

## Alterações Genéticas Submicroscópicas: Parte II

*Autoria: Sociedade Brasileira de Genética Médica*

---

**Elaboração Final:** 26 de junho de 2011

**Participantes:** Raskin S, Souza J, Pilotto RF, Perez ABA, Simões R

---

---

*O Projeto Diretrizes, iniciativa conjunta da Associação Médica Brasileira e Conselho Federal de Medicina, tem por objetivo conciliar informações da área médica a fim de padronizar condutas que auxiliem o raciocínio e a tomada de decisão do médico. As informações contidas neste projeto devem ser submetidas à avaliação e à crítica do médico, responsável pela conduta a ser seguida, frente à realidade e ao estado clínico de cada paciente.*

## **DESCRIÇÃO DO MÉTODO DE COLETA DE EVIDÊNCIA:**

A revisão bibliográfica de artigos científicos dessa diretriz foi realizada na base de dados MEDLINE, Cochrane e SciELO. A busca de evidências partiu de cenários clínicos reais, e utilizou palavras-chaves (MeSH terms) agrupadas nas seguintes sintaxes: Comparative Genomic Hybridization, congenital abnormalities, congenital anomalies, abortion/spontaneous, miscarriage, abortion habitual, gonadal dysgenesis, disorders of sexual development, gonadal dysgenesis, mosaicism, chromosome aberrations.

## **GRAU DE RECOMENDAÇÃO E FORÇA DE EVIDÊNCIA:**

- A:** Estudos experimentais ou observacionais de melhor consistência.
- B:** Estudos experimentais ou observacionais de menor consistência.
- C:** Relatos de casos (estudos não controlados).
- D:** Opinião desprovida de avaliação crítica, baseada em consensos, estudos fisiológicos ou modelos animais.

## **OBJETIVO:**

Analisar as recomendações para indicação da investigação diagnóstica laboratorial pela técnica de hibridização genômica comparativa em microarranjos de DNA (CGH-array) para diagnóstico etiológico de abortamento espontâneo (isolado ou de repetição), anormalidades cromossômicas pré-natais ou pós-natais, desordens do desenvolvimento sexual, síndrome de supercrescimento, exame de cariótipo anormal, porém de interpretação duvidosa, alteração cromossômica por mosaicismismo de baixa frequência e anomalia congênita e/ou dismorfismo quando o resultado do cariótipo é normal

## **CONFLITO DE INTERESSE:**

Os conflitos de interesse declarados pelos participantes da elaboração desta diretriz estão detalhados na página XXX.

## INTRODUÇÃO

Tanto o cariótipo quanto o CGH-array possibilitam a detecção de aneuploidias, translocações não balanceadas, inserções e duplicações, desde que o tamanho seja de pelo menos 5 Mb (cinco milhões de bases nitrogenadas). A técnica de análise do genoma por hibridização comparativa em microarranjos de DNA é uma técnica de citogenética molecular que permite verificar se há perdas ou ganhos de segmentos cromossômicos submicroscópicos no genoma de um indivíduo, demonstrando maior resolução e, portanto, sensibilidade, possibilitando a detecção de ganhos ou perdas de número de cópias muito pequenas.

O cariótipo por bandeamento G é uma técnica citogenética que oferece informação semelhante, entretanto com limite de resolução menor. Por sua vez, o exame de CGH-array não é capaz de detectar alterações cromossômicas equilibradas, como translocações recíprocas, inversões ou inserções; também não identificando alterações do DNA mitocondrial e mutações de ponto. A seguir, analisaremos algumas considerações sobre o papel desempenhado pela técnica de hibridização genômica comparativa em microarranjos de DNA no auxílio ao diagnóstico etiológico de situações clínicas onde o resultado da análise por cariótipo é normal ou no qual houve dificuldade de cultivo celular ou suspeita de contaminação da amostra com tecido materno como nos casos de abortamento espontâneo e anormalidades cromossômicas pré-natais ou pós-natais e também nas desordens do desenvolvimento sexual e síndrome de supercrescimento. Também analisaremos situações clínicas onde o cariótipo é anormal, porém a técnica de CGH-array permite obter uma informação mais precisa e de maior utilidade clínica.

Para facilitar a interpretação se a variabilidade detectada por CGH-array é a causa daquele quadro clínico investigado (causal), ou apenas uma variante genética não patogênica (não-causal), e assim reduzir o número de falsos-positivos, sempre que uma variabilidade submicroscópica for detectada no paciente, orienta-se que ela seja validada/confirmada no paciente por técnicas como FISH ou MLPA ou PCR quantitativa e seja testado em ambos pais biológicos, visto que mais de 99% das alterações cromossômicas submicroscópicas não-causais são herdadas de um dos genitores<sup>1</sup>(C).

Pelo fato de que esta metodologia gera resultados falsos-positivos, e, portanto pode trazer complexidade à interpretação do resultado em alguns casos, recomenda-se que, por enquanto, a interpretação do resultado destes exames na prática clínica seja feita sempre com o apoio de um médico especialista em genética, por meio de aconselhamento genético pós-teste<sup>2</sup>(D). No caso da utilização da técnica do CGH-array para fins de diagnóstico pré-natal, recomenda-se que não apenas a interpretação final dos resultados seja feita pelo médico especialista em genética, mas sim que este especialista seja sempre consultado por outros médicos e pela família, por meio de um aconselhamento genético pré e pós-exame, onde receberão informações que incluirão a explanação sobre as limitações do CGH-array nos testes pré-natais<sup>3</sup>(C).

