

## Alterações Genéticas Submicroscópicas: parte I

*Autoria: Sociedade Brasileira de Genética Médica*

---

**Elaboração Final:** 27 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, developmental delay, mental retardation, developmental disabilities, balanced translocation, unbalanced translocation, chromosomal rearrangements, dysmorphism, mosaicism, autistic disorder, schizophrenia, attention-deficit/hyperactivity disorder, epilepsy.*

## **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 o transtorno do espectro autista, esquizofrenia, transtorno do déficit de atenção ou hiperatividade, epilepsia idiopática e atraso no desenvolvimento psicomotor ou deficiência mental.

## **CONFLITO DE INTERESSE:**

Os conflitos de interesse declarados pelos participantes da elaboração desta diretriz estão detalhados na página 11.

## INTRODUÇÃO

A citogenética é a parte da genética que estuda os cromossomos, especialmente com alterações numéricas e estruturais, e suas implicações em patologias herdadas ou esporádicas. Cinquenta e seis anos atrás, Tijo e Levan descreveram o número normal de cromossomos humanos e abriram as portas para a identificação de alterações cromossômicas numéricas. Há 40 anos é possível realizar a confirmação diagnóstica de alterações cromossômicas estruturais por meio do cariótipo com bandeamento. Porém, uma grande limitação do cariótipo é que a sua resolução é aquela do microscópio óptico, ou seja, detecta alterações estruturais maiores do que cerca de 10 Mb (dez milhões de bases nitrogenadas). Além disto, o cariótipo não fornece informações sobre o conteúdo gênico das alterações que detecta. A realização de cariótipo exige cultivo celular, que é trabalhoso, demorado, difícil e sujeito a falhas, em especial em amostras biológicas de material de aborto, natimortos, fetos e quando se suspeita de mosaicismos cromossômicos.

Nos últimos vinte anos foram desenvolvidas novas técnicas na tentativa de minimizar estas limitações do cariótipo, com destaque para a hibridização *in situ* por fluorescência (FISH) e amplificação dependente de ligação por múltiplas sondas (MLPA). Estas técnicas passaram a permitir a detecção não só de grandes anormalidades cromossômicas estruturais, mas em especial aquelas menores do que 10 Mb, possibilitando definir a etiologia de quadros clínicos cujas causas eram até então indefinidas.

Porém, para solicitar exame por FISH ou MLPA, o exato e único local do genoma a ser interrogado pelo médico deve ser previamente escolhido, e a alteração cromossômica submicroscópica e suas consequências clínicas já devem ter suas bases amplamente definidas na literatura científica médica. Portanto, para que o resultado de análises genéticas por FISH ou MLPA seja eficiente, o médico que solicita estes exames deve ter grande habilidade clínica, em especial em dismorfologia, pois baseado em uma hipótese clínica deve solicitar a análise daquele local específico do genoma que é reconhecidamente alterado naquela patologia. Além desta grande desvantagem, FISH é geralmente realizado em células em metáfase, nas quais duplicações cromossômicas geralmente não serão detectadas<sup>1</sup>(D).

Mais recentemente, na tentativa de ultrapassar as limitações de cariótipo, FISH e MLPA, foi desenvolvida a técnica de análise de todo o genoma por hibridização comparativa em microarranjos de DNA “ARRAY - Comparative Genomic Hybridization” (CGH-array), o qual permite detectar tanto alterações cromossômicas numéricas, grandes deleções e duplicações, quanto desbalanços cromossômicos de até 500 pares de bases. Permite verificar se há perdas ou ganhos de segmentos cromossômicos sub-microscópicos no genoma de um indivíduo<sup>2</sup>(D). Seus resultados conferem informação não apenas sobre a extensão e localização precisa da alteração, mas correlaciona-as com o mapa físico e genético do genoma humano, permitindo identificar qual(is) gene(s) está(ão) envolvido(s) na alteração.

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>3</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>4</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, no qual receberão informações que incluirão a explanação sobre as limitações do CGH-array nos testes pré-natais<sup>5</sup>(C).

