoestável, os reagentes para a reação de PCR foram adicionados à solução de ligação, para a amplificação somente dos fragmentos unidos pela ligase. Assim, os produtos amplificados foram colocados em microplacas juntamente com marcador de peso molecular (LIZ - GS600) e Hi-Di Formamide (Life Technologies) e levados ao sequenciador automático ABI 3500 (Life Technologies) para as reações de análise de fragmentos.

Por se tratar de um teste citogenômico comparativo, em todas as reações de MLPA foram utilizadas pelo menos três controles normais. Os dados foram gerados pelo sequenciador automático ABI 3500 (Life Technologies), da Rede de Equipamento Multiusuário no laboratório de Imunologia do Instituto do Coração – INCOR – HC / FMUSP.

A análise dos resultados da reação de MLPA foi realizada utilizando o *software* GeneMarker® (Softgenetics LLC, StateCollege, PA - [www.softgenetics.com](http://www.softgenetics.com)). Os resultados foram considerados alterados quando o tamanho do pico relativo era menor do que 0,75 (deleção) ou maior do que 1.25 (duplicação) quando comparado a amostras normais.

## ***5 RESULTADOS/DISCUSSÃO***

---

## 5.1 Amostra

Participaram do estudo, 39 pacientes portadores de cardiopatia congênita dos quais 23 (59%) eram do sexo masculino e 16 (41%) do sexo feminino. A idade variou de 2 dias a 19 anos, a média foi de 5 anos e 7 meses, com mediana de 6 anos. Somente duas mães relataram diagnóstico prévio através de ultrassonografia gestacional do feto com cardiopatia congênita.

Entre as cardiopatias observadas, a maioria dos pacientes apresentava tetralogia de Fallot, presente em aproximadamente 56% da casuística. As outras cardiopatias estão descritas na Tabela 3.

**Tabela 3 – Distribuição dos tipos de cardiopatia da amostra**

<b>Tipo de cardiopatia</b>	<b>N ( % )</b>
Tetralogia de Fallot	22 (56,4%)
Transposição de grandes artérias	9 (23%)
Coartação da aorta	4 (10,3%)
Dupla via de saída de ventrículo direito	3 (7,7%)
Atresia pulmonar e defeito do septo ventricular	1 (2,6%)
Total	39 (100%)

## 5.2 Pacientes sem alteração no MLPA

Não foi detectado CNVs usando quatro *kits* (P036, P070, P064 e P250) em 32/39 pacientes (82,05%).

Em 15/32 pacientes (46,8%) com MLPA normal, foram observadas anormalidades extracardíacas (Tabela 4), os sinais e sintomas clínicos presentes observados foram: dismorfias faciais, estrabismo, acidente vascular cerebral, convulsão, paralisia facial, déficit auditivo, vitiligo, epilepsia, autismo, estenose subglótica, asma, infecções de vias aéreas inferiores e superiores frequentes, onfalocele, daltonismo, dificuldade de alimentação, déficit de crescimento, refluxo

gastroesofágico, criptorquidismo, distúrbio da fala, dificuldade de aprendizado e hipocalcemia. Somente em um paciente foi detectado fissura palatal.

**Tabela 4 – Características dos pacientes sem alteração no MLPA**

<b>N</b>	<b>Idade</b>	<b>Sexo</b>	<b>Cardiopatia</b>	<b>Outras alterações clínicas</b>	<b>Destino /Idade atual</b>
MC002	7 a	M	TOF	Ausente	Amb / 9 a
MC004	9 a	M	TOF	Dificuldade de aprendizado Distúrbio da fala	Amb / 11 a
MC005	4 a	M	TOF	Ausente	Amb / 6 a
MC007	8d	M	TGA	Ausente	Óbito / 14 d
MC008	6 a	F	TOF	Onfalocele IVAI freqüente Convulsão AVC Paralisia facial Déficit de crescimento	Amb / 8 a
MC009	3 a	M	Co. Aorta	Ausente	Amb / 5 a
MC010	8 a	M	TGA	Convulsão Dificuldade de aprendizado	Amb / 10 a
MC012	12 a	F	TGA	Ausente	Amb / 14 a
MC013	15 a	M	TOF	Ausente	Amb / 17 a
MC014	19 a	F	TOF	Ausente	Amb / 21 a
MC016	2 a	M	TGA	Ausente	Amb / 4 a
MC017	7a	M	TOF	Ausente	Amb / 9 a
MC018	3 a	M	TOF	Estenose subglótica Criptorquidismo unilateral	Amb / 5 a
MC019	1 a	F	TOF	Ausente	Amb / 3 a
MC020	1 m	M	TGA	Ausente	Óbito / 1 m 28 d
MC021	5 a	F	TGA	Estrabismo	Amb / 7 a
MC022	10a	F	TOF	Ausente	Amb / 12 a
MC023	15 a	F	DVSVD	Déficit de crescimento IVAS freqüente Déficit auditivo	Amb / 17 a

## Resultados/Discussão

MC024	9 a	F	TOF	RGE	Amb / 11 a
MC025	3 m	F	TOF	Fissura labial e palatal	Amb / 2 a
MC026	28 d	M	TOF	Ausente	Óbito / 1 m 15 d
MC027	9 m	M	TOF	Dificuldade de alimentação IVAS frequente	Amb / 2 a
MC028	16 a	M	TOF	Ausente	Amb / 18 a
MC029	6 a	M	TGA	Epilepsia Autismo Dismorfismo facial	Amb / 8 a
MC031	4 a	F	TOF	Déficit de crescimento AVC IVAS frequente Vitiligo	Amb / 5 a
MC032	10 m	F	TOF	Estrabismo divergente Dismorfismo facial	Amb / 2 a
MC033	10 a	M	TOF	Ausente	Amb / 12 a
MC034	9 a	M	TOF	Asma Hipocalcemia IVAS freqüente	Amb / 11 a
MC035	2d	M	TGA	Ausente	Óbito / 9 d
MC036	19 d	M	AP+DSV	Ausente	Óbito / 25 dias
MC037	12 a	M	Co. Aorta	Convulsão Daltonismo Asma IVAS e IVAI frequentes	Amb / 14 a
MC038	1 a	M	Co. Aorta	Asma RGE	Amb / 2 a

d:dia, m:mês, a:anos, F:feminino, M:masculino,TOF:tetralogia de Fallot, TGA:transposição de grandes artérias, Co. Aorta:coartação de Aorta, DVSVD:dupla via de saída de ventrículo direito, AP+DSV:atresia pulmonar e defeito do septo ventricular, RDNPM:retardo no desenvolvimento neuropsicomotor, IVAI:infecção de vias aéreas inferiores, IVAS:infecção de vias aéreas superiores, RGE:refluxo gastroesofágico, dup:duplicação, del:deleção, amb:ambulatorio.

Recorrência familiar de cardiopatia congênita foi verificada em 2/32 pacientes.

Em um paciente MC004 com tetralogia de Fallot, havia relato de tio materno que nasceu com defeito cardíaco desconhecido. A mãe do paciente não apresentava cardiopatia.

Outro paciente MC020, com diagnóstico de transposição de grandes artérias e que faleceu com um mês de vida, internado em Unidade de Terapia Intensiva, aguardando transferência para realizar cirurgia, apresentava relato de dois primos paternos que foram a óbito por defeito cardíaco desconhecido (toda a família reside em área rural, em uma colônia de descendentes russos).

Dos 32 pacientes, cinco foram a óbito, e todos que foram a óbito estiveram internados em Unidade de Terapia Intensiva Neonatal (UTI), aguardavam transferência para um centro especializado em cirurgia cardíaca. Os demais pacientes estão vivos e mantêm acompanhamento periódico no ambulatório de cardiologia pediátrica.

A descrição clínica destes pacientes está no anexo E.

### 5.3 Pacientes com alteração no MLPA

Com a técnica de MLPA utilizando quatro *kits*, foi possível detectar CNVs em 7/39 pacientes (17,9%) sendo dois casos de deleção (del 19p, del 22q) e cinco casos de duplicação (dois casos de dup 15q, dup 20p, dup 22q, dup 8p com dup 10p) (Tabela 5).

**Tabela 5** – Alterações encontradas no MLPA

Pacientes	Regiões envolvidas			
	P064	P036	P070	P250
MC 001	dup 15q11.2	Normal	–	–
MC 003	–	del 19p	Normal	–
MC 006	dup 20p12.2	Normal	Normal	–
MC 011	Normal	dup 15q	–	–
MC 015	–	Normal	–	dup 8p23.2 / dup 10p12.31
MC 030	–	–	–	dup 22q11.2
MC 039	–	–	–	del 22q11.2

dup.: duplicação; del.: deleção; \_ não realizado

Com o *kit* P064 que descarta principais microdeleções e duplicações em diferentes cromossomos para diversas síndromes diferentes, inclusive deleção típica em 22q11.2 (3,0 Mb), foi encontrada alterações em dois pacientes: dup 15q e dup 20p.

Os *kit* P036 e P070 para regiões subtelo méricas encontrou uma del 19p e uma dup 15q.

O *kit* P250 específico para microdeleção/microduplicação em 22q e outras regiões envolvidas com cardiopatia, encontrou alterações em três pacientes: dup 8p concomitante a dup 10p, dup 22q e del 22q.

### **5.3.1 Quadro clínico**

Dos sete pacientes que apresentaram CNVs (Tabela 6), a idade variou de 19 dias a 10 anos.

Três apresentavam tetralogia de Fallot, dois DVSVD, um TGA e um Co. aorta.

Os sete pacientes apresentavam alterações extracardíaca como: dismorfismo facial, dente neonatal, atrofia e displasia cerebral, atresia duodenal, dificuldade de aprendizado, insuficiência velofaríngea, aplasia de timo, refluxo gastroesofágico, hérnia umbilical, dificuldade de aprendizado, asma, IVAS e IVAI frequente, déficit de crescimento e somente três apresentavam retardo no desenvolvimento neuropsicomotor (dup 15q 11.2, dup 15q, del 22q11.2).

Houve relato de cardiopatia na família em apenas um caso (dup 15q11.2), a mãe relatava que o irmão da paciente apresentou cardiopatia congênita complexa.

Dos sete pacientes, três estavam internados em UTI Neonatal e foram a óbito, um após receber alta da UTI, um após cirurgia cardíaca e um aguardando transferência para um centro especializado em cirurgia cardíaca. Os demais quatro pacientes estão em acompanhamento no ambulatório de cardiologia.

Com relação aos pais destes pacientes, exceto a mãe do paciente com dup 22q que apresentava déficit intelectual os demais eram fenotipicamente normais.

**Tabela 6 – Características dos pacientes com CNVs**

<b>N</b>	<b>Idade</b>	<b>Sexo</b>	<b>Cardiopatia</b>	<b>Alterações clínicas</b>	<b>MLPA</b>	<b>Destino/ idade atual</b>
MC001	3m	F	Co. Aorta	Dismorfismo facial Atresia duodenal Dente neonatal, Atrofia, displasia cerebral IVAS, IVAI frequentes RDNPM	dup15q11.2	Óbito/ 4m
MC003	6 a	M	TOF	Dismorfismo facial Asma	del 19p	Amb / 8 a
MC006	19 d	M	DVSVD	Dismorfismo facial	dup20p12.2	Óbito / 23 d
MC011	2 a	M	TOF	Dismorfismo facial Déficit de crescimento RDNPM	dup15q	Amb / 4 a
MC015	6 a	F	TOF	Fronte ampla Dedos das mãos fusiformes	dup8p23.2 e dup10p12.31	Amb / 8 a
MC030	10 a	M	TGA	Dismorfismo facial RGE IVAI frequente Dificuldade de aprendizado	dup 22q11	Amb / 12 a
MC039	5 m	F	DVSVD	Dismorfismo facial Hérnia umbilical Dificuldade de alimentação Déficit de crescimento RGE Insuficiência velofaríngea Aplasia de timo RDNPM	del 22q11	Óbito / 6 m

d:dia, m:mês, a:anos, F:feminino, M:masculino, TOF:tetralogia de Fallot, TGA:transposição de grandes artérias, Co. Aorta: coarctação de Aorta, DVSVD:dupla via de saída de ventrículo direito, AP+DSV:atresia pulmonar e defeito do septo ventricular, RDNPM:retardo no desenvolvimento neuropsicomotor, IVAI:infecção de vias aéreas inferiores, IVAS:infecção de vias aéreas superiores, RGE:refluxo gastroesofágico, dup:duplicação, del:deleção, amb:ambulatório.

### 5.3.2 Investigação dos pais

A investigação dos pais foi realizada em seis famílias dos pacientes com alteração no MLPA, destas em quatro famílias obtivemos material de ambos os

genitores (pai e mãe) e em dois casos apenas material materno (dup 22q11.2 e dup 8p23.2 com dup 10p12.31).

Foi encontrado polimorfismo nos pais em três casos (dup15q11.2, dup 22q11.2 e dup 8p23.2 com dup 10p12.31), em um caso o resultado de ambos os pais foi inconclusivo (dup 15q).

Exceto uma mãe com déficit intelectual (dup 22q11.2), todos os pais eram fenotipicamente normais.