## **1. QUAL É O PAPEL DESEMPENHADO PELA TÉCNICA LABORATORIAL DE CGH-ARRAY NO AUXÍLIO AO DIAGNÓSTICO ETIOLÓGICO DE ABORTAMENTO ESPONTÂNEO (ISOLADOS OU DE REPETIÇÃO), QUANDO O RESULTADO DO EXAME DE CARIÓTIPO DO MATERIAL É NORMAL OU QUANDO NÃO É POSSÍVEL OBTER-SE UM RESULTADO DO CARIÓTIPO DO MATERIAL DE ABORTO OU QUANDO SE SUSPEITA DE CONTAMINAÇÃO DA AMOSTRA DO MATERIAL DE ABORTO COM TECIDO MATERNO?**

O abortamento espontâneo é uma das complicações mais comuns durante a gravidez. Com incidência variável, entre 6,5% e 21% em gestações clinicamente reconhecidas, cerca de 80% dos abortamentos ocorrem nas primeiras 12 semanas de gestação<sup>4,5</sup>(D). Apresenta etiologia heterogênea incluindo tanto fatores genéticos quanto ambientais sendo as principais causas originárias de anomalias cromossômicas

no conceito. Outros fatores que podem resultar ou influenciar no abortamento espontâneo são aqueles de origem materna como doenças crônicas e infecciosas, alterações anatômicas e fatores imunológicos<sup>6</sup>(B).

As anormalidades cromossômicas são responsáveis por cerca de 50% das perdas no primeiro trimestre da gravidez. A maioria destas anormalidades são referentes a alterações numéricas (86%), sendo que entre as cromossomopatias observadas em produtos de abortamentos espontâneos, as trissomias autossômicas são as mais frequentes, seguidas pela monossomia do cromossomo X e das poliploidias<sup>7,8</sup>(C). Pequena porcentagem é causada por anormalidades estruturais (6%) ou outros mecanismos genéticos, incluindo o mosaicismismo cromossômico (8%). Na maioria das vezes, essas alterações são esporádicas sendo raramente originárias de alterações já existentes nos cariótipos paternos<sup>9</sup>(D).

Os abortamentos espontâneos podem ser recorrentes, conceituados como perda consecutiva de três ou mais gestações, embora, na prática, já se adote critério menos rigoroso de um ou mais abortos para iniciar a propedêutica, dentre os quais a análise citogenética. Apresenta etiologia variada sendo que nem sempre é possível identificar uma causa de modo a instituir um tratamento ou planejamento reprodutivo eficaz.

Com incidência na população estimada entre 0,3% a 1% trata-se de condição rara, constituindo-se em evento frustrante, principalmente para os casais que abortam repetidas vezes<sup>10</sup>(B)<sup>11,12</sup>(D). Com risco observado de nova perda gestacional estimado em torno de 11,5% após um aborto, este passa para 36,4% após três abortamentos. Desta forma, a compreen-

são das causas de uma perda gestacional, não só representa grande impacto psicológico para o casal e seus familiares, mas também permite uma melhoria substancial na qualidade do planejamento reprodutivo, no sentido de poder propiciar ao casal uma real compreensão dos riscos de recorrência.

Avaliando-se abortamentos espontâneos ou natimortos, observa-se, por meio de análise por cariótipo, anormalidades cromossômicas em 38,2% dos casos. A análise por meio da técnica de CGH-array possibilita a identificação de outros 19 casos (30,16%) não identificados por meio de cariótipo<sup>13</sup>(C).

Quando o casal apresentar repetidos abortos com cariótipo fetal normal que não foram analisados por meio do CGH-array, ou quando não foi possível realizar cariótipo fetal, e não houver evidência de causa não genética para a repetição dos abortos, a análise do casal por CGH-array poderá detectar alterações cromossômicas submicroscópicas que quando transmitidas à prole poderão levar a repetidos abortos. A análise de alterações cromossômicas submicroscópicas por técnica de CGH-array de material de abortamento de repetição cujo cariótipo foi normal, e de genitores com abortamento de repetição, detectou alterações cromossômicas submicroscópicas até então não descritas na literatura, sendo que todas elas estavam presentes em um dos genitores, e tinham, portanto o potencial de estar relacionadas com a recorrência dos abortamentos<sup>14</sup>(B).

## Recomendação

Considerando-se que a etiologia do abortamento espontâneo (isolado ou de repetição) é heterogênea e multifatorial, nos casos em que o cariótipo não revelar alterações ou não for possível

obtê-lo por falha de cultivo celular ou houver suspeita de contaminação da amostra fetal com amostra materna, o uso da técnica de CGH-array possibilita auxílio no diagnóstico, ampliando a taxa de detecção de anormalidades cromossômicas causais em cerca de 30%. Orienta-se, a critério médico, o uso da técnica de CGH-array para investigação etiológica de casais que apresentaram abortamentos de repetição com cariótipo fetal normal, porém os fetos não foram analisados por CGH-array, ou quando não foi possível realizar cariótipo fetal, e não há evidência de causa não genética para a repetição dos abortos.

## 2. QUAL É O PAPEL DESEMPENHADO PELA TÉCNICA LABORATORIAL DE CGH-ARRAY NO AUXÍLIO AO DIAGNÓSTICO ETIOLÓGICO PRÉ-NATAL DE FETOS VIVOS COM POSSÍVEL DOENÇA DE ETIOLOGIA CROMOSSÔMICA QUANDO O RESULTADO DO CARIÓTIPO FETAL FOR NORMAL OU QUANDO NÃO É POSSÍVEL OBTER-SE UM RESULTADO DO CARIÓTIPO FETAL OU QUANDO SE SUSPEITA DE CONTAMINAÇÃO DA AMOSTRA FETAL COM TECIDO MATERNO?