## **1. QUAL É O PAPEL DESEMPENHADO PELA TÉCNICA LABORATORIAL DE CGH-ARRAY NO AUXÍLIO AO DIAGNÓSTICO ETIOLÓGICO DE INDIVÍDUOS COM TRANSTORNO DO ESPECTRO AUTISTA (TEA)?**

O transtorno do espectro autista (TEA), também referido por desordem do espectro autista (DEA) é considerado um conjunto heterogêneo de síndromes clínicas caracterizado por anormalidades generalizadas de interação social, de comunicação verbal e não verbal e comportamento altamente repetitivo e estereotipado. Com início precoce e curso crônico, infringe impacto variável em áreas múltiplas e nucleares do desenvolvimento, desde o estabelecimento da subjetividade e das relações pessoais, passando pela linguagem e comunicação, até o aprendizado e as capacidades adaptativas, variando em um *continuum* desde formas mais leves até as mais graves<sup>6</sup>(D). Compromete, com maior frequência, indivíduos do sexo masculino, demonstrando, ao se considerar todo o espectro, acometimento variável de 3-6 para cada 1.000 crianças<sup>7</sup>(B)<sup>8,9</sup>(C).

Os sistemas diagnósticos (DSM-IV e CID-10) têm baseado seus critérios em problemas apresentados em três áreas, com início antes dos três anos de idade que são: comprometimento na interação social; comprometimento na comunicação verbal e não-verbal e comportamento e interesses restritos e repetitivos. Desta forma, o diagnóstico do transtorno do espectro autista é baseado em uma anamnese dirigida e observação clínica, utilizando-se para tanto de ferramentas específicas, como o *Autism Diagnostic Interview – revised* (ADI-R) e o *Autism Diagnostic Observation Schedule–Generic* (ADOS) tendo este último demonstrado confiabilidade diagnóstica na medida em que provoca comportamentos sociais relevantes ao invés de confiar no que é espontaneamente manifestado pela criança ou jovem<sup>10,11</sup>(C). Entretanto devem ser utilizados com precaução em crianças abaixo dos dois anos de idade, nos quais o comportamento típico do transtorno não é evidente.

De causa desconhecida, fatores genéticos têm sido associados à doença, sendo que apenas 10% dos indivíduos, apresentam etiologia identificável<sup>12</sup>(D). Estudos sugerem bases genéticas, incluindo anormalidades cromossômicas (ex: deleção em 2qter; 22qter e duplicação da região 15q11–q13, crítica para a síndrome de Prader-Willi/Angelman) bem como distúrbios de um único gene (ex: síndrome do X-frágil, mutações nos genes SHANK3, NLGN3, NLGN4), sendo demonstrado padrão de herança familiar, com taxas de recorrência em irmãos de uma criança autista de 2 a 8%, sendo esta superior à da população geral<sup>13</sup>(D). Além disso, estudos com gêmeos monozigóticos demonstram uma maior taxa de concordância nestes em detrimento aos gêmeos dizigóticos (90% e 10% respectivamente)<sup>14,15</sup>(C)<sup>12,16</sup>(D). Uma minoria

de casos relaciona-se ainda a outras condições, incluindo a esclerose tuberosa, fenilcetonúria e causas infecciosas como a embriopatia pela rubéola, a infecção pré-natal por citomegalovírus e a toxoplasmose congênita<sup>17,18</sup>(C)<sup>19</sup>(D). É também demonstrada a importância que a ocorrência das deleções e duplicações *de novo* desempenham na etiologia do TEA<sup>20</sup>(C).

Nesse contexto, os estudos citogenéticos visando o estabelecimento de um diagnóstico definitivo (etiológico) do transtorno do espectro autista é o desejável, possibilitando, por conseguinte a exclusão de condições que necessitam de seguimento médico significativamente diferente daquele resultante de anormalidade cromossômica<sup>19</sup>(D). Além do mais, do ponto de vista pessoal e familiar, o estabelecimento de diagnóstico definitivo do TEA pode auxiliar a lidar com a ansiedade, obtenção de melhor informação prognóstica e estabelecimento de melhores modelos de cuidados<sup>21</sup>(D).