### **5.3.3 Descrição e discussão de sete casos com alterações**

#### **5.3.3.1 Duplicação 15q11.2**

Paciente do sexo feminino (Figura 8), pais não consaguíneos, pai com 30 anos de idade e mãe de origem indígena, 31 anos, com quatro filhos, os dois primeiros de união anterior saudáveis, da união atual teve o terceiro filho que apresentou cardiopatia congênita complexa e foi a óbito com um ano de idade após cirurgia cardíaca.

Nasceu de parto cesárea, com 38 semanas de idade gestacional, pesando 2165 g (abaixo do percentil 3 para a idade), medindo 44 cm (percentil 3 para a idade), perímetro cefálico de 32 cm (entre os percentis 3 e 10 para a idade) e Apgar 09 e 09. Internada em UTI por período prolongado com diagnóstico ao ecocardiograma de coartação grave da aorta, canal arterial pérvio, comunicação interatrial e inúmeras comunicações interventriculares.

Com três meses de idade apresentava peso de 3030 g (entre os percentis 3 e 15 para a idade), comprimento de 49 cm (entre os percentis 3 e 15 para a idade) e perímetro cefálico de 36 cm (muito abaixo do percentil 3 para a idade), as alterações faciais observadas foram: olhos pequenos, amendoados, lábio superior fino, micrognatia, microcefalia, presença de dente neonatal e canal de ouvido estreito.

As outras alterações apresentadas foram: atresia duodenal, apêndice à esquerda, constipação, dificuldade de alimentação, déficit de crescimento, hipertonia, atraso no desenvolvimento neuropsicomotor (não sustentava a cabeça). alteração na regulação da temperatura corporal e infecções de vias

aéreas inferiores frequentes. A tomografia computadorizada de crânio evidenciou atrofia e displasia de cortical. Foi a óbito com quatro meses de idade, logo após receber alta da UTI para casa.

A mãe desta paciente apresentou alteração no *kit* P064 uma duplicação 1p36 nas sondas *TNFRSF4*, e no *kit* P250 apresentou uma duplicação nas sondas *RAB36*; *SMACB1\_2* e *LZTR*, essas alterações foram consideradas como polimorfismo. O MLPA do pai foi normal



FIGURA 8 – Paciente com duplicação 15q11.2

Deleção ou duplicação na região do cromossomo 15 resultam em fenótipos variáveis que vão do normal ao afetado <sup>90</sup>, essa desordem apresenta sobreposição com deleções que causam a síndrome de Prader Willi/Angelman, nas quais o transtorno de espectro autístico é frequentemente uma morbidade, outras alterações encontradas são a distúrbio da linguagem e transtorno de déficit de atenção <sup>91,92</sup>. Compatível com o relatado na literatura, este paciente apresentava várias alterações fenotípicas faciais, déficit de crescimento, grave retardo no desenvolvimento psicomotor e defeito cardíaco.

### 5.3.3.2 Duplicação 20p12.2

Neonato de 19 dias de vida, sexo masculino (Figura 9), primeiro filho de pais saudáveis, não consaguíneos, com 20 e 24 anos, mãe e pai respectivamente e história negativa para cardiopatia na família. Nasceu de parto cesárea, idade gestacional de 39 semanas, peso de 3800 g (percentil 75 para a idade), comprimento de 52 cm (percentil 50 para a idade), perímetro cefálico de 34 cm (percentil 25 para a idade) e Apgar 10. Internado em UTI com dez dias de vida com sopro cardíaco e cianose, no ecocardiograma evidenciado dupla via de saída de ventrículo direito, comunicação interatrial ampla, câmara ventricular rudimentar, hipoplasia do arco aórtico, canal arterial persistente e estenose aórtica.

Ao exame físico detectado alterações faciais como achatamento bitemporal, face alongada, hipertelorismo ocular, dorso nasal alargado, ponta nasal achatada, narinas antevertidas e micrognatia, observado também pescoço curto, dedos das mãos e pés alongados.

Não foi observado outras alterações clínicas e os exames laboratoriais evidenciaram cálcio sérico dentro da normalidade. Permaneceu internado em UTI e foi a óbito aguardando transferência para realizar cirurgia cardíaca.

O MLPA dos pais resultou em normal.



**Figura 9** – Paciente com duplicação 20p12.2

A duplicação do cromossomo 20 é um fenômeno raro, poucos casos tem sido descritos na literatura <sup>93,94,95</sup>, usualmente aparece devido a um evento de translocação <sup>94,96</sup>.

As características clínicas encontradas associadas a dup 20p são uma aparência facial que inclui a rosto redondo com bochechas proeminentes, cabelos lisos e grossos, fissura palpebral oblíqua para cima, hipertelorismo, epicanto, estrabismo, nariz pequeno com narinas grandes, achatamento occipital, anomalias dentárias, anomalias vertebrais, defeito cardíaco congênito, anomalias renais, anomalias de dedos, retardo no desenvolvimento psicomotor, distúrbios na coordenação motora e na linguagem com padrão de crescimento normal, <sup>95,97</sup>. O paciente em questão apresentava DVSVD e alterações faciais semelhantes ao descrito na literatura.

#### **5.3.3.3 Deleção 19p**

Paciente do sexo masculino (Figura 10), segundo filho de pais saudáveis, não consaguíneos, mãe e pai com idades de 32 e 33 anos respectivamente, sem relato de cardiopatia na família. A mãe não apresentou intercorrências durante a gestação.

Nasceu de parto cesárea, 39 semanas de idade gestacional, pesando 3450 g (percentil 50 para a idade), medindo 49 cm (entre os percentis 25-50 para a idade), perímetro cefálico de 33,5 cm (percentil 50 para a idade) Com dois meses de vida foi detectado ao ecocardiograma tetralogia de Fallot.

Aos seis anos idade pesava 26500 g (entre os percentis 85 e 97 para a idade), media 123 cm (no percentil 85 para a idade)

No exame físico observado características faciais dismórficas como dorso nasal alargado, ponte nasal achatada, olhos amendoados e como alteração extracardíaca relatava asma. O desenvolvimento neuropsicomotor foi normal.

Não foi possível testar os pais deste indivíduo.



**Figura 10** – Paciente com deleção 19p

Rearranjos estruturais do cromossomo 19 são raros e as alterações descritas na literatura são: dismorfismo facial, crescimento intrauterino restrito, dificuldades de alimentação, malformação cardíaca, anomalias gastrointestinais, malformações renais e urogenitais, déficit auditivo, problemas visuais, déficit intelectual, dificuldade de aprendizado, retardo no desenvolvimento psicomotor<sup>98,99</sup>. O fenótipo encontrado nos pacientes com microdeleção do 19p é muito variável e dependente do tamanho da deleção, observa-se defeito cardíaco em quase todos os pacientes e déficit intelectual está presente em todos os pacientes relatados, contudo o déficit pode se apresentar de gravidade variável<sup>98,99,100,101,102</sup>. Similar com o descrito na literatura nosso paciente apresentava alterações fenotípicas faciais discretas e defeito cardíaco, contudo discordante da literatura o desenvolvimento neuropsicomotor foi normal e não apresentava déficit intelectual.

#### **5.3.3.4 Duplicação 15q**

Paciente do sexo masculino (figura 11), filho único, mãe e pai saudáveis, com 36 e 26 anos respectivamente, não consaguíneos, sem relato de cardiopatia na família. Nasceu de parto cesárea, primeiro gemelar de uma gestação dizigótica com trinta semanas de idade gestacional, pesando 1015 g (percentil 10 para a

idade), medindo 38 cm (percentil 10 para a idade), o segundo gemelar foi a óbito no período neonatal.

Aos 2 anos e 11 meses apresentava os seguintes dados antropométricos: peso de 14000 g (entre os percentis 50 e 85 para a idade), altura de 82 cm (abaixo do percentil 3 para a idade) e perímetro cefálico de 46 cm (abaixo do percentil 3 para a idade).

Apresentava ao ecocardiograma Tetralogia de Fallot, ao exame físico foi detectado características faciais dismórficas: hipertelorismo ocular, dorso nasal alargado, ponte nasal achatada, narinas antevertidas, filtro nasolabial longo com os pilares apagados e microcefalia.

As alterações clínicas evidenciadas foram: déficit de crescimento e retardo no desenvolvimento neuropsicomotor.

O MLPA dos pais para os *kits* P036/ P070 se mostraram inconclusivos



**Figura 11** – Paciente com duplicação 15q

Como relatado anteriormente, vários estudos têm demonstrado a relação da duplicação 15q com desordens do espectro autístico e distúrbios psiquiátricos, a variação no número de cópias nessa região parece influenciar na função comportamental e neurológica nos indivíduos afetados<sup>91,92</sup>, semelhante a Burnside et al., que descreveram 49 indivíduos com dup 15q com déficit de linguagem e atraso no desenvolvimento neuropsicomotor, nosso paciente também apresentava déficit de linguagem e retardo no desenvolvimento neuropsicomotor.

Já as características faciais mais frequentemente encontradas na dup 15q como nariz pequeno e bulboso e filtro nasolabial longo <sup>103</sup>, coincidem com as características fenotípicas deste paciente

### **5.3.3.5 Deleção 22q11.2**

A paciente MC039 (Figura 12), lactente do sexo feminino, primeira filha de pais saudáveis, não consaguíneos, com idades de 29 e 24 anos, mãe e pai respectivamente, sem relato de cardiopatia na família. A mãe durante a gestação apresentou diabetes gestacional com uso de insulina e a única alteração observada na ultrassonografia gestacional foi polidrâmio.

Nasceu de parto cesárea, 37 semanas de idade gestacional, pesando 2500 g (entre os percentis 10 e 25 para a idade), medindo 44 cm (percentil 10 para a idade), perímetro cefálico de 33,5 cm (percentil 50 para a idade) e Apgar de 8 e 8. Com cinco dias de vida foi detectado sopro cardíaco, o ecocardiograma evidenciou dupla via de saída de ventrículo direito, comunicação interatrial, comunicação interventricular ampla e estenose pulmonar discreta, internada em UTI e realizada a primeira cirurgia cardíaca.

Aos cinco meses de idade pesava 4200 g (entre os percentis 15 e 50 para a idade), media 55 cm (abaixo do percentil 3 para a idade) e o perímetro cefálico era de 36,5 cm (abaixo do percentil 3 para a idade).

No exame físico foi detectado características faciais dismórficas: hipertelorismo ocular, olhos grandes, dorso nasal alargado, ponta nasal achatada com narinas antevertidas, filtro nasolabial longo, lábio superior fino e em formato de "v" invertido, micrognatia, lóbulo da orelha achatada, os dedos das mãos afilados e alongados e hérnia umbilical.

As alterações clínicas evidenciadas foram: dificuldade de alimentação, déficit de crescimento, retardo no desenvolvimento neuropsicomotor (somente sustentava a cabeça).

Os exames de imagem evidenciaram refluxo gastroesofágico e aplasia de timo. Avaliação com otorrinolaringologista diagnosticou insuficiência velofaríngea. Os exames laboratoriais identificaram cálcio sérico dentro da normalidade.

Foi a óbito logo após cirurgia cardíaca com seis meses de idade.

O paciente apresentava uma deleção de 3,0 Mb, portanto deleção típica *de novo* para a síndrome de DiGeorge pois o MLPA pelo *kit* P250 dos pais foi normal.



**Figura 12** – Paciente com deleção 22q11.2

O único paciente deste estudo com del 22q11 (MC039), era inicialmente portador de cardiopatia conotruncal isolada, após um exame físico detalhado, foi observado várias alterações fenotípicas que fazem parte de SD22q11. A maioria dos trabalhos que têm como amostra uma população de indivíduos com cardiopatia conotruncal isolada, observam posteriormente em um exame clínico mais detalhado presença de alterações fenotípicas sutis não evidentes ao primeiro exame <sup>63</sup>.

Pacientes com cardiopatia conotruncal devem ser examinados para a presença de anormalidades não cardíacas, dos quais podem auxiliar na identificação daqueles pacientes que são suscetíveis de ter uma deleção. Porém características não cardíacas sutis podem não ser evidentes na infância quando a maioria dos pacientes são diagnosticados com doença cardíaca congênita. Algumas características clássicas são idade dependente enquanto que outras são mais subjetivas como a dismorfia facial <sup>63</sup>. Nesta paciente além da alteração fenotípica, foi diagnosticado insuficiência velofaríngea e aplasia de timo que são características clássicas da SD22q11..

A apresentação clínica da síndrome da del 22q11 pode ser extremamente variável. Detecção precoce da deleção é importante para o tratamento das

anomalias e para a investigação de malformações associadas e prevenção dos problemas neuropsicológicos e imunodeficiência. Na maioria dos casos a del 22q11 ocorre *de novo* na família, contudo herdar a microdeleção dos pais pode ocorrer em 6% a 28% e pais afetados podem apresentar um fenótipo leve. Por esta razão, teste para del 22q11 deve ser oferecido para todos os pais de crianças afetadas com o propósito do aconselhamento genético<sup>49,104</sup>. No paciente deste estudo os pais também foram pesquisados e o MLPA de ambos resultou em normal.