Submetendo-se amostras pré-natais obtidas por meio de amniocentese (82%) ou biópsia de vilosidade coriônica (18%), indicadas por idade materna avançada e achados anormais obtidos pela ultrassonografia, à análise de cariótipo e técnica de CGH-array, detectou-se 58 variantes submicroscópicas (19,3%), sendo que destas, 13,3% foram interpretadas como não-causais, 5% interpretadas como causais, e 1% como de significado clínico incerto<sup>15</sup> (C). Nas variantes submicroscópicas de significado clínico incerto, perfazendo aproximadamente 2,3%, o CGH-array contribuiu com nova informação importante, possibilitando a detecção da anormalidade em duas (1% ou aproximadamente 1/150)<sup>15</sup>(C).

Aplicando-se o CGH-array em amostras obtidas de pré-natal, mas com ênfase na investigação de que tipo de arranjo de DNA traria a maior taxa de detecção (arranjos construídos para rastrear todo o genoma ou arranjos construídos para testar exclusivamente regiões genômicas específicas, reconhecidamente associadas com síndromes genéticas), observou-se taxa de detecção de alterações causais, em amostras cujo cariótipo prévio foi normal de 5/182 (2,7%)<sup>16</sup>(B). Das amostras testadas por análise de microarranjos rastreando todo o genoma, em 3,8% foram detectadas alterações causais, em 8,8% detectadas alterações não-causais e em uma única (0,5%) detectada alteração com significado duvidoso. Já nas amostras analisadas por arranjos construídos para testar exclusivamente regiões genômicas específicas, e adicionando-se a este grupo amostral aquelas testadas pela mesma metodologia e técnica, não foram detectadas alterações em 90,6%; em 0,9% foram detectadas alterações causais, em 8% detectadas alterações não-causais e 0,5% detectada uma alteração de significado duvidoso<sup>16</sup>(B). Desta maneira, a aplicação de critérios rigorosos para incluir um resultado como duvidoso reduziu este tipo de achado a apenas 0,5% das amostras testadas, seja pelo arranjo construído para rastrear todo o genoma, seja pelos arranjos construídos para testar exclusivamente regiões genômicas específicas reconhecidamente associadas à síndromes genéticas<sup>16</sup>(B).

A diferença entre as taxas de detecção de alterações não-causais quando utilizado o arranjo construído para rastrear exclusivamente regiões genômicas específicas, reconhecidamente associadas com síndromes genéticas (8%) e no arranjo construído para rastrear todo o genoma (8,8%) não demonstra significância estatística. A diferença entre as taxas de detecção de

alterações causais quando utilizado o arranjo construído para rastrear exclusivamente regiões genômicas específicas, reconhecidamente associadas com síndromes genéticas (0,9%) e no arranjo construído para rastrear todo o genoma (2,7%) também não demonstra significância estatística<sup>16</sup> (B).

Analisando retrospectivamente amostras obtidas de pré-natal indicadas por anormalidades fetais identificadas à ultrassonografia, idade materna avançada, história familiar de uma desordem de etiologia desconhecida, ansiedade materna, cariótipo anormal e avaliação bioquímica anormal para aneuploidias, e submetidas à análise pela técnica do CGH-array, observou-se que dos 218 casos (81%) com cariótipo normal, 1,2% apresentavam resultado anormal pelo CGH-array, sendo que destes 2,2% considerados de baixo risco e 2% considerados de alto risco por ter uma anormalidade previamente detectada ao ultrassom obstétrico<sup>3</sup>(C).

Alterações cromossômicas submicroscópicas causais foram detectadas em 9,5% de 49 casos pré-natais onde a medida ultrassonográfica da translucência nucal fetal era maior do que 3,5 mm, sendo que a incidência foi de 20% (2/10) entre casos com outras alterações fetais ultrassonográficas e de 5,3% (2/38) entre aqueles sem outras alterações fetais ultrassonográficas além do aumento da medida da translucência nucal fetal<sup>17</sup>(C).

Revisão sistemática com meta-análise, incluindo pacientes com anormalidades fetais identificadas à ultrassonografia e submetidas à obtenção de amostras de pré-natal com subsequente análise por técnica de CGH-array, identificou 3,6% de alterações cromossômicas

a mais nos casos onde o cariótipo havia apresentado resultado normal, independente da indicação. Esta taxa aumentou para 5,2% a mais (IC95%: 1,9 a 13,9), quando a indicação foi por malformação estrutural no feto identificada à ultrassonografia obstétrica<sup>18</sup>(A).

## Recomendação

A utilização da técnica de CGH-array em gestações associadas a possíveis doenças fetais de etiologia cromossômica após cariotipagem fetal normal ou quando não houver crescimento celular de tecido fetal cultivado ou quando houver contaminação de amostra fetal por amostra materna, possibilita ampliação na taxa de detecção de anormalidades cromossômicas causais.

### 3. QUAL É O PAPEL DESEMPENHADO PELA TÉCNICA LABORATORIAL DE CGH-ARRAY NO AUXÍLIO AO DIAGNÓSTICO ETIOLÓGICO DE INDIVÍDUOS COM DESORDENS DO DESENVOLVIMENTO SEXUAL?