O exame citogenético clássico frequentemente recomendado para o diagnóstico etiológico do transtorno do espectro autista, é o cariótipo, o qual possibilita, entretanto, a identificação da alteração em número restrito de indivíduos (aproximadamente 5%), em virtude da impossibilidade deste teste em detectar alterações genômicas submicroscópicas, como deleções e duplicações com número de cópias de segmento de DNA (copy number variation CNV) inferiores a 5 Mb<sup>22</sup>(D). Desta maneira, no que se refere à utilidade clínica do emprego da técnica laboratorial de CGH-array no auxílio ao diagnóstico etiológico do TEA, observa-se taxa de detecção de alterações cromossômicas estruturais maior do que com qualquer outro exame.

Analisando-se pacientes com idade entre 13 meses e 15 anos com diagnóstico clínico de transtorno do espectro autista e testados por meio de cariótipo e CGH-array, demonstrase, à análise de cariótipo resultado anormal em 2,2% dos pacientes (IC95%: 1,73% a 2,73%); em detrimento ao CGH-array que demonstra resultado anormal em 18,2% (IC95%: 14,7% a 21,6%), sendo que destas alterações, apenas em 7% (IC95%: 5,5% a 8,5%) a alteração detectada era considerada clinicamente significativa, isto é, associada a desordem genômica conhecida ou variante possivelmente significativa<sup>23</sup>(B). Por outro lado, a técnica de CGH-array não permitiu demonstrar anormalidade em 1,2% dos pacientes que apresentavam cariótipo anormal, em virtude destas alterações serem decorrentes de translocações balanceadas. Comparando-se a técnica de CGH-array ao cariótipo (frequentemente recomendado), observa-se naquela sensibilidade e especificidade de 42% e 93% respectivamente, com razão de verossimilhança igual a 6<sup>23</sup>(B). Outro estudo, incluindo casos em investigação genética para o TEA (indicação clínica de transtorno do espectro autista) e submetendo-os à análise por meio da técnica do CGH-array, possibilitou o encontro de alterações cromossômicas causais em 11,6% dos indivíduos<sup>24</sup>(C).

## Recomendação

O diagnóstico do transtorno do espectro autista é clínico. A utilização da técnica de CGH-array na investigação etiológica de indivíduos que cumprem os critérios diagnósticos do TEA (DSM-IV e CID-10) contribui para a elucidação diagnóstica (estabelecimento do diagnóstico genético de significado clínico) em cerca de 7% dos casos, demonstrando sensibilidade e especificidade de 42% e 93%

respectivamente ao se comparar ao cariótipo. Apesar de possibilitar o diagnóstico etiológico em 7% dos indivíduos, em virtude da ausência de padrão ouro (para o diagnóstico genético), não se pode calcular o número de resultados falso-positivos e negativos. Portanto, 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.

## 2. QUAL É O PAPEL DA TÉCNICA LABORATORIAL DE CGH-ARRAY NO DIAGNÓSTICO ETIOLÓGICO DE INDIVÍDUOS COM ESQUIZOFRENIA?

Reconhecida como um transtorno mental grave de evolução crônica e com prevalência em diferentes populações estimada em torno de 1%, a esquizofrenia é uma doença complexa, causada por fatores genéticos, ambientais bem como de suas interações<sup>25</sup>(D). Trata-se de um transtorno neuropsiquiátrico severo que se caracteriza classicamente por alterações do pensamento, alucinações (visuais, sinestésicas, e, sobretudo auditivas), delírios e alterações no contato com a realidade. A etiologia permanece incerta, admitindo-se que várias desordens concorram entre si para o seu aparecimento como alterações bioquímicas (teoria de neurotransmissores) e estruturais do cérebro (hipótese neurodesenvolvimental) bem como outros transtornos<sup>26,27</sup>(C)<sup>28,29</sup>(D). Apresenta forte componente genético, indicado pela herdabilidade estimada em torno de 85%, admitindo-se um risco de recorrência 10 vezes maior em familiares de primeiro grau de indivíduo acometido<sup>30</sup>(D). Além do mais, apresenta taxa de concordância para gêmeos monozigóticos estimada em 44%,

o que implica o fato de que ser gêmeo mono- zigótico de um paciente esquizofrênico constitui o maior fator de risco isolado para esquizofrenia<sup>31</sup>(C). Mais recentemente, reconhece-se a possibilidade de que o uso de substâncias psicoativas podem ser responsáveis pelo desencadeamento de surtos e afloração de quadros psicóticos<sup>32</sup>(B)<sup>33</sup>(C).