A paciente em questão apresentava como defeito cardíaco a DVSVD, e foi a óbito após a segunda cirurgia. Defeito cardíaco congênito é uma das mais frequentes manifestações da SD22q11, além disso é a maior causa de óbito na grande maioria dos pacientes com esta síndrome. A clássica malformação cardíaca que ocorre em pacientes com deleção 22q11 é do tipo conotruncal, daí a importância dos profissionais que trabalham com indivíduos com diagnóstico de cardiopatia congênita estar atentos ao diagnóstico, implicações terapêuticas e prognóstico, bem como no aconselhamento genético dessas famílias.

#### **5.3.3.6 Duplicação 22q11.2**

Paciente do sexo masculino (figura 13), filho único, mãe solteira, saudável, 35 anos, sem relato de cardiopatia na família, ultrassonografia gestacional com diagnóstico de macrossomia, nasceu de parto cesárea, com 40 semanas e seis dias de idade gestacional, pesando 4425 g (acima do percentil 90 para a idade), considerado grande para a idade gestacional, medindo 50 cm (entre os percentis 10 e 25 para a idade), com perímetro cefálico de 37,5 cm (acima do percentil 97 para a idade) e Apgar 08 e 10.

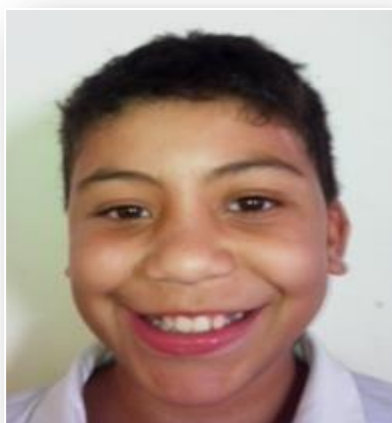
Ao completar 42 horas de vida apresentou desconforto respiratório, foi internado em UTI e o ecocardiograma detectou transposição de grandes artérias, comunicação interatrial e persistência do canal arterial, a cirurgia cardíaca foi realizada com dez dias de vida.

Aos 10 anos pesava 40 kg (entre os percentis 85 e 90 para a idade), altura 142 cm (entre os percentis 50 e 85 para a idade) e perímetro cefálico de 52,5 cm.

No exame físico foi observado alterações fenotípicas sutis como base nasal alargada, filtro nasolabial longo e lábio superior fino, com diagnóstico de refluxo gastroesofágico e frequentes infecções de vias aéreas inferiores (internado várias vezes com diagnóstico de pneumonia), o desenvolvimento neuropsicomotor foi normal, mas apresentava dificuldade de aprendizado.

Usando o *kit* de MLPA P250 foi identificada no paciente uma duplicação na região 22q11.2 pelas sondas *SNAP29* e *LZTR1*.

A mãe apresentava déficit intelectual e o mesmo teste mostrou uma deleção detectada pela sonda *SNAP29*, considerado como polimorfismo.



**Figura 13** - Paciente com duplicação 22q11.2

A duplicação do cromossomo 22 leva a um fenótipo semelhante a deleção 22q11.2, teoricamente eventos como deleção e duplicação nessa região deveriam ocorrer em igual proporção, contudo duplicação do 22q11.2 é raramente relatada <sup>105,106,107</sup>.

.A duplicação da região cromossômica DiGeorge (DGCR) leva a diferentes entidades clínicas, a síndrome de duplicação 22q11.2, que apresenta notável variabilidade no fenótipo, de aparentemente normais, com características faciais dismórficas e defeitos cardíacos a retardo mental grave <sup>108</sup>. O probando deste estudo apresentava características fenotípicas faciais discretas, defeito cardíaco tipo TGA e dificuldade de aprendizado. O fenótipo da microduplicação pode ser muito diferente até mesmo dentro da mesma família com exatamente a mesma duplicação <sup>107</sup>. A razão para uma grande variação fenotípica é desconhecida, mas

tem sido especulado que podem estar envolvidos tanto fatores epigenéticos bem como a não penetrância <sup>110</sup>. Transmissão familiar é observada em torno de 70% das famílias examinadas e a duplicação é muitas vezes observada em pais essencialmente normais <sup>108</sup>.

#### **5.3.3.7 Duplicação 8p23.2 e duplicação 10p12.31**

A paciente do sexo feminino (Figura 14), proveniente de cidade do interior do estado, com seis anos e dez meses de idade, filha única de pais separados, sem história de consaguinidade ou cardiopatia na família, mãe saudável, 23 anos, com relato de ultrassonografia gestacional normal.

Nasceu de parto normal, com 40 semanas de idade gestacional, pesando 3150 g (percentil 25 para a idade), mãe desconhece outros dados do nascimento (altura, Apgar), com diagnóstico de Tetralogia de Fallot, insuficiência tricúspide leve e insuficiência pulmonar moderada foi submetida a cirurgia cardíaca com 4 anos de idade.

Atualmente com peso de 20,7 kg (entre os percentis 15 e 50 para a idade), altura de 117 cm (entre os percentis 15 e 50 para a idade) e perímetro cefálico de 51 cm. Ao exame físico foi evidenciado fronte ampla e dedos fusiformes, o desenvolvimento neuropsicomotor foi normal e não manifestava outras alterações clínicas.

O MLPA materno através do *kit* P250 evidenciou uma duplicação detectada pelas sondas *USP18* e *LZTR1*, considerado como polimorfismo. Mãe e filha apresentavam DNPM e cognitivo normais.



**Figura 14** – Paciente com duplicação 8p23.2 e duplicação 10p12.31

A duplicação 8p está associada com marcada variação de fenótipo de grave para não afetado, as alterações relatadas são: dismorfismo leve, retardo no desenvolvimento, distúrbio da linguagem e do aprendizado, epilepsia, autismo e defeito cardíaco <sup>109,111</sup>.

O fenótipo do paciente com duplicação de diferentes segmentos do braço curto do cromossomo 10 pode variar de acordo com a região duplicada, o padrão fenotípico consiste em grave retardo de crescimento e mental, anomalias craniofaciais incluindo dolicocefalia, fechamento tardio de fontanelas hipertelorismo e fissura palpebral oblíqua, ponte nasal larga, pé torto e palato arqueado, campodactilia, defeito cardíaco, anormalidades renais e letalidade precoce <sup>112</sup>. A paciente apresentava alterações fenotípicas faciais sutis, com crescimento e desenvolvimento neurológico normais.

## **6 CONSIDERAÇÕES FINAIS**

---

Estudos recentes têm mostrado que variação no número de cópias ocorrem em uma significativa proporção de pacientes com DCC. Em síndromes envolvendo DCC como parte do espectro clínico, a malformação cardíaca é frequentemente o primeiro sintoma a surgir<sup>31,16,30</sup>.

A primeira CNV extensivamente estudada foi a deleção do 22q11 na DGS/VCFS, que engloba o gene *TBX1*. Outros exemplos de CNVs associados com DCC sindrômicos incluem 7q11.23, englobando ELN (síndrome de Williams-Beuren), 20p12 (síndrome de Alagille) e 12q25 (síndrome de Holt-Oram). Uma grande porcentagem de CNVs raros são também associados com DCC isolado não sindrômico como deleção 8p23.1, engloba *GATA4*, e 1q21.1. O fenótipo cardíaco associado com esses CNVs são altamente variáveis, ressaltando a ausência de uma forte correlação genótipo-fenótipo observada em outras mutações de DCC<sup>113</sup>.

Este trabalho é o primeiro estudo realizado no estado de Mato Grosso que avalia a presença de variação no número de cópias em pacientes portadores de cardiopatia congênita não sindrômica, estudos genéticos no nosso estado ganham uma relevância maior tendo em vista a escassez de dados e a falta de estrutura laboratorial para a realização de exames que ultrapassam a complexidade da citogenética clássica.

Dos 39 pacientes avaliados neste estudo por meio de citogenética clássica, todos apresentaram cariótipo normal e concordante com o sexo. O cariótipo foi utilizado para afastar outras aberrações cromossômicas.

No presente estudo detectamos CNVs em 7/39 casos: deleção 22q11.2, duplicação 22q11.2, duplicação 15q11.2, duplicação 20p12.2, deleção 19p, duplicação 15q e duplicação 8p23.2 concomitante com duplicação 10p12.31.

Inicialmente sete pacientes pareciam ter apenas DCC, exame clínico e avaliação fenotípica mais cuidadosa evidenciaram alterações extracardíacas possíveis de fazerem parte de uma síndrome.

Nos sete casos que apresentaram CNVs, seis tiveram os pais investigados, sendo detectado polimorfismo em três pais (dup 15q11.2, dup

22q11.2 e dup 8p23.2 com dup 10p12.31), em um caso (dup 15q) o MLPA de ambos os pais foi inconclusivo, déficit intelectual foi observado na mãe do probando com dup 22q11.2, os demais pais, com e sem alterações no MLPA eram fenotipicamente normais.

A identificação de etiologia genética para o DCC é importante para proporcionar aconselhamento genético para pais que planejam ter outros filhos, o risco de recorrência para muitos DCC é de 2 a 6%, o risco de recorrência de DCC aumenta significativamente quando os pais são portadores de deleção/duplicação<sup>36</sup>, esta informação adquire relevância para realizar o aconselhamento genético destes pais ou do paciente que ao atingir a idade adulta decide começar uma família.

Nos últimos anos, dezenas de clinicamente relevante microdeleções e microduplicações cromossômicas têm sido descritos em seres humanos, frequentemente associada com deficiência mental, autismo e /ou malformações físicas. Uma vez que estes pequenos arranjos genômicos são geralmente abaixo do limite de detecção de microscopia óptica é essencial utilizar procedimentos de diagnóstico molecular para fornecer uma explicação para os sintomas e sinais observados e fornecer prognósticos clínicos e genéticos para os pacientes e seus familiares. Nos países desenvolvidos, testes moleculares, particularmente CGH array, tornaram-se o padrão ouro para tal diagnóstico laboratorial. No entanto, estes testes são muito dispendiosos e dependem da disponibilidade de equipamento caro e que tem de ser frequentemente atualizados. Como resultado destes altos custos, os pacientes dos países em desenvolvimento não têm acesso à testes e não são frequentemente diagnosticadas, com grande prejuízo para suas famílias<sup>114</sup>.

MLPA é uma técnica estabelecida para detecção de conhecidos CNVs O custo de MLPA é substancialmente menor que o CGH array e com relação ao FISH, é mais rápido, fácil e econômico, com um simples *kit* é capaz de realizar pesquisa simultânea de múltiplas anomalias. Com isso pode ser utilizado para detecção de CNVs clinicamente relevantes em pacientes com DCC aparentemente não sindrômico ocasionando identificação precoce de pacientes com desordens genômicas<sup>16,46,47</sup>.

Se o diagnóstico do DCC é realizado precocemente, isto é, intra útero, melhor preparação para o nascimento com o tratamento mais cedo melhoraria o prognóstico em termos de morbidade e mortalidade, contudo observamos que a maioria das mães dos pacientes neste estudo, mesmo tendo realizado pré natal e ultrassom gestacional, desconhecia o diagnóstico de cardiopatia fetal. Em um estado que apresenta uma escassez de leitos de Unidade de Terapia Intensiva Neonatal para o tratamento destes recém nascidos e não dispõe de cirurgias cardíacas de maior complexidade, estes pacientes provavelmente estão indo a óbito sem diagnóstico e tratamento. Isto pôde ser evidenciado em nossa amostra, onde todos os pacientes que estavam internados em UTI foram a óbito aguardando transferência para um centro especializado para cirurgia cardíaca, demonstrando a importância do diagnóstico precoce no impacto da alta morbimortalidade desses indivíduos.

Ainda há controvérsias na literatura sobre qual grupo de indivíduos deve ser implantada a investigação rotineira para CNVs. O que se pode observar de consenso é que uma avaliação física minuciosa à procura de sinais dismórficos, principalmente em crianças portadoras de defeito cardíaco conotruncal podem auxiliar na decisão de realizar testes moleculares, os benefícios proporcionados seriam aconselhamento genético adequado, avaliação e manejo dos problemas de forma mais eficaz, ocasionando uma melhora na qualidade de vida do indivíduo e da família.

## **7 CONCLUSÕES**

---

- A técnica de MLPA utilizando os *kits* P064, P036, P070 e P250 detectou CNVs em 7/39 pacientes (17,9%) com defeito cardíaco conotruncal.
- As CNVs encontradas foram: dois casos de deleção: del 22q11.2 e deleção 19p; cinco casos de duplicação: dup 22q11.2, dup 15q11.2, dup 20p12.2, dup 15q e dup 8p23.2 com dup 10p12.31.
- A síndrome de deleção 22q11.2 estava presente em apenas um paciente (2,5%).
- As características clínicas dos pacientes com CNVs foram compatíveis com o relatado na literatura associado com a microdeleção/microduplicação encontrada.
- Nenhuma das sete CNVs encontradas foram herdadas de seus pais.
- O diagnóstico precoce das CNVs em pacientes com DCC auxilia na prevenção de morbidade e diminuição da mortalidade nestes pacientes. Uma avaliação clínica minuciosa em todo paciente com DCC é imprescindível para detectar outras anomalias congênicas associadas.
- A técnica de MLPA é útil na investigação de microdeleções e microduplicações em cardiopatias congênicas conotruncais.