O termo desordem do desenvolvimento sexual (DDS) ou da língua inglesa DSD - *disorders of sex development*, é definido como “condições congênitas nas quais o desenvolvimento do sexo cromossômico, gonadal, ou anatômico é atípico”<sup>19</sup>(D). Abrange um amplo espectro de fenótipos dentre os quais incluído no 46,XY DDS, temos a incompleta virilização de indivíduos com cariótipo XY; disgenesia gonadal parcial ou completa e no 46,XX DDS a disgenesia gonadal e mais comumente a virilização de indivíduos com cariótipo XX (Tabela 1)<sup>19</sup>(D).

Outras formas de DDS incluem a extrofia cloacal, hipospádia grave, atresia vaginal e como parte de outras condições, como síndrome de Mayer-Rokitansky-Kuster-Hauser e síndrome de Smith-Lemli-Opitz<sup>20,21</sup>(D). Embora nas últimas duas décadas consideráveis avanços na compreensão dos fatores genéticos envolvidos na diferenciação gonadal tenham sido atingidos, estima-se que o diagnóstico molecular é realizado em uma minoria dos

Tabela 1

Lee et al. (2006, p. e489, modificado)

Nomenclatura Precedente	Nomenclatura Proposta
Intersexo	DSD
Pseudo-hermafrodita masculino, subvirilização de homem XY e submasculinização de homem XY	DSD 46,XY
Pseudo-hermafrodita feminino, supervirilização de mulher XX e supermasculinização de mulher XX	DSD 46,XX
Hermafrodita Verdadeiro	DSD Ovotesticular
Homem XX ou Reversão Sexual XX	DSD testicular 46,XX
Reversão Sexual XY	Disgenesia Gonadal Completa 46,XY

casos de DDS, exceto naqueles em que o perfil bioquímico indica uma alteração específica na esteroidogênese<sup>22,23</sup> (C). Desta maneira surge a técnica do CGH-array com o propósito de, por meio da identificação de alterações cromossômicas submicroscópicas, possibilitar melhor compreensão ao diagnóstico etiológico dos casos que permanecem inexplicados.

Utilizando-se da técnica de CGH-array, alterações cromossômicas submicroscópicas clinicamente relevantes foram detectadas em 21,5% de crianças nascidas com desordens do desenvolvimento sexual de causa idiopática (genitália ambígua, hipospádia e criptorquidia tanto isoladas como associadas a outras anomalias) sendo que a maioria destas, perfazendo ao todo 74,2%, escaparam da detecção por meio da análise por cariótipo. Entre as alterações cromossômicas submicroscópicas detectadas, estavam duplicações e deleções em 1p36.33, 9p24.3 e 19q12-q13.11 em casos de genitália ambígua, 10p14 e Xq28 nos casos de criptorquidismo e 12p13 e 16p11.2 em casos de hipospádias<sup>24</sup> (C).

Outro estudo analisando por meio da técnica de CGH-array pacientes portadores de disgenesia gonadal XY (um dos fenótipos da desordem do desenvolvimento sexual XY - 46,XY DDS) observou que dos portadores da forma sindrômica de disgenesia gonadal (aqueles que possuíam traços associados de deficiência mental, dismorfismo facial, trombocitopenia e más formações esqueléticas, renais, de membros, adrenal e pele), 31% apresentavam deleções ou duplicações de segmento de DNA (CNVs) correlacionadas ou potencialmente relacionadas à diferenciação testicular. Da mesma maneira, dos indivíduos portadores da forma não sindrômica de disgenesia gonadal, 29% apresentavam

deleções ou duplicações de segmento de DNA sendo que destes, em 81% identificou-se perdas ou ganhos de regiões que não foram previamente descritas como alterações cromossômicas submicroscópicas causais<sup>25</sup> (C).

## Recomendação

A utilização da técnica de CGH-array na investigação etiológica de indivíduos com desordem do desenvolvimento sexual possibilita a identificação de alterações cromossômicas estruturais que não seriam detectáveis por meio da análise por cariótipo.

## 4. QUAL É O PAPEL DESEMPENHADO PELA TÉCNICA LABORATORIAL DE CGH-ARRAY NO AUXÍLIO AO DIAGNÓSTICO ETIOLÓGICO DE INDIVÍDUOS COM SÍNDROME DE SUPERCRESCIMENTO?

A síndrome de supercrescimento perfaz grupo heterogêneo de desordens, incluindo condições associadas a distúrbios endócrinos e genéticos, caracterizados por excessivo crescimento tanto localizado quanto generalizado para a idade e sexo. Apesar de o supercrescimento ser observado em diversas síndromes genéticas, apenas um pequeno número teve as bases moleculares desvendadas tais como a síndrome de Beckwith-Wiedemann, Simpson-Golabi-Behmel e Sotos<sup>26-28</sup> (D). Ainda, dentre as causas genéticas, deleções e duplicações cromossômicas têm sido identificadas tais como dup(4)(p16.3), dup(15)(q26qter), del(9)(q22.32q22.33)<sup>29-32</sup> (C).

Analisando-se por meio de técnica de CGH-array com resolução de 1 Mb (um milhão de bases nitrogenadas) pacientes portadores de síndromes de supercrescimento conhecidas ou não (dentre elas síndrome de Sotos, Weaver,

Simpson–Golabi–Behmel, Marshall–Smith, Beckwith–Wiedemann) com análise por cariótipo normal e sem evidências de translocações não balanceadas, observou-se a presença de rearranjos cromossômicos submicroscópicos em 7,5% dos indivíduos, sendo que destes, 28% com relevância clínica desconhecida<sup>33</sup>(C).