A demonstração de um dos fatores causais mais seguramente implicados no desenvolvimento da esquizofrenia origina-se dos estudos em genética epidemiológica que, por meio de mais de oito décadas de investigações, confirmaram a influência genética para o trans- torno. A evidência de facilitação genética na esquizofrenia, o padrão de herança, número e tipo de variantes genéticas envolvidas não são completamente compreendidos sendo que variações estruturais associadas podem envolver vários genes<sup>34</sup>(B).

Consórcio internacional para estudo da esquizofrenia constituído por vários centros de investigação norte-americanos e europeus, analisando por meio da técnica de CGH-array pacientes com diagnóstico de esquizofrenia e grupo controle, reportou em ambos alterações no número de cópias de segmento de DNA (copy number variation CNV) sendo estas mais frequentes nos pacientes com esquizofrenia em detrimento aos controles (razão de casos/ controle de 1,15 para deleções e duplicações), sendo os achados mais proeminentes as deleções cromossômicas submicroscópicas detectadas em 1q21.1, 15q13.3 e 22q11<sup>34</sup>(B).

Investigando-se o envolvimento de raras variantes submicroscópicas (CNVs) em pa- cientes com diagnóstico de esquizofrenia e

outras desordens esquizoafetivas por meio de genotipagem por SNPs-array. (single nucleotide polymorphism - array), tipo de *microarray* de DNA, observou-se a presença destas alterações constituídas por deleções e duplicações (< 200 Kb; 200-500 Kb; 500-1 Mb e > 1 Mb) tanto em pacientes com esquizofrenia quanto nos controles sendo todavia mais frequentes nos pacientes com esquizofrenia, sobretudo as deleções e duplicações > 1 Mb (razão de casos/controlado de 2,26) com o efeito determinado principalmente pelas deleções (razão de casos/controlado de 4,53), identifica- das nos *loci* 22q11.2 e 17p12<sup>35</sup>(C). Com relação às duplicações > 1 Mb somente o locus 16p13.1 esteve presente em mais de um caso (três pacientes no total), sendo também relatada em seis controles<sup>35</sup>(C).

Utilizando-se de estratégia baseada em busca inicial de alterações submicroscópicas em uma grande amostra populacional, em trios (pai/mãe/filho) com esquizofrenia, para identificar variabilidades que ocorreram *de novo* na geração do filho com esquizofrenia, detectaram-se 66 variantes submicroscópi- cas presentes nos filhos e ausentes nos pais. Estas 66 variantes foram então testadas em estudo de associação utilizando-se amostra de pacientes diagnosticados com esquizofrenia sendo detectado microdeleções cromossômi- cas submicroscópicas em 1q21.1, 15q11.2 e 15q13.3, que foram replicados em uma amos- tra ainda maior. Dos casos testados, 0,23% tinham a microdeleção em 1q21.1 compara- dos a 0,02% dos controles; 0,55% tinham a microdeleção em 15q11.2 em detrimento a 0,19% dos controles e 0,17% apresentavam microdeleção em 15q13.3 em comparação a 0,02% do grupo controle<sup>36</sup>(B).

Descreve-se ainda a associação existente entre esquizofrenia e microduplicação do locus 16p11.2, sendo esta encontrada em 0,63% dos casos em detrimento a 0,03% dos controles<sup>37</sup>(B).

## Recomendação

Há suficientes evidências da presença de um componente genético familiar substancial na origem da esquizofrenia. A presença das microdeleções e microduplicações estão relacionadas a aumento no risco de desenvolvimento da doença, sendo a taxa de detecção das CNVs pelo CGH-array (tanto deleções quanto duplicações > 1 Mb) maiores nos pacientes com diagnóstico de esquizofrenia em detrimento aos controles (razão de casos/controlado de 2,26). Apesar de não haver evidência de impacto na terapêutica ou prognóstico nesses pacientes, frente ao conhecimento da alteração cromossômica, a critério do médico, a técnica de CGH-array pode ser solicitada a fim de contribuir com o diagnóstico etiológico genético. Sabendo-se que o índice de falso-positivo não é desprezível, 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.