## **8 REFERÊNCIAS**

---

1. Hoffman JI, Kaplan S. The Incidence of Congenital Heart Disease. *J Am Coll Cardiol.* 2002;39:1890-1900.
2. Wang E, Sun S, Qiao B, Duan W, Huang G, An Y, Xu S, Zheng Y, Su Z, Gu X, Jin L, Wang H. Identification of functional mutations in GATA4 in patients with congenital heart disease. *PLoS One.* 2013 Apr 23;8(4):e62138.
3. Breckpot J, Thienpont B, Arens Y, Tranchevent LC, Vermeesch JR, Moreau Y, Gewillig M, Devriendt K. Challenges of interpreting copy number variation in syndromic and non-syndromic congenital heart defects. *Cytogenet Genome Res.* 2011;135:251-59.
4. Verheugt CL, Uiterwaal CS, Grobbee DE, Mulder BJ. Long-term prognosis of congenital heart defects: a systematic review. *Int J Cardiol.* 2008;131:25-32.
5. Zomer AC, Vaartjes I, van der Velde ET, De Jong HM, Konings TC, Wagenaar LJ, Heesen WF, Eerens F, Baur LH, Grobbee DE, Mulder BJ. Heart failure admissions in adult with congenital heart disease; risk factors and prognosis. *Int J Cardiol.* 2013;Apr 18.(Epub ahead of print)
6. Pierpont ME, Basson CT, Benson DW Jr, Devriendt K, Digilio MC, Goldenberg P, et al. Genetic basis for congenital heart defects: current knowledge: a scientific statement from the American Heart Association Congenital Cardiac Defects Committee, Council on Cardiovascular Disease in the Young: endorsed by the American Academy of Pediatrics. *Circulation.* 2007;115:3015-38.
7. Bittel DC, Butler MG, Kibiryeveva N, Marshall JA, Chen J, Lofland GA, O'Brien Jr JE. Gene expression in cardiac tissues from infants with idiopathic conotruncal defects. *BMC Med Genomics.* 2011;4:1-10.

8. Soemedi R, Wilson IJ, Bentham J, Darlay R, Töpf A, Zelenika D, et al. Contribution of global rare copy-number variants to the risk of sporadic congenital heart disease. *Am J Hum Gen.* 2012;91:489-501.
9. Ware SM, Jefferies JL. New genetic insights into congenital heart disease. *J Clin Exp Cardiol.* 2012;8:1-30.
10. Vaidyanathan B, Kumar S, Sudhakar A, Kumar RK. Conotruncal anomalies in the fetus: Referral patterns and pregnancy outcomes in a dedicated fetal cardiology unit in South India. *Ann Pediatr Cardiol.* 2013;6(1):15-20.
11. Gelb BD, Seidman CE. The good SHP2 association: A porthole into the genetics of congenital heart disease. *Circ Cardiovasc Genet.* 2012;5(3):271-3.
12. Castellani CA, Melka MG, Wishart AE, Locke ME, Awamleh Z, O Reilly L, Singh SM. Biological relevance of CNV calling methods using familial relatedness including monozygotic twins. *BMC Bioinformatics.* 2014;15(1):114.[Epub ahead of print]
13. Li X, Chen S, Xie W, Vogel I, Choy KW, Chen F, Christensen R, Zhang C, Ge H, Jiang H, Yu C, Huang F, Wang W, Jiang H, Zhang X. PSCC: Sensitive and reliable population-scale copy number variation detection method based on low coverage sequencing. *PLOS one.* 2014;9(1):1-9.e85096.
14. Xu Y, Peng B, Fu Y, Amos CI. Genome-wide algorithm for detecting CNV associations with disease. *BMC Bioinformatics.* 2011;12:331.
15. Valsesia A, Macé A, Jacquemont S, Beckmann J, Kutalik Z. The growing importance of CNVs: new insights for detection and clinical interpretation. *Front Genet.* 2013;4(92):1-19.
16. Sorensen KM, El-Segaler M, Fernlund E, Errami a, Bouvagnet P, Nehme N, Staeensberg J, Hjortdal V, Soller M, Behjati M, Werge T, Kirchoff M, Schouten J, Tommerup N, Andersen PS, Larsen LA. Screening of congenital

- heart disease patients using multiplex ligation-dependent probe amplification: early diagnosis of syndromic patients. *Am J Med Genet.* 2012;720-5.
17. Gong X, Wu X, Ma X, Zhang T, He L, Shengyng Q, Xiaotian L. Microdeletion and microduplication analysis of Chinese conotruncal defects patients with targeted array comparative genomic hybridization. *PLoS ONE.* 2013;8(10):e76314.
  18. Swillen A, Vogels A, Devriendt K, Fryns JP. Chromosome 22q11 deletion syndrome: update and review of the clinical features, cognitive-behavioral spectrum, and psychiatric complications. *Am J Med Genet.* 2000;97(2):128-35.
  19. Yamagishi H, Maeda J, Uchida K, Tsuchihashi T, Nakazawa M, Aramaki M, Kodo K, Yamagishi C. Molecular embryology for an understanding of congenital heart diseases. *Anat Sci Int.* 2009;84:88-94.
  20. Moore KL, Persaud TVN. *The developing human: clinically oriented embryology.* 7th ed. Philadelphia: WB Saunders; 2003.
  21. Weismann CG, Gelb BD. The genetics of congenital heart disease: a review of recent developments. *Curr Opin Cardiol.* 2007;22:200-86.
  22. Southard AE, Edelmann LJ, Gelb BD. Role of copy number variants in structural birth defects. *Pediatrics.* 2012;129(4):755-63.
  23. Kodo K, Yamagishi H. A decade of advances in the molecular embryology and genetics underlying congenital heart defects. *Circ J.* 2011;75:2296-304.
  24. Moore KL, Persaud TVN. *Before we are born: Essentials of Embryology and Birth Defects.* 8th ed. Philadelphia: Saunders Company; 2011.
  25. Marino B, Digilio MC. Congenital Heart disease and genetic syndromes: specific correlation between cardiac phenotype and genotype. *Cardiovasc Pathol.* 2000;9: 303-15.

26. Jing-Bin H, Ying-Long L, Xiao-Dong L. Pathogenic mechanisms of congenital heart disease. *Fetal Pediatr Pathol.* 2010;29:359-72.
27. Lammer EJ, Chak JS, Iovannisci DM, Schultz K, Osoegawa K, Yang W, Carmichael SL, Shaw GM. Chromosomal abnormalities among children born with conotruncal cardiac defects. *Birth Defects Res A Clin Mol Teratol.* 2009;85(1):30-35.
28. Srivastava DK. Genetic assembly of the heart: implications for congenital heart disease. *Annu Rev Physiol.* 2001;63:451-69.
29. Mishra PK. Management strategies for interrupted aortic arch with associated anomalies. *Eur J Cardiothorac Surg.* 2009;35(4):569-76.
30. Warburton D, Ronemus M, Kline J, Jobanputra V, Williams I, Anyane-Yeboah K, et al. The contribution of de novo and rare inherited copy number changes to congenital heart disease in an unselected sample of children with conotruncal defects or hypoplastic left heart disease. *Human Genet.* 2014;133(1):11-27
31. Richards AA, Garg V. Genetics of congenital heart disease. *Curr Cardiol Rev.* 2010;6:91-7.
32. Silversides CK, Lionel AC, Constan G, Merico D, Migita O, Liu B, Yuen T, Rickaby J, Thiruvahindrapuram B, Marshall CR, Scherer SW, Basset AS. Rare copy number variations in adults with tetralogy of Fallot implicate novel risk gene pathways. *PLoS Genet.* 2012;8(8):e1002843.
33. Golzio C, Katsanis N. Genetic architecture of reciprocal CNVs. *Curr Opin Genetics Dev.* 2013;23:1-9.
34. Nishiyama T, Takahashi K, Tango T, et al. A scan statistic to extract causal gene cluster from case-control genome-wide rare CNV data. *BMC Bioinformatics.* 2011; 12:205.
35. Thienpont B, Mertens I, de Ravel T, Eyskens B, Boshoff D, Maas N, Fryns JP, Gewllic M, Vermeesch JR, Devriendt K. Submicroscopic chromosomal

- imbalances detected by array-CGH are a frequent cases of congenital heart defects in selected patients. *Eur Heart J*. 2007;28(22):2777-84.
36. Richards AA, Santos IJ, Nichols HA, Crider BP, Elder FF, Hauser NS, et al. Cryptic chromosomal abnormalities identified in children with congenital heart disease. *Pediatr Res*. 2008;64(4):358-63.
  37. Erdogan F, Larsen LA, Zhang L, Tumer Z, Tommerup N, Chen W, Jacobsen JR, Schubert M, Jurkatis J, Tzschach A, Ropers HH, Ullman R. High frequency of submicroscopic genomic aberrations detected by tiling path array comparative genome hybridization in patients with isolated congenital heart disease. *J Med Genet*. 2008;45(11):704-9.
  38. Greenway SC, Pereira AC, Lin JC, DePalma SR, Israel SJ, Mesquita SM, Erqui E, Conta JH, Korn JM, McCarroll AS, Gorham JM, Gabriel S, Altshuler DM, Quintanilla-Dieck M de Let, Artunduaga MA, Eavey RD, Plenge RM, Shadick NA, Weinblatt ME, De Jager PL, Hafler DA, Breitbart RE, Seidman JG, Seidman CE. De novo copy number variants identify new genes and loci in isolated, sporadic tetralogy of Fallot. *Nat Genet*. 2009;41(8):931-5.
  39. Breckpot J, Thienpont B, Peeters H, de Ravel T, Singer A, Rayyan M, et al. Array comparative genomic hybridization as a diagnostic tool for syndromic heart defects. *J Pediatr*. 2010;156:810-7.
  40. Fakhro KA, Choi M, Ware SM, Belmont JW, Towbin JA, Lifton RP, Khokha MK, Brueckner M. Rare copy number variations in congenital heart disease patients identify unique genes in left-right patterning. *PNAS*. 2011;108(7):2015-20.
  41. Cooper GM, Coe BP, Girirajan S, Rosenfeld JA, Vu TH, Baker C, et al. A copy number variation morbidity map of development delay. *Nat Genet*. 2011;43:838-46.
  42. Krepischi-Santos AC, Vianna-Morgante AM, Jehee FS, Passos-Bueno MR, Knijnemburg J, Szuhai K, et al. Whole-genome array-CGH screening in

- undiagnosed syndromic patients: old syndromes revisited and new alterations. *Cytogenet Genome Res.* 2006;115:254-61.
43. Rauch R, Hofbeck M, Zweier C, Koch A, Zink S, Trautmann U, et al. Comprehensive genotype-phenotype analysis in 230 patients with tetralogy of Fallot. *J Med Genet.* 2010;47:321-33.
  44. Derwinska K, Bartnik M, Wisniewiecha-kowalnik B, Jagl M, Rudzinski A, Pietrzyk JJ, et al. Assessment of the role of copy number variants in 150 patients with congenital heart defects. *Med Wieku Rozwoj.* 2012;3:175-82.
  45. Goldmuntz E, Emanuel BS. Genetic disorders of cardiac morphogenesis: The DiGeorge and velocardiofacial syndromes. *Circ Res.* 1997;437-43.
  46. Fernández L, Lapunzina P, Arjona D, López Pajares I, Garcia-Guereta L, Elorza D, Burgueros M, De Torres ML, Mori MA, Palomares M, Garcia-Alix A, Delicado A. Comparative study of three diagnostic approaches (FISH, STRs and MLPA) in 30 patients with 22q11.2 deletion syndrome. *Clin Genet.* 2005;68(4):373-78.
  47. Dutra RL, Honjo RS, Kulikowski LD, Fonseca FM, Pieri PC, Jehee FS, Bertola DR, Kim CA. Copy number variation in Williams-Beuren syndrome: suitable diagnostic strategy for developing countries. *BMC Res Notes.* 2012;5:13.
  48. Schouten JP, McElgun CJ, Waaijer R, Zwijnenburg D, Diepvens F, Pals G. Relative quantification of 40 nucleic acid sequences by multiplex ligation-dependent probe amplification. *Nucleic Ac Res.* 2002;30(12):e57.
  49. McDonald-McGinn DM, Emanuel BS, Zackai EH. 22q11.2 deletion syndrome. *Gene Reviews.* Last update: 16 December 2005. Disponível em: <http://www.geneclinics.org>.
  50. Vorstman JAS, Jalali GR, Rappaport EE, Hacker AM, Scott C, Emanuel BS. MLPA: A rapid, reliable, and sensitive method for detection and analysis of abnormalities of 22q. *Hum Mutat.* 2006;27(8):814-21.