## Recomendação

A utilização da técnica de CGH-array na investigação etiológica de indivíduos com síndrome de supercrescimento permite identificar a etiologia em cerca de 7% dos pacientes que não seriam detectados pela análise do cariótipo, sendo que cerca de 1/3 de relevância clínica desconhecida.

## 5. QUAL É O PAPEL DESEMPENHADO PELA TÉCNICA LABORATORIAL DE CGH-ARRAY NO AUXÍLIO AO DIAGNÓSTICO ETIOLÓGICO PRÉ-NATAL OU PÓS-NATAL DE ANORMALIDADES CROMOSSÔMICAS QUANDO O RESULTADO DO EXAME DE CARIÓTIPO FOR ANORMAL, PORÉM DE INTERPRETAÇÃO DUVIDOSA, COMO POR EXEMPLO, NOS CASOS EM QUE O CARIÓTIPO DETECTAR A PRESENÇA DE DELEÇÕES OU DUPLICAÇÕES EM QUE NÃO É EVIDENTE SE HAVERÁ OU QUAL SERÁ ESPECIFICAMENTE NAQUELE CASO A CONSEQUÊNCIA CLÍNICA, OU DETECTAR PRESENÇA DE CROMOSSOMO EXTRANUMERÁRIO OU PRESENÇA DE REARRANJOS APARENTEMENTE BALANCEADOS OU REARRANJOS CROMOSSÔMICOS COMPLEXOS?

A detecção de anormalidades estruturais cromossômicas, identificadas por meio de análise citogenética convencional (análise por bandeamento cromossômico, hibridização *in situ*, reação em cadeia da polimerase quantitativa) é estimada em aproximadamente 0,5% dos recém-nascidos<sup>34</sup>(D).

Na maioria dos casos, perfazem anormalidades estruturais aparentemente equilibradas não associadas a fenótipos anormais e podem ser transmitidas por meio de várias gerações, sem detecção. Autores têm demonstrado que a utilização da técnica de CGH-array é importante frente a resultado de cariótipo anormal na medida em que possibilitaria o fornecimento de informações adicionais sobre correlação entre genótipo e fenótipo<sup>35,36</sup>(C).

Utilizando-se da técnica de CGH-array para análise sistemática de 59 rearranjos cromossômicos envolvendo tanto translocações recíprocas “de novo” (27 encontradas em pacientes com fenótipo anormal e 14 em fetos, sendo que nestes à exceção de dois, todos apresentando achados ecográficos pré-natais normais) quanto rearranjos cromossômicos complexos “de novo” (13 em pacientes com fenótipo anormal, 3 em fetos com achados ecográficos normais e 2 em mulheres que tiveram abortamentos de repetição), considerados como balanceados pela análise de cariótipo, observou-se que dos 27 casos com fenótipo anormal, 40% apresentavam rearranjos não-balanceados e 18% eram, ao invés de translocação recíproca “de novo”, rearranjos complexos com mais de três pontos de quebra cromossômica<sup>37</sup>(C). Dos 13 casos com rearranjo cromossômico complexo, 92% apresentavam também microdeleções não detectadas por meio da análise por cariótipo<sup>37</sup>(C).

Aplicando a mesma estratégia de análise em fetos sem anormalidade estrutural identificada à ultrassonografia, o emprego do CGH-array naqueles que apresentavam translocações recíprocas gerou resultado normal. Já nos fetos que apresentavam cariótipo demonstrando rearranjos complexos, foram detectadas microdeleções pela técnica de CGH-array<sup>37</sup>(C).

Analisando retrospectivamente amostras obtidas por meio de amniocentese ou biópsia de vilos coriônicas durante acompanhamento pré-natal indicadas por anormalidades fetais observadas à ultrassonografia, idade materna avançada, história familiar de uma desordem de etiologia desconhecida, ansiedade materna, cariótipo anormal e avaliação bioquímica anormal para aneuploidias, e submetidas à análise pela técnica do CGH-array, de 15 casos (correspondendo a 5,6% dos indivíduos com cariótipo fetal reconhecidamente anormal, porém de significado clínico incerto), 11 (73%) apresentavam um resultado normal à análise do CGH-array, demonstrando que estes rearranjos eram equilibrados<sup>3(C)</sup>.

## Recomendação

A utilização da técnica de CGH-array no auxílio ao diagnóstico etiológico de anormalidades cromossômicas com resultado do exame de cariótipo anormal, porém de interpretação duvidosa, possibilita a ampliação da taxa de detecção de anormalidades cromossômicas causais, podendo esta variar desde 27% (nos casos de cariótipo fetal reconhecidamente anormal, porém de significado clínico incerto) até 40% nos casos onde se evidencia indivíduos com fenótipo anormal e rearranjos cromossômicos balanceado à análise do cariótipo.

## 6. QUAL É O PAPEL DESEMPENHADO PELA TÉCNICA LABORATORIAL DE CGH-ARRAY NO AUXÍLIO AO DIAGNÓSTICO ETIOLÓGICO DE ANORMALIDADES CROMOSSÔMICAS PRÉ-NATAIS OU PÓS-NATAIS QUANDO SE SUSPEITA DE ALTERAÇÃO CROMOSSÔMICA POR MOSAICISMO DE BAIXA FREQUÊNCIA OU MOSAICISMO QUE ANTES DO DESENVOLVIMENTO DA TÉCNICA DE CGH-ARRAY, SÓ ERA DETECTADO COLETANDO MATERIAL BIOLÓGICO DE FORMA INVASIVA?