### **3. QUAL É O PAPEL DESEMPENHADO PELA TÉCNICA LABORATORIAL DE CGH-ARRAY NO DIAGNÓSTICO ETIOLÓGICO DE INDIVÍDUOS COM TRANSTORNO DO DÉFICIT DE ATENÇÃO OU HIPERATIVIDADE (TDAH)?**

O *déficit* de atenção ou hiperatividade é um dos transtornos psiquiátricos mais co-

muns da infância e adolescência e se baseia nos sintomas persistentes de desatenção e hiperatividade. Tais aspectos são normalmente encontrados em pessoas sem o problema, mas para haver o diagnóstico desse transtorno a tríade sintomatológica clássica caracteriza-se por desatenção, hiperatividade e impulsividade que devem interferir significativamente na vida e no desenvolvimento normal da criança ou do adulto<sup>38</sup>(D). Estudos nacionais e internacionais situam a prevalência do transtorno de *déficit* de atenção/hiperatividade (TDAH) entre 3% e 6%, sendo realizados com crianças em idade escolar na sua maioria<sup>39</sup>(B). O diagnóstico do TDAH é fundamentalmente clínico, baseado em critérios operacionais claros e bem definidos, provenientes de sistemas classificatórios como o DSM-IV ou CID-10<sup>40</sup>(D).

Embora as causas precisas do TDAH não estejam esclarecidas, a influência de fatores genéticos é fortemente sugerida<sup>41</sup>(D). Estudos de famílias com diagnóstico de TDAH demonstram consistentemente recorrência familiar significativa para este transtorno, sendo que o risco para o TDAH parece ser de duas a oito vezes maior nos pais das crianças afetadas quando comparada a população em geral<sup>42,43</sup>(D).

Estudo visando a análise de alterações cromossômicas no genoma de crianças com idade entre 5 e 17 anos (média etária de 10,5 anos) que preenchem o critério diagnóstico de TDAH (DSM-IV ou CID-10), mas não de autismo ou esquizofrenia, identificou número significativo de grandes alterações submicroscópicas (deleções e duplicações) em comparação aos controles, dos quais o histórico



psiquiátrico não era conhecido. Foi observada taxa de variação no número de cópias de DNA (CNVs) de 14% para os casos em detrimento a 7% para os controles, com razão entre casos/controlado igual a 2,09<sup>44</sup>(C).

Além da genética, A exposição materna ao álcool e/ou tabagismo durante a gestação e depressão materna podem ser fatores predisponentes ao transtorno<sup>45</sup>(C). Fatores orgânicos como atraso no amadurecimento de determinadas áreas cerebrais, e alterações em alguns de seus circuitos estão atualmente relacionados com o aparecimento dos sintomas. Além disso, a exposição a eventos psicológicos estressantes, como perturbação no equilíbrio familiar, ou outros fatores geradores de ansiedade, podem agir como desencadeadores ou mantenedores dos sintomas.

## Recomendação

O diagnóstico do TDAH é clínico. Alterações cromossômicas submicroscópicas identificadas por meio da técnica do CGH-array são encontradas tanto nos indivíduos que preenchem critério diagnóstico de TDAH (DSM-IV ou CID-10) quanto em controles, entretanto mais frequentemente detectadas nos pacientes diagnosticados como portadores do transtorno de *déficit* de atenção ou hiperatividade (razão entre casos/controlado igual a 2,09). Apesar de não haver evidência de impacto na terapêutica ou prognóstico nesses pacientes frente a solicitação do exame, a critério do médico, a técnica do CGH-array pode ser solicitada a fim de contribuir com o diagnóstico etiológico. Sabendo-se que o índice de falso-positivo não é desprezível, 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.

## 4. QUAL É O PAPEL DA TÉCNICA LABORATORIAL DE CGH-ARRAY NO DIAGNÓSTICO ETIOLÓGICO DE EPILEPSIA IDIOPÁTICA?

Epilepsia é um tipo de disfunção cerebral caracterizada clinicamente por alterações comportamentais súbitas espontâneas (crises epiléticas), que tendem a se repetir ao longo da vida do paciente. Trata-se de condição neurológica crônica comum (prevalência de aproximadamente 1%), complexa e multifatorial, afetando indivíduos de todas as idades<sup>46</sup>(D). A causa específica da epilepsia permanece indeterminada em mais de 50% dos pacientes sendo que a atividade epilética cerebral pode ser desencadeada por diversos fatores. Na infância, a maioria é idiopática, enquanto em adultos é secundária a causas identificáveis. É nas epilepsias idiopáticas que a predisposição genética se apresenta de maneira mais marcante<sup>47-49</sup>(D).