51. Shprintzen RJ. Velo-cardio-facial syndrome: 30 years of study. *Dev Disabil Res Rev.* 2008;14:3-10
52. Hay BN. Deletion 22q11: spectrum of associated disorders. *Semin Pediatr Neurol.* 2007;14:136-9.
53. Emanuel BS. Molecular mechanisms and diagnosis of chromosome 22q11.2 rearrangements. *Dev Disabil Res Rev.* 2008;14(1):11-18.
54. Torres L, Rosell J, Bernués M. Molecular characterization of deletions and mutations of the 22q11 region in patients with congenital heart diseases. *Invest Cardio.* 2004;7:81-92.
55. Lindsay EA. Chromosomal microdeletions: dissecting del22q11 syndrome. *Nature Rev.* 2001;2:858-68.
56. Breckpot J, Thienpont B, Bauters M, Tranchevent L, Gewilling M, Allergaert K, et al. Congenital heart defects in a novel recurrent 22q11.2 deletion harboring the genes CRKL and MAPK1. *Am J Med Genet Part A.* 2012;158a:574-80.
57. Thomas A, Graham J.M. Chromosome 22q11 Deletion Syndrome: An Update and Review for the Primary Pediatrician. Philadelphia. *Clin Pediatr.* 1997;253-66.
58. Wozniak A, Wolnik-Brzozowska D, Wisniewska M, Glazar R, Materna-Kiryluk A, Moszura T, Badura-Stronka M, Skolozdrzy J, Krawczynski MR, Zeyland J, Bobkowski W, Slomski R, Latos-Bielenska A, Siwinska A. Frequency of 22q11 microdeletion in children with congenital heart defects in western poland. *BMC Pediatr.* 2010;10:88.
59. Basset AS, McDonnald-McGinn DM, Devriendt K, Digilio MC, Goldenberg P, Habel A, et al. Practical guidelines for managing patients with 22q11.2 deletion syndrome. *J Pediatr.* 2011;159(2):332-9.
60. Rosa RF, Zen PR, Graziadio C, Paskulin GA. Síndrome de deleção 22q11.2 e cardiopatias congênitas. *Rev Paul Pediatr.* 2011;29(2):251-60.

61. Bales AM, Zaleski CA, McPherson EW. Newborn screening programs: should 22q11 deletion syndrome be added? *Genet Med.* 2010;3(12):135-44.
62. Marino B, Digilio MC, Toscano A et al. Anatomic patterns of conotruncal defects associated with deletion 22q11. *Genet Med.* 2001;3:45-8.
63. Goldmuntz E, Clark B, Mitchel LA, Jawad AF, Cuneo BF, Reed L, et al. Frequency of 22q11 deletion in patients with conotruncal defects. *J Am Coll Cardiol.* 1998; 32(2):492-8.
64. Momma K. Cardiovascular anomalies associated with chromosome 22q11.2 deletion. *Int J Cardiol.* 2007;114(11):147-9.
65. Goldmuntz E, Driscoll D, Budarf ML, Zackai EH, McDonald-McGinn DM, Biegel JA, Emanuel BS. Microdeletion of chromosomal region 22q11 in patients with congenital conotruncal cardiac defects. *J Med Genet.* 1993;30:807-12.
66. Iserin L, Lonlay P, Viot G, Sidi D, Kcahaner J, Munnich A, Lyonnet S, Vekemans M, Bonnet D. Prevalence of the microdeletion 22q11 in newborn infants with congenital conotruncal cardiac anomalies. *Eur J Pediatr.* 1998;157(11):881-4.
67. Worthington S, Bower C, Harrop K, Loh J, Walpole I. 22q11 deletion in patients with conotruncal heart defects. *J Pediatr Child Health.* 1998; 34: 438-43.
68. Voigt R, Maier-Weidmann M, Lange PE, Haaf T. Chromosome 10p,13-14 and 22q11 deletion screening in 100 patients with isolated and syndromic conotruncal heart defects. *J Med Genet.* 2002;39:e16
69. Mahle WT, Crisalli J, Coleman K, Campbell RM, Tam VKH, Vincent RN, Kanter KR. Deletion of chromosome 22q11.2 and outcome in patients with pulmonary atresia and ventricular septal defect. *Ann Thorac Surg.* 2003;76:567-71.

70. Giray O, Ülgenalp A, Bora E, Saylam GS, Ünal N, Mese T, Hüdaoglu, Erçal D. Congenital cardiac defects with 22q11 deletion. *Turk J Pediatr.* 2003;45:217-20.
71. Anaclerio S, Di CV, Michielon G, Digilio MC, Formigari R, Picchio FM, Gargiulo G, Di DR, De Ioris MA, Marino B. Conotruncal heart defects: Impact of genetic syndromes on immediate operative mortality. *Ital Heart J.* 2004;5:624-28.
72. Rauch A, Hofbeck M, Cesnjevar R, Koch A, Rauch R, Buheitel G, Singer H, Weyand M. Search for somatic 22q11.2 deletions in patients with conotruncal heart defects. *Am J Med Gen.* 2004;124A:165-69.
73. Khositserh A, Tocharontanaphol C, Khowsathit P, Ruangdaraganon N. Chromosome 22q11 deletion in patients with conotruncal heart defects. *Pediatr Cardiol.* 2005; 26:570-73.
74. Beauchésne LM, Warnes CA, Cannolly HM, Ammash NM, Grogan M, Jalal SM, Michels VV. Prevalence and clinical manifestations of 22q11.2 microdeletion in adults with selected conotruncal anomalies. *J Am Coll Cardiol.* 2005;45(4):595-8.
75. Jianrong L, Yinglong L, Xiaodong L, Cuntao Y, Bin C, Bo W. 22q11.2 deletion mosaicism in patients with conotruncal heart defects. *Birth Defects Res.* 2006; 76(A):262-65.
76. Gargouri B, Abdelmoula N, Sahnoun IT, Gargouri B, Rebai T, Amouri A. Screening for cytogenetic and molecular chromosome rearrangements in tunisian children with conotruncal heart defects. *Science.* 2009;357-61.
77. Ziolkowska L, Kawalec W, Turska-kmiec A, Krajewska-Walasek M, Brzezinska-Rajszys G, Daszkowska J, Maruszewski B, Burczynski P. Chromosome 22q11.2 microdeletion in children with conotruncal heart defects: frequency, associated cardiovascular anomalies, and outcome following cardiac surgery. *Eur J Pediatr.* 2008;167:1135-40.

78. Anilkumar A, Kappanayil M, Thampi MV, Nampoothiri S, Sundaram KR, Vasudevan DM. Variation in prevalence of chromosome 22q11 deletion in subtypes of conotruncal defect in 254 children. *Acta Paediatr.* 2011;100:e97-e100.
79. Agergaard P, Olesen C, Ostergaard JR, Christiansen M, Sorensen KM. The prevalence of chromosome 22q11.2 deletions in 2,478 children with cardiovascular malformations. A population-based study. *Am J Med Genet A.* 2012a;158A:498-508.
80. Eliez S, Schmitt JE, White CD, Reis AL. Children and adolescents with velocardiofacial syndrome: a volumetric MRI study. *Am J Psychiatry.* 2000;157(3): 409-15.
81. Antshel KM, Kates WR, Roizen N, Fremont W, Shprintzen RJ. 22q11.2 deletion syndrome genetics, neuroanatomy and cognitive/behavioral features keywords. *Child Neuropsychol.* 2005;11:5-19.
82. Weinzierl SA. Endocrine aspects of the 22q11.2 deletion syndrome. *Genet Med.* 2001;3(1):19-22.
83. McLean-Tooke A, Spickett GP, Geneery AR. Immunodeficiency and autoimmunity in 22q11.2 deletion syndrome. *Scand J Immunol.* 2007;66:1-7.
84. Robin NH, Shprintzen RJ. Defining the clinical spectrum of deletion 22q11.2. *J Paediatr.* 2005;147:90-6.
85. Wolf M, Basson CT. The molecular genetics of congenital heart disease: a review of recent developments. *Curr Opin Cardiol.* 2010;25:192-7.
86. 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 Genet.* 2008;146A:1651-61.
87. Gioli-Pereira L, Pereira AC, Bergara D, Mesquita S, Lopes AA, Krieger JE. Frequency of 22q11.2 microdeletion in sporadic non-syndromic tetralogy of Fallot cases. *Int J Cardiol.* 2008;126:374-8

88. Belangero SIN, Bellucco FTS, Kulikowski LD, Christofolini DM, Cernach MCSP, Melaragno MI. 22q11.2 deletion in patients with conotruncal heart defect and del22q syndrome phenotype. *Arch Bras Cardiol.* 2009;92(4):289-93.
89. Monteiro FP, Vieira TP, Sgardioli IC, Molck MC, Daminiano AP, Souza J, Monlléo IL, Fontes MIB, Fett-Conte AC, Félix TM, Leal GF, Ribeiro EM, Banzato CEM, Dantas CR, Cendes IL, Gil da Silva Lopes VL. Defining new guidelines for screening the 22q11.2 deletion based on a clinical and dysmorphic evaluation of 194 individuals and review of the literature. *Eur J Pediatr.* 2013.(Epub ahead of print)
90. Antonacci F, Kidd JM, Marques-Bonet T, Teague B, Ventura M, Girijan S, Alkan C, Campbell CD, Vives L, Malig M, Rosenfeld JÁ, Ballif BC, Schaffer LG, Graves TA, Wilson RK, Schwartz DC, Eichler EE. A large and complex structural polymorphism at 16p12.1 underlies microdeletion disease risk. *Nat Genet.* 2010; 42:745-50.
91. Zwaag B, Staal WG, Hochstenbach R, Poot M, Spierenburg HA, Jonge MV, Verbeek NE, Slot RV, Es MA, Staal FJ, Freitag CM, Buizer-Voskamp JE, Nelen MR, Berg LH, Amstel HKP, Engeland H, Burbach JPH. A co-segregating microduplication of chromosome 15q11.2 pinpoints two risk genes for autism spectrum disorder. *Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet.* 2010;153B(4):960-6.
92. Burnside RD, Pasion R, Mikhail FM, Carroll AJ, Robin NH, Youngs EL, Gadi IK, Keitges E, Jaswaney VL, Papenhausen PR, Potluri VR, Rishog H, Rush B, Smith JL, Schwartz S, Tepperberg JH, Butler MG. Microdeletion/microduplication of proximal 15q11.2 between BP1 and BP2: a susceptibility region for neurological dysfunction including developmental and language delay. *Human Genet.* 2011; 130:517-28.
93. Sidwell RU, Pinson MP, Gibbons B, Byatt SA, Svennevik EC, Hastings RJ, Flynn DM. Pure trisomy 20p resulting from isochromosome formation and whole arm translocation. *J Med Genet.* 2000;37:454-8.

94. Thomas MA, Duncan AM, Bardin C, Kaloustian VM. Lissencephaly with der(17)t(17;20)(p13.3;p12.2)mat. *Am J Med Genet A*. 2004;124A:292-5.
95. Chaabouni M, Turleau C, Karboul L, Jemaa LB, Maazoul F, Attié-Bitach T, Romana S, Chaabouni H. De novo trisomy 20p of paternal origin. *Am J Med Genet A*. 2007;143A:1100-3.
96. Freitas EL, Gribble SM, Simione M, Vieira TP, Silva-Grecco RL, Balarin MAS, Prigmore E, Krepischi-Santos AC, Rosemberg C, Szuhai K, Haeringen AV, Carter NP, Gil-da-Silva-Lopes VL. Maternally inherited partial monosomy 9p (pter-p24.1) and partial trisomy 20p (pter – p12.1) characterized by microarray comparative genomic hybridization. *Am J Med Genet A*. 2011;155A(11):2754-61.
97. Kang J-E, Park MY, Cheon CK, Lee HDL, Hwang S-H, Yi J. A case of partial trisomy 20p resulting from meiotic recombination of a maternal pericentric inversion. *Ann Lab Med*. 2012; 32: 91-4.
98. Marangi G, Orteschi D, Vigeano F, Felie J, Walsh CA, Manzini MC, Neri G. Expanding the spectrum of rearrangements involving chromosome 19: a mild phenotype associated with a 19p13.12-p13.13 deletion. *Am J Med Genet A*. 2012; 158A:888-93.
99. Peddibhotla S, Khalifa M, Probst FJ, Stein J, Harris JI, Kearney DL, Vance GH, Bull MJ, Grange DK, Scharer GH, Kamng SHL, Stankiewicz P, Bacino CA, Cheung SW, Patel A. Expanding the genotype-phenotype correlation in subtelomeric 19p13.3 microdeletion using high resolution clinical chromosomal microarray analysis. *Am J Med Genet A*. 2013;161A:2953-63.
100. Jensen DR, Martin DM, Gobarski S, Sahoo T, Brundage E, Chinault CA, Otto E, Chaki M, Hildebrandt F, Cheung SW, Lesperance MM. A novel chromosome 19p13.12 deletion in a child with multiple congenital anomalies. *Am J Med Genet A*. 2009;149(A):396-402.
101. Bonaglia MC, Marelli S, Novara F, Comodaro S, Borgatti R, Minardo G, Memo I, Mangold E, Beri S, Zucca C, Brambilla D, Molteni M, Giorda R,