Em genética, chama-se mosaico a um indivíduo com dois materiais genéticos distintos, porém provenientes do mesmo zigoto. O mosaicismo é um fenômeno em que, apesar de a pessoa possuir duas ou mais linhagens celulares, estas são derivadas de modificações em células de um único embrião, quase sempre em decorrência da perda ou duplicação de cromossomos. Podem ser de linhagem germinativa (comprometendo somente células do ovócito ou espermatozoide e não afetando o indivíduo com o distúrbio causado pela mutação), somática (indivíduo pode ou não ser afetado pela disfunção causada pela mutação na dependência de quantas e quais células foram afetadas) ou uma combinação de ambos. Assim, no mosaico, algumas células são geneticamente iguais às iniciais e outras são modificações destas. O mosaicismo é implicado como causa de defeitos ao nascimento, atrasos no desenvolvimento psicomotor bem como associação a síndromes genéticas bem estabelecidas como a Hipomelanose de Ito e a síndrome de Pallister-Killian<sup>38(D)</sup>.

Aparentemente, o mosaicismo cromossômico trata-se de um fenômeno biológico comum na medida em que estudos analisando fases precoces da clivagem embrionária, após realizada fertilização *in vitro*, sugerem que o mosaicismo cromossômico originário da não disjunção, atrasos na anáfase e rearranjos estruturais estão presentes em mais de 50% dos embriões, em estágio de oito células e mais de 75% nos blastocistos<sup>39(D)</sup>.

A técnica de análise cromossômica por meio de cariótipo, atualmente considerada como padrão ouro na detecção de anormalidades cromossômicas, em virtude da limitada resolução (permite a detecção de alterações superiores a 5 Mb), apresenta falhas na detecção de casos de mosaicismo em baixo grau.

O primeiro estudo que investigou sistematicamente a presença de mosaicismos por meio da técnica de CGH-array, identificou-o em 0,4% dos indivíduos, sendo que 77% destes apresentavam à análise cariotípica resultado normal<sup>40</sup>(C). Dados semelhantes foram encontrados em outro estudo onde indivíduos portadores de anomalias congênicas e características dismórficas, submetidos à técnica de CGH-array, possibilitou a identificação de casos de mosaico em 0,4% dos pacientes, sendo que destes, 75% apresentavam análise cariotípica normal<sup>1</sup>(C).

Os dados encontrados reforçam a tese de que, no que se refere à detecção de mosaicismos por CGH-array, talvez o fato mais significativo seja a comprovação de que como na realização da análise por meio desta técnica não há necessidade de estimulação do crescimento celular por fitohemaglutinina, como classicamente é realizado na análise por cariótipo, não há distorção da porcentagem de células com mosaicismos e nem inibição da detecção de anormalidades em mosaico, fenômenos que reconhecidamente geram um viés na avaliação de mosaicismos pelo cariótipo<sup>40</sup>(C).

Outro estudo analisando a validação do uso da técnica de CGH-array para diagnóstico de mosaicismos cromossômicos em pacientes apresentando algum grau de anormalidade fenotípica, incluindo atrasos no desenvolvimento e dificuldades de aprendizagem, detectou mosaicismos autossômicos em 0,3% dos indivíduos dos quais 75% não havia nenhuma suspeita clínica prévia de mosaicismos<sup>41</sup>(C).

## Recomendação

A utilização da técnica de CGH-array em indivíduos portadores de anomalias congênicas e características dismórficas permite a

identificação do mosaicismos cromossômicos em aproximadamente 0,4% dos pacientes. O CGH-array permite identificar cerca de 70 a 80% dos pacientes com mosaicismos que não seriam detectados apenas com o emprego do cariótipo e reduz a invasibilidade da biópsia de pele detectando mosaicismos que antes do desenvolvimento da técnica de CGH-array só era detectado coletando material biológico de forma invasiva.

## 7. QUAL É O PAPEL DESEMPENHADO PELA TÉCNICA LABORATORIAL DE CGH-ARRAY NO AUXÍLIO AO DIAGNÓSTICO ETIOLÓGICO DE INDIVÍDUOS COM ANOMALIA CONGÊNITA E/OU DISMORFISMO QUANDO O RESULTADO DO CARIÓTIPO É NORMAL?

Os rearranjos cromossômicos não balanceados, incluindo deleções, duplicações e translocações representam a principal alteração encontrada nas anomalias congênicas e dismorfismo. A utilização de técnica citogenética convencional, como o cariótipo, possibilita a identificação de aneuploidias, translocações não balanceadas, inserções e duplicações, desde que o tamanho seja de pelo menos 5 Mb. Desta maneira, a utilização da técnica de CGH-array possibilita uma maior resolução na medida em que permite a verificação de perdas ou ganhos em segmentos cromossômicos submicroscópicos, comportando a detecção de ganhos ou perdas de número de cópias muito pequenas.

Estudo avaliando neonatos e crianças com até 84 dias de vida (12% com avaliação cariotípica normal e o restante desconhecida) submetidos à análise por meio da técnica de CGH-array indicada por apresentarem dismorfismos e/ou anomalias congênicas (em especial do sistema

nervoso central, cardíacas e esqueléticas) encontrou anormalidades cromossômicas causais em 11,4% dos indivíduos, sendo os tipos mais comuns as deleções intersticiais e anormalidades em regiões subteloméricas<sup>42</sup>(C). Ao se analisar casos onde a técnica do CGH-array foi indicada por anormalidades estruturais fetais identificadas por intermédio da ultrassonografia realizada no acompanhamento do pré-natal (72,8% dos casos), apenas dois (1,3%) demonstraram anormalidades cromossômicas<sup>42</sup>(C).