A maioria das síndromes epiléticas comuns possui padrões complexos de herança que ainda necessitam de definição. A aplicação da técnica de CGH-array em indivíduos com várias formas de epilepsia idiopática não-lesional, entre elas epilepsia mioclônica juvenil, epilepsia tipo ausência, epilepsia generalizada idiopática, epilepsia idiopática, epilepsia de início na infância, detectou alterações cromossômicas submicroscópicas consideradas causais em 8,9% dos indivíduos. Em especial, detectou-se que 2,9% dos pacientes

apresentavam microdeleções em 15q11.2, 15q13.3, ou 16p13.11, *loci* genéticos previamente associados com deficiência mental, autismo e transtorno do *déficit* de atenção ou hiperatividade, achados que indicam que rearranjos cromossômicos submicroscópicos estão envolvidas na etiopatogenia de uma gama muito mais ampla de epilepsias focais e generalizadas do que até então havia sido provado<sup>50</sup>(C).

## Recomendação

○ estabelecimento da condição epiléptica é um processo complexo e multifatorial, dependente de interações entre fatores epileptogênicos e o componente genético do indivíduo. A aplicação da técnica de CGH-array, possibilita a identificação de alterações cromossômicas submicroscópicas consideradas causais em 8,9% dos indivíduos portadores de epilepsia idiopática não-lesional. Desta maneira, em virtude da reduzida sensibilidade, características específicas da epilepsia, doenças associadas e antecedentes familiares são extremamente importantes, ao considerar a utilidade clínica deste teste genético, que a critério do médico, pode ser solicitado a fim de contribuir com o diagnóstico etiológico.

## 5. QUAL É O PAPEL DA TÉCNICA LABORATORIAL DE CGH-ARRAY NO DIAGNÓSTICO ETIOLÓGICO DE ATRASO NO DESENVOLVIMENTO PSICOMOTOR OU DEFICIÊNCIA MENTAL, QUANDO O RESULTADO DO EXAME DE CARIÓTIPO É NORMAL?

○ atraso no desenvolvimento psicomotor (ADPM) é definido como um atraso significativo em vários domínios do desenvolvimento como motricidade fina e/ou grosseira, lingua-

gem, cognição, competências sociais e pessoais e atividades da vida diária. Qualquer destes domínios pode estar mais ou menos comprometido e assim o ADPM apresenta-se como uma entidade heterogênea, não apenas na sua etiologia, mas também no seu perfil fenotípico. A prevalência é desconhecida, mas estimada em torno de 1 a 3% das crianças abaixo dos cinco anos de idade<sup>51-53</sup>(D).

A determinação do diagnóstico etiológico é um desafio devido à heterogeneidade de fatores causais associados a essa manifestação, que pode resultar de causas genéticas, exposição a fatores deletérios do ambiente, ou ainda da interação de ambos. Entre as causas genéticas destacam-se as anomalias cromossômicas, presentes em cerca de 10% dos indivíduos sendo mais comuns as autossômicas, com ênfase para a síndrome de Down<sup>54</sup>(D).

História clínica e exame físico detalhados representam a base da investigação diagnóstica em indivíduos com atraso no desenvolvimento psicomotor, sendo a detecção laboratorial de alterações genéticas por meio de análise citogenética justificada nos casos onde o diagnóstico etiológico não poderia ser feito utilizando-se de outras propedêuticas atualmente existentes, pensando-se no aconselhamento genético, incluindo estimativas de risco de recorrência e quando indicado, futuro diagnóstico pré-implantacional, pré-natal ou neonatal, assim como testes de familiares em risco de serem portadores ou afetados. Desta maneira, o estabelecimento de diagnóstico exato, e conseqüente compreensão da doença permitem oferecer ao paciente e seus familiares uma informação prognóstica mais precisa bem como estabelecer uma programação de monitoramento periódico em longo prazo que

permita ao médico se antecipar às complicações mais frequentes daquela determinada patologia, melhorando a qualidade de vida e a sobrevida dos pacientes<sup>55</sup>(C).