- Weber RG, Zuffardi O. Genotype-phenotype relationship in three cases with overlapping 19p13.12 microdeletion. *Eur J Human Mol Genet.* 2010; 20:1302-9.
102. Risheg H, Pasion R, Secharow S, Proud V, Immken LD, Schwartz S, Tepperberg JH, Papenhausen P, Tan TY, Andrieux J, Plessis G, Amor DJ, Keitges EA. Clinical comparison of overlapping deletions of 19p13.3. *Am J Med Genet Part A.* 2013; 161A:1110-6.
103. Urraca N, Cleary J, Brewer V, Pivnick EK, McVicar K, Thilbert RL, Schanen NC, Esmer C, Lampion D, Reiter LT. The interstitial duplication 15q11.2-q13 syndrome includes autism, mild facial anomalies and characteristic EEG signature. *Autism Res.* 2013;6:268-79.
104. Cuturilo G, Drakulic D, Stevanovic M, Jovanovic I, Djukic M, Miletic-Grkovic S, et al. A rare case of interrupted aortic arch type C and microdeletion 22q11.2. *Eur J Pediatr.* 2008;167:1195-8.
105. Brunet A, Gabau E, Perich RM, Valdesoiro L, Brun C, Caballin MR, Guitart M. Microdeletion and microduplication 22q11.2 screening in 295 patients with clinical features of DiGeorge/Velocardiofacial syndrome. *Am J Med Genet A.* 2006;140A: 2426-32.
106. Agergaard P, Olesen C, Ostergaard JR, Christiansen M, Sorensen KM. Chromosome 22q11.2 duplication is rare in a population-based cohort of danish children with cardiovascular malformations. *Am J Med Genet A.* 2012b;158A:509-13.
107. Li D, Tekin M, Buch M, Fran Y. Co-existence of other copy number variations with 22q11.2 deletion or duplication: a modifier for variable phenotypes of the syndrome? *Molecular Cytogenetics.* 2012;5:18.
108. Bi W, Probst FJ, Wiszniewska J, Plunkett K, Roney EK, Carter BS, Williams MD, Stankiewicz P, Patel A, Stevens CA, Lupski JR, Cheung SW. Co-occurrence of recurrent duplications of the DiGeorge syndrome region on both

- chromosome 22 homologues due to inherited and de novo events. *J Med Genet.* 2012;49:681-8.
109. Glancy M, Barnicoat A, Vijeratnan R, Souza S, Gilmore J, Huang S, Maloney VK, Thomas NS, Bunyan DJ, Jackson A, Barber J CK. Transmitted duplication of 8p23.1-8p23.2 associated with speech delay, autism and learning difficulties. *Eur J Human Genet.* 2009;17:37-43.
110. Yobb TM, Somerville MJ, Williatt L, Firth HV, Harrison K. Mackenzie J, Gallo N, Morrow DE, ShaFfer LG, Babcock N, Chemos J, Bernier F, Sprysak K, Christiansen J, Haase S, Elvas B, Lilley M, Barnfort S, McDermid HE. Microduplication and triplication of 22q11.2: a highly variable syndrome. *Am J Hum Genet.* 2005;76:865-76.
111. Barber JC, Bunyan D, Curtis M, Robinson D, Susanne M, Dermitzel A, Liehr T, Alves C, Trindade J, Paramos AI, Cooper C, Ocraft K, T EJ. 8p23.1 duplication syndrome differentiated from copy number variation of the defensin cluster at prenatal diagnosis in four new families. *Molecular Cytogenetics.* 2010;3:3.
112. Mégarbané A, Gosset P, Souraty N, Lapierre JM, Korban R, Zahed L, Samaras L, Vekemans M, Prieur M. Chromosome 10p11.2-p12.2 duplication: report of a patient and review of the literature. *Am J Med Genet.* 2001;104(3):204-8.
113. Yuan S, Zaid S, Brueckner M. Congenital heart disease: emerging themes linking genetics and development. *Curr Opin Genet Dev.* 2013;23:352-59.
114. Stofanko M, Gonçalves-Dornelas H, Cunha PS, Pena PS, Vianna-Morgante AM, Pena SDJ. Simple, rapid and inexpensive quantitative fluorescent PCR method for detection of microdeletion and microduplication syndromes. *PLoS one.* 2013; 8(4):1-8.

***ANEXOS***

---

## **ANEXO A - Termo de Consentimento livre e esclarecido**

<b>TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO</b>
---

**Título da Pesquisa: Avaliação clínica e citogenética-molecular em crianças com diagnóstico de malformação cardíaca conotruncal.**

**Pesquisadora: Carla Marques Rondon Campos**

O Objetivo desta pesquisa é estudar indivíduos que apresentam defeitos cardíacos congênitos, portadores de malformação cardíaca conotruncal. O material coletado incluirá uma amostra de sangue do seu filho (12 mL) e sempre que possível uma amostra de sangue de cada um dos pais. Este procedimento consiste em colocar uma agulha em cada veia do braço para a retirada de sangue, podendo causar um pequeno desconforto no momento da punção.

Este estudo deverá trazer benefícios para seu filho tais como: diagnóstico preciso, aconselhamento genético à família e até um melhor atendimento a ele, pois ajudará a esclarecer os mecanismos que levam estas crianças a apresentarem problemas.

Você tem a liberdade de recusar participar deste estudo ou retirar seu consentimento a qualquer momento e deixar de participar do estudo, sem nenhum prejuízo no seu atendimento médico nesta instituição.

A sua identidade e do seu filho serão mantidos em sigilo, os dados referentes à sua pessoa serão confidenciais e garantimos o sigilo de sua participação durante toda pesquisa, inclusive na divulgação da mesma. Os dados serão guardados em forma numérica sem identificação por nome. Caso você permita seu filho será fotografado para avaliarmos alguma alteração do exame físico, sendo que estas fotos poderão ser incluídas no trabalho e nas publicações de forma que não será possível reconhecer a pessoa pela fotografia (uso de faixa preta nos olhos).

Em qualquer etapa do estudo, você terá acesso aos profissionais responsáveis pela pesquisa para esclarecimento de eventuais dúvidas.

A pesquisadora responsável por este trabalho é Carla Marques Rondon Campos, professora da Universidade Federal de Mato Grosso, que pode ser encontrada no Hospital Universitário Julio Muller, Departamento de Pediatria, rua Luís Philippe

Pereira Leite, s/n - Alvorada - **Cuiabá**-MT - CEP: 78048-902, telefones: 65- 3615-7320, celular 65- 99820033 e e-mail [carlamcampos@uol.com.br](mailto:carlamcampos@uol.com.br)

Em caso de dúvida você pode procurar o Comitê de Ética e Pesquisa do Hospital Universitário Júlio Muller, na Universidade Federal de Mato Grosso, CCBS I, localizado na Avenida Fernando Corrêa da Costa, nº 2367, Bairro Boa Esperança – Cuiabá—MT, telefone(65)3615-8254 ou e-mail [cephujm@cpd.ufmt.br](mailto:cephujm@cpd.ufmt.br)

Considerando os dados acima, **CONFIRMO** que fui informado(a) esclarecido(a) por escrito e verbalmente dos objetivos deste estudo e eu concordo em participar da pesquisa.

---

Assinatura do paciente/ representante legal

RG Nº \_\_\_\_\_ DATA \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_\_

Declaro que obtive de forma apropriada e voluntária o Consentimento Livre e Esclarecido deste paciente ou representante legal para a participação neste estudo.

---

Assinatura do responsável pelo estudo

DATA \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_\_

**ANEXO B – Folha de aprovação da pesquisa pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo – CEP-FMUSP**



**CIÊNCIA**

O Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, em **29.07.11** tomou ciência do Projeto nº **323/11** intitulado **“Avaliação clínica e citogenética molecular em crianças com diagnóstico de malformação cardíaca conotruncal.”**, vinculado à pós-graduação do Departamento de Pediatria, que não envolverá atividade prática e/ou experimental no âmbito da Faculdade de Medicina ou Instituto do Câncer do Estado de São Paulo e que conta com prévia aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa do Hospital Universitário Júlio Müller, onde o projeto será executado.

Pesquisador(a) Responsável: Chong Ae Kim

Pesquisador(a) Executante : Carla Marques Rondon Campos

CEP-FMUSP, 29 de julho de 2011.

Prof. Dr. Roger Chammas  
Coordenador  
Comitê de Ética em Pesquisa

**ANEXO C - Folha de aprovação da pesquisa pelo Comitê de Ética do Hospital  
Universitário Júlio Müller/UFMT**

Ministério da Educação  
FUNDAÇÃO UNIVERSIDADE FEDERAL DE MATO GROSSO  
HOSPITAL UNIVERSITÁRIO JÚLIO MÜLLER

**Comitê de Ética em Pesquisa do Hospital Universitário Júlio Müller**  
Registrado na Comissão Nacional de Ética em Pesquisa em 25/08/97

**TERMO DE APROVAÇÃO ÉTICA  
DE PROJETO DE PÊSQUISA**

REFERÊNCIA: Projeto de protocolo Nº 957/CEP- HUJM/2010

- "COM PENDÊNCIAS"
- APROVADO "ad referendum"
- APROVAÇÃO FINAL
- NÃO APROVADO

O projeto de pesquisa intitulado: "Avaliação clínica e citogenética-molecular em crianças com diagnóstico de malformação cardíaca conotruncal," encaminhada pelo (a) pesquisador (a) **Carla Marques Rondon Campos** foi analisado pelo Comitê de Ética em Pesquisa do HUJM, em reunião realizada dia 13/10/2010 que concluiu pela aprovação final, tendo em vista que atende a Resolução CNS 196/96 do Ministério da Saúde para pesquisa envolvendo seres humanos.

Cuiabá, 13 de Outubro de 2010.

  
**Profa. Dra. Shirley Ferreira Pereira**  
Coordenadora do Comitê de Ética em Pesquisa do HUJM

Hospital Universitário Júlio Müller  
Avenida Fernando Corrêa da Costa, Nº 2367 Bairro Boa Esperança - Cuiabá - MT, Brasil  
CCBS I - 1º Piso - Universidade Federal de Mato Grosso  
Fone: 65-3615-8254. e-mail: [cephujm@cpd.ufmt.br](mailto:cephujm@cpd.ufmt.br)  
[http://www.ufmt.br/cep\\_hujm](http://www.ufmt.br/cep_hujm)

## Anexo D - Ficha Clínica

Data: \_\_\_\_\_ Data da Coleta: \_\_\_\_\_ n° \_\_\_\_\_

### Identificação:

Nome :

Endereço:

Telefone:

Sexo: F ( ) M ( ) Raça : B ( ) N ( ) A ( ) I ( )

Instituição de origem: Raça Presumida:

Data de Nascimento: Idade :

Nome da Mãe:

Idade:

Nome do Pai:

Idade:

### Antecedentes fisiológicos:

Idade Gestacional: Tipo de Parto: Apgar:

Ao nascimento: Peso : Altura: PC:

Atual: Peso : Altura: PC:

Sim Não

Consaguinidade ( ) ( )

Parentes afetados: ( ) ( )

se sim, quais:

### Características clínicas:

#### Alterações craniofaciais

Fenda palatina oculta ou não ( ) ( )

Funcionalidade do palato ( ) ( )

Obstrução das vias aéreas na infância ( ) ( )

Face assimétrica ao choro na infância ( ) ( )

Face estruturalmente assimétrica ( ) ( )

Face funcionalmente assimétrica ( ) ( )

Face alongada ( ) ( )

Face achatada ( ) ( )

Perda de dentes congênita ( um ou vários) ( ) ( )

Dentes pequenos ( ) ( )

Hipoplasia da dentição primária ( ) ( )

Fácies hipotônica ( ) ( )

Comissuras orais desviadas para baixo ( ) ( )

Fissura labial ( ) ( )

Microcefalia ( ) ( )

Fossa craniana posterior pequena ( ) ( )

Outras, Quais:

#### Alterações nos olhos

Vasos da retina tortuosos ( ) ( )

Congestão sub-orbital ( ) ( )

Estrabismo	( )	( )
Fenda palpebral estreita	( )	( )
Catarata	( )	( )
Olhos pequenos	( )	( )
Outros, Quais:		

#### **Alterações nos ouvidos**

Hélice super espessada	( )	( )
Lóbulos achatados	( )	( )
Orelhas protuberantes	( )	( )
Orelhas pequenas	( )	( )
Orelhas assimétricas	( )	( )
Otite Média freqüente	( )	( )
Perda auditiva condutiva leve	( )	( )
Perda auditiva neuro sensorial leve	( )	( )
Canal do ouvido estreito	( )	( )
Outros, Quais:		

#### **Alterações nasais**

Ponte nasal proeminente	( )	( )
Ponte nasal bulbosa	( )	( )
Passagem nasal estreita	( )	( )
Outros, Quais:		

#### **Alterações cardíacas e vasculares**

Defeito do septo ventricular	( )	( )
Defeito do septo atrial	( )	( )
Atresia ou estenose pulmonar	( )	( )
Tetralogia de Fallot	( )	( )
Aorta localizada à direita	( )	( )
Truncus arteriosus	( )	( )
Persistência do canal arterial	( )	( )
Arco aortico interrompido tipo B	( )	( )
Coartação da aorta	( )	( )
Anomalias da válvula aórtica	( )	( )
Artérias subclávia aberrantes	( )	( )
Anel vascular	( )	( )
Artéria carótida com origem anômala	( )	( )
Transposição de grandes vasos	( )	( )
Atresia de tricúspide	( )	( )
Outras, Quais:		

#### **Anomalias vasculares**

Artéria carótida interna localizada internamente	( )	( )
Carótida interna tortuosa	( )	( )
Anomalias da veia jugular	( )	( )
Ausência da artéria carótida interna	( )	( )
Ausência da artéria vertebral	( )	( )
Fenômeno de Reynaud	( )	( )

Outras, Quais:

**Alterações neurológicas**

Cistos periventriculares	( )	( )
Cerebelo pequeno	( )	( )
Hipotonia generalizada	( )	( )
Ataxia cerebelar	( )	( )
Convulsões	( )	( )
AVC	( )	( )
Espinha bífida/ mielomeningocele	( )	( )
Retardo mental leve	( )	( )
Outros, Quais:	( )	( )

**Alterações em vias aéreas/faringe/laringe**

Obstrução de vias aéreas alta	( )	( )
Adenóide ausente ou pequena	( )	( )
Laringomalácia	( )	( )
Asma	( )	( )
Outros, Quais:	( )	( )

**Abdome/ intestino/ rim**

Aplasia ou hipoplasia renal	( )	( )
Rins císticos	( )	( )
Hérnia inguinal	( )	( )
Hérnia umbilical	( )	( )
Mal rotação intestinal	( )	( )
Diastase de reto	( )	( )
Outros, Quais:	( )	( )

**Alterações de membros**

Mãos e pés pequenos	( )	( )
Dedos alongados	( )	( )
Unhas curtas	( )	( )
Contraturas	( )	( )
Polidactilia	( )	( )
Sindactilia	( )	( )
Outros, Quais:	( )	( )

**Problemas na infância**

Dificuldade de alimentação	( )	( )
Déficit de crescimento	( )	( )
Refluxo gastro-esofágico	( )	( )
Irritabilidade	( )	( )
Constipação crônica	( )	( )
Outros, Quais:	( )	( )

**Genito-urinário**

Hipospádia	( )	( )
Criptorquidismo	( )	( )
Refluxo vesico-ureteral	( )	( )

Distúrbio na linguagem	( )	( )
Voz anasalada	( )	( )
Insuficiência velofaríngea	( )	( )
Voz aguda e fina	( )	( )
Outros, Quais:		

### **Cognitivo, aprendizado**

Dificuldade no aprendizado	( )	( )
Retardo mental leve	( )	( )
Transtorno de déficit de atenção	( )	( )
Outros, Quais:		

### **Miscelania**

Espontânea dessaturação de oxigênio sem apnéia	( )	( )
Trombocitopenia, doença de Bernard-Soulier	( )	( )
Artrite reumatóide juvenil	( )	( )
Alteração na regulação da temperatura corporal	( )	( )
Alterações psiquiátricas	( )	( )
Desordem afetiva bipolar	( )	( )
Doença maníaco depressiva e psicose	( )	( )
Depressão	( )	( )
Esquizofrenia	( )	( )
Outros, Quais;		

### **Alteração imunológica**

Infecção de vias aéreas superiores freqüente	( )	( )
Infecção de vias aéreas inferiores freqüente	( )	( )
População de células T reduzida	( )	( )
Outros, Quais:		

### **Alteração endócrina**

Hipocalcemia	( )	( )
Hipoparatiroidismo	( )	( )
Hipotireoidismo	( )	( )
Baixa estatura	( )	( )
Ausência ou hipoplasia de timo	( )	( )
Outros, Quais:		

### **Esqueleto/ Músculo/ ortopédico**

Escoliose	( )	( )
Espinha bífida oculta	( )	( )
Hemivértebra	( )	( )
Vértebra em forma de borboleta	( )	( )
Vértebra fundida	( )	( )
Osteopenia	( )	( )
Deformidade escapular, anomalia de Sprengel	( )	( )
Dor crônica nas pernas	( )	( )
Articulações com hiperextensão	( )	( )
Costela supra-numerária	( )	( )
Outros, Quais:		

**Pele/Tegumento**

Cabelo abundante	( )	( )
Pele de aparência fina	( )	( )
Outros, Quais:		

**Seqüências ou associações secundárias:**

Seqüência de Robin	( )	( )
Seqüência de DiGeorge	( )	( )
Seqüência de Potter	( )	( )
CHARGE Associação	( )	( )
Holoprosencefalia	( )	( )

**Heredograma:**

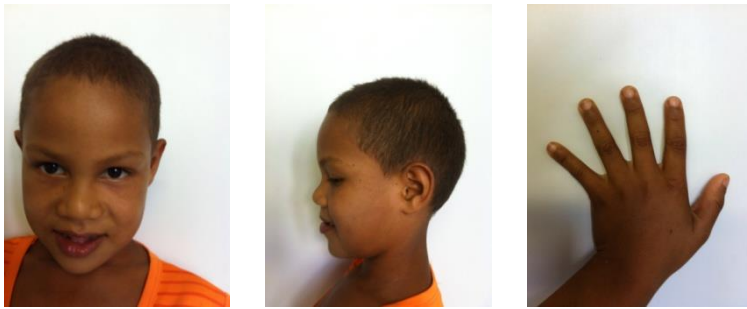
## **ANEXO E – Resumo das fichas clínicas dos pacientes**

Símbolos e Abreviaturas utilizados:

<	menor que
>	maior que
cm	centímetro
g	grama
kg	kilograma
p	percentil
AVC	acidente vascular cerebral
CIA	comunicação interatrial
CIV	comunicação interventricular
DCC	defeito cardíaco congênito
DNPM	desenvolvimento neuropsicomotor
G P A	gestação,paridade,aborto
IVAI	infecção de vias aéreas inferiores
IVAS	infecção de vias aéreas superiores
RDNPM	retardo no desenvolvimento neuropsicomotor
MT	Mato Grosso

Observação: As medidas antropométricas foram avaliadas conforme as curvas de Olsen et al. (2010), para as medidas de nascimento e pelas curvas da Organização Mundial de Saúde (WHO 2006; WHO 2007) para as medidas obtidas nas outras idades.

Caso MC 002



W.V.A., sexo masculino, 7 anos, natural e procedente de Cáceres – MT, mãe 25 anos, pai 32 anos, saudáveis, não consaguíneos, mãe GIIPIIIIV AO, pai presente a consulta não sabe relatar dados de nascimento. Sem intercorrências na gestação

DNPM: Normal

Exame Físico:

Peso: 23,800 g (p 50-85)                      Estatura: 122 cm (p 50-85)

Alterações extracardíacas: Ausente

Ecocardiograma: Tetralogia de Fallot

MLPA: sem alterações

Caso MC 004



N.F.S.N., sexo masculino, 9 anos, natural e procedente de Várzea Grande – MT, mãe 32 anos, pai 32 anos, saudáveis, não consaguíneos, mãe GIPIIIAO, refere um tio com DCC não sabe especificar que tipo. Nasceu a termo, gestação gemelar, com peso de 1235 g (p<3) e medindo 38 cm (p <3 ) o outro gêmeo saudável. Sem intercorrências na gestação

DNPM: Normal

Exame Físico:

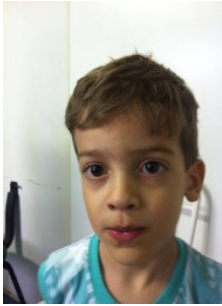
Peso: 35,000 g (p 85-97)

Alterações extracardíacas: Dificuldade do aprendizado, distúrbio da fala

Ecocardiograma: Tetralogia de Fallot

MLPA: sem alterações

Caso MC 005



G.S.F.O, sexo masculino, 4 anos, natural e procedente de Alta Floresta – MT, mãe 22 anos, pai 28 anos, saudáveis, não consaguíneos, mãe GIPIAO. Nasceu a termo, com peso de 2380 g (p 10) e medindo 47 cm (p 25) . Sem intercorrências na gestação

DNPM: Normal

Exame Físico:

Peso: 17,000 g (p 50-85)                      Estatura: 99 cm (p 15)

Alterações extracardíacas: Ausente

Ecocardiograma: Tetralogia de Fallot

MLPA: sem alterações

Caso MC 007



E.F.G.O, sexo masculino, 8 dias, natural e procedente de Cuiabá – MT, mãe 16 anos, pai 27 anos, saudáveis, não consaguíneos, mãe GIIPIIAO. Nasceu a termo, com peso de 2962 g (p 25) e medindo 46 cm (p < 3). Sem intercorrências na gestação. Estava na internado na enfermaria, ficou grave foi transferido para UTI Neonatal e foi a óbito aguardando transferência para um centro especializado em cirurgia cardíaca

DNPM: Normal

Exame Físico:

Peso: 2850 g (p 15)

Comprimento: 46 cm (p <3)

PC: 32 cm (< 3)

Alterações extracardíacas: Ausente

Ecocardiograma: Transposição de grandes artérias

MLPA: sem alterações

Caso MC 008



A.K.S.R, sexo feminino, 6 anos, natural e procedente de Cuiabá – MT, mãe 42 anos, pai 65 anos, saudáveis, não consaguíneos, mãe GIPI AO. Nasceu a termo, com peso de 2460 g (p 10-25) e medindo 50 cm (p 50 ). Sem intercorrências na gestação

DNPM: Normal

Exame Físico:

Peso: 14,500 g (p <3)

Estatura: 110 cm (p 15)

Alterações extracardíacas: Onfalocele, AVC, convulsão, paralisia facial, IVAI freqüente, déficit de crescimento

Ecocardiograma: Tetralogia de Fallot

MLPA: sem alterações

Caso MC 009



G.S.S., sexo masculino, 3 anos, natural e procedente de Alta Floresta – MT, mãe 27 anos, pai 29 anos, saudáveis, não consaguíneos, mãe GIPIIAO. Nasceu a termo, com peso de 3450 g (p 50) e medindo 52 cm (p 75-90). Sem intercorrências na gestação

DNPM: Normal

Exame Físico:

Peso: 16,000 g (p 50-85)      Estatura: 94 cm (p 15-50)

Alterações extracardíacas: Ausente

Ecocardiograma: Coartação da aorta

MLPA: sem alterações

## Caso MC 010



C.E.C.M., sexo masculino, 8 anos, natural e procedente de Cuiabá – MT, mãe 33 anos, pai 32 anos, saudáveis, não consaguíneos, mãe GIIPIIIAO. Nasceu a termo, com peso de 3540 g (p 50-75) e medindo 51 cm (p 50-75). Sem intercorrências na gestação

DNPM: Normal

Exame Físico:

Peso: 34,000 g (p 85-97)                      Estatura: 137 cm (p 97)

Alterações extracardíacas: convulsão, dificuldade de aprendizado, miopia

Ecocardiograma: Transposição de grandes artérias

MLPA: sem alterações

## Caso MC 012



T.L.C.G, sexo feminino, 12 anos, natural e procedente de Várzea Grande – MT, mãe 36 anos, saudável, nega consanguinidade, mãe GIVPIVAO. Nasceu pré termo, 32 semanas de idade gestacional, com peso de 1930 g (p 50).

DNPM: Normal

Exame Físico:

Peso: 42,350 g (p 50-85)                      Estatura: 155 cm (p 50-85)

Alterações extracardíacas: Ausente

Ecocardiograma: Transposição de grandes artérias

MLPA: sem alterações

Caso MC 013



G.S.S., sexo masculino, 15 anos, natural e procedente de Várzea Grande – MT, mãe 45 anos, pai 44 anos, saudáveis, não consaguíneos, mãe GIPIIAO, Nasceu a termo, com peso de 3000 g (p 25-10) e medindo 47 cm (p 3-10). Sem intercorrências na gestação

DNPM: Normal

Exame Físico:

Peso: 59,500 g (p 85-97)      Estatura: 165 cm (p 15-50)

Alterações extracardíacas: Ausente

Ecocardiograma: Tetralogia de Fallot

MLPA: sem alterações

Caso MC 014



S.J.S., sexo feminino, 19 anos, natural e procedente de Poconé – MT, mãe 36 anos, pai 42 anos, saudáveis, não consaguíneos, mãe GIVPIVAO. Nasceu a termo, com peso de 3200 g (p 50). Sem intercorrências na gestação

DNPM: Normal

Exame Físico:

Peso: 55,900 g (p 50-85)          Estatura: 162 cm (p 15-50)

Alterações extracardíacas: Ausente

Ecocardiograma: Tetralogia de Fallot

MLPA: sem alterações

Caso MC 016



B.V.P.S.S., sexo masculino, 2 anos, natural e procedente de Várzea Grande – MT, mãe 19 anos, pai 21 anos, saudáveis, não consaguíneos, mãe GIPIAO. Nasceu a termo, com peso de 3285 g (p 50) e medindo 48 cm (p 25). Sem intercorrências na gestação

DNPM: Normal

Exame Físico:

Peso: 11,600 g (p 15-50)      Estatura: 88 cm (p 15-50)

Alterações extracardíacas: Ausente

Ecocardiograma: Transposição de grandes artérias, CIA e CIV

MLPA: sem alterações

Caso MC 017



M.D.S., sexo masculino, 7 anos, natural e procedente de Guiratinga – MT, mãe 31 anos, pai 40 anos, saudáveis, refere consaguinidade, os pais são primos, mãe GIPIIAO. Nasceu a termo, com peso de 3350 g (p 50) e medindo 52 cm (p 75). Sem intercorrências na gestação

DNPM: Normal

Exame Físico:

Peso: 20,000 g (p 15)                      Estatura: 119 cm (p 15-50)

Alterações extracardíacas: Ausente

Ecocardiograma: Tetralogia de Fallot

MLPA: sem alterações

Caso MC 018



G.S.O., sexo masculino, 3 anos, natural e procedente de Rondonópolis – MT, mãe 43 anos, pai 55 anos, saudáveis, não consaguíneos, mãe GIPIAO. Nasceu pré termo, idade gestacional de 35 semanas com peso de 2770 g (p 75) e medindo 47 cm (p 50).