Análise de neonatos portadores de anomalias congênitas submetidos à avaliação genômica por meio do emprego da técnica de CGH-array demonstra que 16,5% dos pacientes foram identificados como portadores de anormalidades genômicas não balanceadas clinicamente significativas. As taxas de detecção variaram de acordo com as indicações clínicas, sendo de 66,7% para

“possíveis anormalidades cromossômicas”; 33,3% para genitália ambígua; 27,1% para dismorfismos com anomalias congênitas múltiplas; 24,6% para dismorfismos; 21,8% para cardiopatias congênitas; 17,9% para anomalias congênitas múltiplas e 9,5% para outras indicações<sup>43</sup>(C).

## Recomendação

A utilização da técnica laboratorial de CGH-array no auxílio ao diagnóstico etiológico de indivíduos com anomalia congênita e/ou dismorfismo, possibilita uma maior identificação de anormalidades cromossômicas causais com taxas que variam de 11% a 16%.

## CONFLITO DE INTERESSE

raskin S: É proprietário de laboratório de análises clínicas da área de genética médica.

## REFERÊNCIAS

1. Cheung SW, Shaw CA, Scott DA, Patel A, Sahoo T, Bacino CA, et al. Microarray-based CGH detects chromosomal mosaicism not revealed by conventional cytogenetics. *Am J Med Genet A* 2007;143A:1679-86.
2. Darilek S, Ward P, Pursley A, Plunkett K, Furman P, Magoulas P, et al. Pre- and postnatal genetic testing by array-comparative genomic hybridization: genetic counseling perspectives. *Genet Med* 2008;10:13-8.
3. Maya I, Davidov B, Gershovitz L, Zalstein Y, Taub E, Coppinger J, et al. Diagnostic utility of array-based comparative genomic hybridization (aCGH) in a prenatal setting. *Prenat Diagn* 2010;30:1131-7.
4. Jansen RP. Spontaneous abortion incidence in the treatment of infertility. *Am J Obstet Gynecol* 1982;143:451-73.
5. Warren JE, Silver RM. Genetics of pregnancy loss. *Clin Obstet Gynecol* 2008;51:84-95.
6. Maconochie N, Doyle P, Prior S, Simmons R. Risk factors for first trimester miscarriage--results from a UK-population-based case-control study. *BJOG* 2007;114:170-86.
7. Zhang YX, Zhang YP, Gu Y, Guan FJ, Li SL, Xie JS, et al. Genetic analysis of first-trimester miscarriages with a combination of cytogenetic karyotyping, microsatellite genotyping and arrayCGH. *Clin Genet* 2009;75:133-40.
8. Menasha J, Levy B, Hirschhorn K, Kardon NB. Incidence and spectrum of chromosome abnormalities in spontaneous abortions: new insights from a 12-year study. *Genet Med* 2005;7:251-63.
9. Goddijn M, Leschot NJ. Genetic aspects of miscarriage. *Baillieres Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol* 2000;14:855-65.
10. Rai R, Clifford K, Regan L. The modern preventative treatment of recurrent miscarriage. *Br J Obstet Gynaecol* 1996;103:106-10.
11. Rai R, Regan L. Recurrent miscarriage. *Lancet* 2006;368:601-11.
12. Yang CJ, Stone P, Stewart AW. The epidemiology of recurrent miscarriage: a descriptive study of 1214 prepregnant women with recurrent miscarriage. *Aust N Z J Obstet Gynaecol* 2006;46:316-22.
13. Dória S, Carvalho F, Ramalho C, Lima V, Francisco T, Machado AP, et al. An efficient protocol for the detection of chromosomal abnormalities in spontaneous miscarriages or foetal deaths. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 2009;147:144-50.
14. Rajcan-Separovic E, Diego-Alvarez D, Robinson WP, Tyson C, Qiao Y, et al. Identification of copy number variants in miscarriages from couples with idiopathic recurrent pregnancy loss. *Hum Reprod* 2010;25:2913-22.

15. Van den Veyver IB, Patel A, Shaw CA, Pursley AN, Kang SH, Simovich MJ, et al. Clinical use of array comparative genomic hybridization (aCGH) for prenatal diagnosis in 300 cases. *Prenat Diagn* 2009;29:29-39.
16. Coppinger J, Alliman S, Lamb AN, Torchia BS, Bejjani BA, Shaffer LG. Whole-genome microarray analysis in prenatal specimens identifies clinically significant chromosome alterations without increase in results of unclear significance compared to targeted microarray. *Prenat Diagn* 2009;29:1156-66.
17. Leung TY, Vogel I, Lau TK, Chong W, Hyett JA, Petersen OB, et al. Identification of submicroscopic chromosomal aberrations in fetuses with increased nuchal translucency and an apparently normal karyotype. *Ultrasound Obstet Gynecol* 2011;38:314-9.
18. Hillman SC, Pretlove S, Coomarasamy A, McMullan DJ, Davison EV, Maher ER, et al. Additional information from array comparative genomic hybridization technology over conventional karyotyping in prenatal diagnosis: a systematic review and meta-analysis. *Ultrasound Obstet Gynecol* 2011;37:6-14.
19. Hughes IA, Houk C, Ahmed SF, Lee PA; LWPEP Consensus Group; ESPE Consensus Group. Consensus statement on management of intersex disorders. *Arch Dis Child*. 2006;91:554-63.
20. Porter FD. Smith-Lemli-Opitz syndrome: pathogenesis, diagnosis and management. *Eur J Hum Genet* 2008;16:535-41.
21. Sultan C, Biason-Lauber A, Philibert P. Mayer-Rokitansky-Kuster-Hauser syndrome: recent clinical and genetic findings. *Gynecol Endocrinol* 2009;25:8-11.
22. Cox MJ, Coplen DE, Austin PF. The incidence of disorders of sexual differentiation and chromosomal abnormalities of cryptorchidism and hypospadias stratified by meatal location. *J Urol* 2008;180:2649-52.
23. Moreno-Garcia M, Miranda EB. Chromosomal anomalies in cryptorchidism and hypospadias. *J Urol* 2002;168:2170-2.
24. Tannour-Louet M, Han S, Corbett ST, Louet JF, Yatsenko S, Meyers L, et al. Identification of de novo copy number variants associated with human disorders of sexual development. *PLoS One* 2010;5:e15392.
25. Ledig S, Hiort O, Scherer G, Hoffmann M, Wolff G, Morlot S, et al. Array-CGH analysis in patients with syndromic and non-syndromic XY gonadal dysgenesis: evaluation of array CGH as diagnostic tool and search for new candidate loci. *Hum Reprod* 2010;25:2637-46.
26. Li M, Squire JA, Weksberg R. Molecular genetics of Wiedemann-Beckwith syndrome. *Am J Med Genet* 1998;79:253-9.
27. Neri G, Gurrieri F, Zanni G, Lin A. Clinical and molecular aspects of the Simpson-Golabi-Behmel syndrome. *Am J Med Genet* 1998;79: 279-83.