Estudos iniciais utilizando-se da técnica de CGH-array para investigação genética de indivíduos portadores de deficiência mental idiopática associada a características dismórficas (dismorfismo facial ou evidências clínicas ou radiológicas de anormalidades em tronco ou membros) demonstrou capacidade diagnóstica de anormalidades causais em torno de 15%<sup>56</sup>(C).

Revisão sistemática com meta-análise, incluindo pacientes diagnosticados para atraso no desenvolvimento psicomotor e cariótipos normais, a realização da técnica de CGH-array, permitiu diagnóstico de anormalidades causais em 10% (IC95%: 8% a 12%), entretanto com número total de falsos-positivos (detecção de anormalidades não-causais) em torno de 7% (IC95%: 5% a 10%)<sup>57</sup>(A).

Em concordância a estes achados, estudo multicêntrico avaliando o resultado de análises obtidas por meio da técnica de CGH-array

realizado em pacientes com atraso no desenvolvimento psicomotor ou deficiência mental observou variação significativa na taxa de novos diagnósticos com detecção média de 11,8% (variação de 5,4% a 28,8%)<sup>58</sup>(B). Demonstra-se ainda que esta taxa não difere com a intensidade do atraso no desenvolvimento psicomotor, seja este leve, moderado ou grave<sup>59</sup>(C).

## Recomendação

Em pacientes com atraso no desenvolvimento psicomotor leve, moderado ou grave ou deficiência mental nos quais o exame de cariótipo foi normal, a utilização da técnica de CGH-array auxilia no diagnóstico etiológico. 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.

## CONFLITO DE INTERESSE

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

## REFERÊNCIAS

1. Stankiewicz P, Beaudet AL. Use of array CGH in the evaluation of dysmorphism, malformations, developmental delay, and idiopathic mental retardation. *Curr Opin Genet Dev* 2007;17:182-92.
2. Pinkel D, Seagraves R, Sudar D, Clark S, Poole I, Kowbel D, et al. High resolution analysis of DNA copy number variation using comparative genomic hybridization to microarrays. *Nat Genet* 1998;20:207-11.
3. 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.
4. 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.
5. 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.
6. Wing L. Autistic spectrum disorders. *BMJ* 1996;312:327-8.
7. Fombonne E, Zakarian R, Bennett A, Meng L, McLean-Heywood D. Pervasive developmental disorders in Montreal, Quebec, Canada: prevalence and links with immunizations. *Pediatrics* 2006;118:e139-50.
8. Yeargin-Allsopp M, Rice C, Karapurkar T, Doernberg N, Boyle C, Murphy C. Prevalence of autism in a US metropolitan area. *JAMA* 2003;289:49-55.
9. Autism and Developmental Disabilities Monitoring Network Surveillance Year 2006 Principal Investigators; Centers for Disease Control and Prevention (CDC). Prevalence of autism spectrum disorders - Autism and Developmental Disabilities Monitoring Network, United States, 2006. *MMWR Surveill Summ* 2009;58:1-20.
10. Noterdaeme M, Mildenberger K, Sitter S, Amorosa H. Parent information and direct observation in the diagnosis of pervasive and specific developmental disorders. *Autism* 2002;6:159-68.
11. Lord C, Risi S, Lambrecht L, Cook EH Jr, Leventhal BL, Dilavore PC, et al. The Autism Diagnostic Observation Schedule-Generic: A standard measure of social and communication deficits associated with the spectrum of autism. *J Autism Dev Disord* 2000;30:205-23.
12. Muhle R, Trentacoste SV, Rapin I. The genetics of autism. *Pediatrics* 2004;113:e472-86.
13. Freitag CM, Staal W, Klauck SM, Duketis E, Waltes R. Genetics of autistic disorders: review and clinical implications. *Eur Child Adolesc Psychiatry* 2010;19:169-78.
14. Bailey A, Le Couteur A, Gottesman I, Bolton P, Simonoff E, Yuzda E, et al. Autism as a strongly genetic disorder: evidence from a British twin study. *Psychol Med* 1995;25:63-77.
15. Jacquemont ML, Sanlaville D, Redon R, Raoul O, Cormier-Daire V, Lyonnet S, et al. Array-based comparative genomic hybridization