DNPM: Normal

Exame Físico:

Peso: 15,200 g (p 50-85)      Estatura: 101 cm (p 50-85)

Alterações extracardíacas: Estenose subglótica, criptorquidismo

Ecocardiograma: Tetralogia de Fallot

MLPA: sem alterações

Caso MC 019



K.T.S., sexo feminino, 1 ano 5 meses, natural e procedente de Várzea Grande – MT, mãe 26 anos, pai 30 anos, saudáveis, não consaguíneos, mãe GIPIAO. Nasceu a termo, com peso de 2995 g (p 25-50) e medindo 50 cm (p 50-75). Sem intercorrências na gestação

DNPM: Normal

Exame Físico:

Peso: 8905 g (p 15)      Comprimento: 76 cm (p 3-15)

Alterações extracardíacas: Ausente

Ecocardiograma: Tetralogia de Fallot

MLPA: sem alterações

## Caso MC 020



J.C.R.P, sexo masculino, 1 mês, natural e procedente de Matupá – MT, mãe 27 anos, pai 38 anos, saudáveis, não consaguíneos, mãe GIPIAO. Nasceu a termo, com peso de 3250 g (p 50) e medindo 47 cm (p 10) . Sem intercorrências na gestação. Relato de dois primos do lado paterno com defeito cardíaco congênito. Óbito enquanto aguardava transferência para um centro especializado em cirurgia cardíaca.

DNPM: Normal

Exame Físico:

Peso: 3800 g (p 15)      Comprimento: 49 cm (p <3)

Alterações extracardíacas: Ausente

Ecocardiograma: Transposição de grandes artérias, CIV e canal arterial pequeno

MLPA: sem alterações

## Caso MC 021



B.V.P.R., sexo feminino, 5 anos, natural e procedente de Várzea Grande – MT, mãe 32 anos, pai 30 anos, saudáveis, não consaguíneos, mãe GIPIAO. Nasceu a termo, com peso de 3300 g (p 50-75). Sem intercorrências na gestação.

DNPM: Normal

Exame Físico:

Peso: 20,000 g (p 50-85)      Estatura: 123 cm (p 97)

Alterações extracardíacas: estrabismo

Ecocardiograma: Transposição de grandes artérias

MLPA: sem alterações

## Caso MC 022



T.F.C.G., sexo feminino, 10 anos, natural e procedente de Cuiabá – MT, mãe 34 anos, pai 34 anos, saudáveis, não consaguíneos, mãe GIIPII AO. Nasceu a termo, com peso de 2950 g (p 50) e medindo 47 cm (p 25) . Sem intercorrências na gestação

DNPM: Normal

Exame Físico:

Peso: 34,000 g (p 50-85)                      Estatura: 138 cm (p 50)

Alterações extracardíacas: Ausente

Ecocardiograma: Tetralogia de Fallot

MLPA: sem alterações

## Caso MC 023



G.A.V., sexo feminino, 15 anos, natural e procedente de Cuiabá – MT, mãe 45 anos, pai 50 anos, saudáveis, não consaguíneos, mãe GIPIIAO. Nasceu a termo, com peso de 3450 g (p 50) e medindo 47,5 cm (p 25). Sem intercorrências na gestação

DNPM: Normal

Exame Físico:

Peso: 40,000 g (p 50-85)      Estatura: 152 cm (p 3-15)

Alterações extracardíacas: perda auditiva condutiva leve, déficit de crescimento, IVAI frequente

Ecocardiograma: Dupla via de saída de VD, valvula atrioventricular única, dextrocardia, isomerismo esquerdo

MLPA: sem alterações

Caso MC 024



R.O.B., sexo feminino, 9 anos, natural e procedente de Várzea Grande – MT, mãe 33 anos, pai 40 anos, saudáveis, não consaguíneos, mãe GIPIAO. Nasceu a termo, com peso de 2700 g (p 10-25) e medindo 47 cm (p 10-25) . Sem intercorrências na gestação

DNPM: Normal

Exame Físico:

Peso: 19,000 g (p 15)

Estatura: 124 cm (p 3-15)

Alterações extracardíacas: RGE

Ecocardiograma: Tetralogia de Fallot

MLPA: sem alterações

## Caso MC 025



J.S.B., sexo feminino, 3 meses, natural e procedente de Nova Canaã – MT, mãe 32 anos, pai 42 anos, saudáveis, não consaguíneos, mãe GVPVAO. Nasceu a termo, com peso de 2170 g (p < 3) e medindo 42 cm (p < 3). Sem intercorrências na gestação. Relato de um irmão que nasceu com anencefalia.

DNPM: Normal

Exame Físico:

Peso: 4775 g (p 3)          Comprimento: 57 cm (p 3-15)    PC: 38,5 cm (p 15)

Alterações extracardíacas: Fissura labial e palatal

Ecocardiograma: Tetralogia de Fallot

MLPA: sem alterações

## Caso MC 026



C.D.A.B., sexo masculino, 28 dias, natural e procedente de Cotriguaçu – MT, mãe 39 anos, pai 22 anos, saudáveis, não consaguíneos, mãe GIPIAO. Nasceu a termo, com peso de 2245 g ( $p < 3$ ) e medindo 42 cm ( $p < 3$ ). Sem intercorrências na gestação. Óbito.

DNPM: Normal

Exame Físico:

Peso: 2700 g ( $p < 3$ )      Comprimento: 47,5 cm ( $p < 3$ )      PC: 35 cm ( $p$  3-15)

Alterações extracardíacas: Ausente

Ecocardiograma: Tetralogia de Fallot

MLPA: sem alterações

Caso MC 027



J.C.T., sexo masculino, 9 meses, natural e procedente de Cotriguaçu – MT, mãe 17 anos, pai 19 anos, saudáveis, não consaguíneos, mãe GIPIAO. Nasceu a termo, com peso de 2730 g (p 25) e medindo 47 cm (p 10). Sem intercorrências na gestação

DNPM: Normal

Exame Físico:

Peso: 7300 g (p 3)                      Comprimento: 64 cm (p < 3)

Alterações extracardíacas: IVAS freqüente, dificuldade de alimentação

Ecocardiograma: Tetralogia de Fallot

MLPA: sem alterações

Caso MC 028



V.P.M.J., sexo masculino, 16 anos, natural e procedente de Rondonópolis – MT, mãe 44 anos, pai 54 anos, saudáveis, não consaguíneos, mãe GIIPIIIAO. Nasceu a termo, com peso de 3950 g (p 90) e medindo 52 cm (p 75). Sem intercorrências na gestação

DNPM: Normal

Exame Físico:

Peso: 64,000 g (p 85-97)                      Estatura: 175 cm (p 50)

Alterações extracardíacas: Ausente

Ecocardiograma: Tetralogia de Fallot

MLPA: sem alterações

Caso MC 029



G.M.S.R., sexo masculino, 6 anos, natural e procedente de Cuiabá – MT, mãe 37anos, pai 47 anos, saudáveis, não consaguíneos, mãe GIIPII AO. Nasceu a termo, com peso de 3900 g (p 90) e medindo 52 cm (p 75) . Sem intercorrências na gestação

DNPM: atrasado

Exame Físico:

Peso: 43,000 g (p >97)

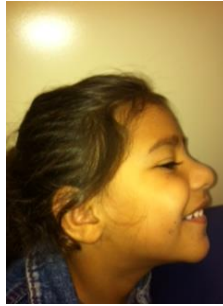
Estatura: 129 cm (p 97)

Alterações extracardíacas: Autismo, epilepsia, dismorfismo facial (ponte nasal bulbosa, lábio superior fino, face alongada)

Ecocardiograma: Trasposição de grandes artérias

MLPA: sem alterações

## Caso MC 031



A.O.C, sexo feminino, 4 anos, natural e procedente de Várzea Grande – MT, mãe 30 anos, pai 32 anos, saudáveis, não consaguíneos, mãe GIPIIAO. Nasceu a termo, com peso de 3200 g (p 50) e medindo 48 cm (p 25-50). Sem intercorrências na gestação

DNPM: Normal

Exame Físico:

Peso: 13,015 g (p 3-15)    Estatura: 97 cm (p 3-15)    PC: 51 cm (p50-85)

Alterações extracardíacas: AVC, IVAS freqüente, déficit de crescimento, vitiligo

Ecocardiograma: Tetralogia de Fallot

MLPA: sem alterações

Caso MC 032



M.E.B.S, sexo feminino, 10 meses, natural e procedente de Jangada – MT, mãe 26 anos, pai 26 anos, saudáveis, não consaguíneos, mãe GIPIAO. Nasceu a termo, com peso de 2972 g (p 25-50) e medindo 47 cm (p 10). Sem intercorrências na gestação

DNPM: Normal

Exame Físico:

Peso: 6500 g (p <3)      Comprimento: 62 cm (p <3)      PC: 45 cm (p 50-85)

Alterações extracardíacas: fronte ampla, hipertelorismo ocular, facies hipotônica, bochechas proeminentes, implantação baixa da orelha, estrabismo

Ecocardiograma: Tetralogia de Fallot

MLPA: sem alterações

Caso MC 033



L.V.B.S., sexo masculino, 10 anos, natural e procedente de Sinop – MT, mãe 32 anos, pai 32 anos, saudáveis, não consaguíneos, mãe GIPII AO. Nasceu a termo, com peso de 3100 g (p 25-50) e medindo 48 cm (p 25-50). Sem intercorrências na gestação

DNPM: Normal

Exame Físico:

Peso: 23,200 g (p 3)                      Estatura: 131 cm (p 15)

Alterações extracardíacas: Ausente

Ecocardiograma: Tetralogia de Fallot

MLPA: sem alterações

Caso MC 034



K.E.O.M, sexo masculino, 9 anos, natural e procedente de Pontes de Lacerda – MT, mãe 27 anos, pai 26 anos, saudáveis, não consaguíneos, mãe GIIIPIIIAO. Nasceu a termo, com peso de 2800 g (p 25) e medindo 42 cm (p < 3). Sem intercorrências na gestação

DNPM: Normal

Exame Físico:

Peso: 33,500 g (p 85-97)      Estatura: 136 cm (p 50-85)

Alterações extracardíacas: IVAS freqüente, asma, hipocalcemia no período neonatal

Ecocardiograma: Tetralogia de Fallot

MLPA: sem alterações

Caso MC 035



T.J.C., sexo masculino, 2 dias, natural e procedente de Cuiabá – MT ,mãe 28 anos, pai 44 anos, saudáveis, não consaguíneos, mãe GIIIPIIIAO. Nasceu a termo, com peso de 3620 g (p 50) e medindo 50 cm (p 50). Sem intercorrências na gestação. Óbito enquanto aguardava transferência para um centro especializado em cirurgia cardíaca

DNPM: Normal

Exame Físico:

Peso: 3620 g (p 50-85)

Comprimento: 50 cm (p 15-50)

PC: 36 cm (p 85)

Alterações extracardíacas: Ausente

Ecocardiograma: Transposição de grandes artérias

MLPA: sem alterações

Caso MC 036



J.V.F.B., sexo masculino, 19 dias, natural e procedente de São José do Rio Claro – MT, mãe 23 anos, pai 28 anos, saudáveis, não consaguíneos, mãe GIPIAO. Nasceu a termo, com peso de 2700 g (p 25-50) e medindo 48 cm (p 25-50). Sem intercorrências na gestação. Óbito enquanto aguardava transferência para um centro especializado em cirurgia cardíaca

DNPM: Normal

Exame Físico:

Peso: 2600 g (p < 3)      Comprimento: 48 cm (p < 3)      PC: 35 cm (p 3-15)

Alterações extracardíacas: Ausente

Ecocardiograma: Atresia pulmonar com defeito do septo ventricular

MLPA: sem alterações

Caso MC 037



L.V.M., sexo masculino, 12 anos, natural e procedente de Nova Mutum – MT, mãe 33 anos, pai 39 anos, saudáveis, não consaguíneos, mãe GIPIAO. Nasceu a termo, com peso de 4100 g (p 25-50) e medindo 54 cm (p 90-97). Sem intercorrências na gestação

DNPM: Normal

Exame Físico:

Peso: 45,000 g (p 85-97)

Estatura: 166 cm (p >97)

Alterações extracardíacas: Daltonismo, miopia, astigmatismo, convulsão, asma, IVAS e IVAI frequente.

Ecocardiograma: Coartação da aorta

MLPA: sem alterações

Caso MC 038



M.C.A.F., sexo masculino, 1 ano e 2 meses, natural e procedente de Cuiabá – MT, mãe 24 anos, pai 26 anos, saudáveis, não consaguíneos, mãe GIIPIIAO. Nasceu a termo, com peso de 3545 g (p 75-90) e medindo 49,5 cm (p 50). Sem intercorrências na gestação

DNPM: Normal

Exame Físico:

Peso: 9040 g (p 15-50)      Comprimento: 74 cm (p 3-15)      PC: 47 cm (p 50-85)

Alterações extracardíacas: Asma, RGE

Ecocardiograma: Coartação da aorta

MLPA: sem alterações