28. Kurotaki N, Imaizumi K, Harada N, Masuno M, Kondoh T, Nagai T, et al. Haploinsufficiency of NSD1 causes Sotos syndrome. *Nat Genet* 2002;30:365-6.
29. Partington MW, Façan K, Soubjaki V, Turner G. Translocations involving 4p16.3 in three families: deletion causing the Pitt-Rogers-Danks syndrome and duplication resulting in a new overgrowth syndrome. *J Med Genet* 1997;34:719-28.
30. Faivre L, Gosset P, Cormier-Daire V, Odent S, Amiel J, Giurgea I, et al. Overgrowth and trisomy 15q26.1-qter including the IGF1 receptor gene: report of two families and review of the literature. *Eur J Hum Genet* 2002;10:699-706.
31. Tatton-Brown K, Pilz DT, Orstavik KH, Patton M, Barber JC, Collinson MN, et al. 15q overgrowth syndrome: a newly recognized phenotype associated with overgrowth, learning difficulties, characteristic facial appearance, renal anomalies and increased dosage of distal chromosome 15q. *Am J Med Genet A* 2009;149A:147-54.
32. Redon R, Baujat G, Sanlaville D, Le Merrier M, Vekemans M, Munnich A, et al. Interstitial 9q22.3 microdeletion: clinical and molecular characterisation of a newly recognised overgrowth syndrome. *Eur J Hum Genet* 2006;14:759-67.
33. Malan V, Chevallier S, Soler G, Coubes C, Lacombe D, Pasquier L, et al. Array-based comparative genomic hybridization identifies a high frequency of copy number variations in patients with syndromic overgrowth. *Eur J Hum Genet* 2010;18:227-32.
34. Jacobs PA, Browne C, Gregson N, Joyce C, White H. Estimates of the frequency of chromosome abnormalities detectable in unselected newborns using moderate levels of banding. *J Med Genet* 1992;29:103-8.
35. Ciccone R, Giorda R, Gregato G, Guerrini R, Giglio S, Carozzo R, et al. Reciprocal translocations: a trap for cytogenetists? *Hum Genet* 2005;117:571-82.
36. Johnston JJ, Sapp JC, Turner JT, Amor D, Aftimos S, Aleck KA, et al. Molecular analysis expands the spectrum of phenotypes associated with GLI3 mutations. *Hum Mutat* 2010;31:1142-54.
37. De Gregori M, Ciccone R, Magini P, Pramparo T, Gimelli S, Messa J, et al. Cryptic deletions are a common finding in "balanced" reciprocal and complex chromosome rearrangements: a study of 59 patients. *J Med Genet* 2007;44:750-62.
38. Taibjee SM, Bennett DC, Moss C. Abnormal pigmentation in hypomelanosis of Ito and pigmentary mosaicism: the role of pigmentary genes. *Br J Dermatol* 2004;151:269-82.
39. Los FJ, Van Opstal D, van den Berg C. The development of cytogenetically normal, abnormal and mosaic embryos: a theoretical model. *Hum Reprod Update* 2004;10:79-94.

40. Ballif BC, Rorem EA, Sundin K, Lincicum M, Gaskin S, Coppinger J, et al. Detection of low-level mosaicism by array CGH in routine diagnostic specimens. *Am J Med Genet A* 2006;140:2757-67.
41. Hoang S, Ahn J, Mann K, Bint S, Mansour S, Homfray T, et al. Detection of mosaicism for genome imbalance in a cohort of 3,042 clinical cases using an oligonucleotide array CGH platform. *Eur J Med Genet* 2011;54:121-9.
42. Shaffer LG, Coppinger J, Alliman S, Torchia BA, Theisen A, Ballif BC, et al. Comparison of microarray-based detection rates for cytogenetic abnormalities in prenatal and neonatal specimens. *Prenat Diagn* 2008;28:789-95.
43. Lu X, Shaw CA, Patel A, Li J, Cooper ML, Wells WR, et al. Clinical implementation of chromosomal microarray analysis: summary of 2513 postnatal cases. *PLoS One* 2007;2:e327.