- disation identifies high frequency of cryptic chromosomal rearrangements in patients with syndromic autism spectrum disorders. *J Med Genet* 2006;43:843-9.
16. Vorstman JA, Staal WG, van Daalen E, van Engeland H, Hochstenbach PF, Franke L. Identification of novel autism candidate regions through analysis of reported cytogenetic abnormalities associated with autism. *Mol Psychiatry* 2006;11:18-28.
  17. Steiner CE, Acosta AX, Guerreiro MM, Marques-de-Faria AP. Genotype and natural history in unrelated individuals with phenylketonuria and autistic behavior. *Arq Neuropsiquiatr* 2007;65:202-5.
  18. Kothur K, Ray M, Malhi P. Correlation of autism with temporal tubers in tuberous sclerosis complex. *Neurol India* 2008;56:74-6.
  19. Battaglia A, Carey JC. Diagnostic evaluation of developmental delay/mental retardation: An overview. *Am J Med Genet C Semin Med Genet* 2003;117C:3-14.
  20. Weiss LA, Shen Y, Korn JM, Arking DE, Miller DT, Fossdal R, et al. Association between microdeletion and microduplication at 16p11.2 and autism. *N Engl J Med* 2008;358:667-75.
  21. Grosse SD, Kalman L, Khoury MJ. Evaluation of the validity and utility of genetic testing for rare diseases. *Adv Exp Med Biol* 2010;686:115-31.
  22. Schaefer GB, Mendelsohn NJ. Genetics evaluation for the etiologic diagnosis of autism spectrum disorders. *Genet Med* 2008;10:4-12.
  23. Shen Y, Dies KA, Holm IA, Bridgemohan C, Sobeih MM, Caronna EB, et al. Clinical genetic testing for patients with autism spectrum disorders. *Pediatrics* 2010;125:e727-35.
  24. Rosenfeld JA, Ballif BC, Torchia BS, Sahoo T, Ravnan JB, Schultz R, et al. Copy number variations associated with autism spectrum disorders contribute to a spectrum of neurodevelopmental disorders. *Genet Med* 2010;12:694-702.
  25. Stefansson H, Ophoff RA, Steinberg S, Andreassen OA, Cichon S, Rujescu D, et al. Common variants conferring risk of schizophrenia. *Nature* 2009;460:744-7.
  26. Hultman CM, Sparén P, Takei N, Murray RM, Cnattingius S. Prenatal and perinatal risk factors for schizophrenia, affective psychosis, and reactive psychosis of early onset: case-control study. *BMJ* 1999;318:421-6.
  27. Dalman C, Thomas HV, David AS, Gentz J, Lewis G, Allebeck P. Signs of asphyxia at birth and risk of schizophrenia. Population-based case-control study. *Br J Psychiatry* 2001;179:403-8.
  28. Stone JM, Morrison PD, Pilowsky LS. Glutamate and dopamine dysregulation in schizophrenia--a synthesis and selective review. *J Psychopharmacol* 2007;21:440-52.
  29. Lewis DA, Levitt P. Schizophrenia as a disorder of neurodevelopment. *Annu Rev Neurosci* 2002;25:409-32.
  30. Gottesman II. Schizophrenia Genesis: The Origins of Madness, Henry Holt & Company, Inc., New York (1991).

31. Cardno AG, Marshall EJ, Coid B, Macdonald AM, Ribchester TR, Davies NJ, et al. Heritability estimates for psychotic disorders: the Maudsley twin psychosis series. *Arch Gen Psychiatry* 1999;56:162-8.
32. Caspi A, Moffitt TE, Cannon M, McClay J, Murray R, Harrington H, et al. Moderation of the effect of adolescent-onset cannabis use on adult psychosis by a functional polymorphism in the catechol-O-methyltransferase gene: longitudinal evidence of a gene X environment interaction. *Biol Psychiatry* 2005;57:1117-27.
33. Henquet C, Rosa A, Delespaul P, Papiol S, Fananás L, van Os J, et al. COMT ValMet moderation of cannabis-induced psychosis: a momentary assessment study of 'switching on' hallucinations in the flow of daily life. *Acta Psychiatr Scand* 2009;119:156-60.
34. International Schizophrenia Consortium. Rare chromosomal deletions and duplications increase risk of schizophrenia. *Nature* 2008;455:237-41.
35. Kirov G, Grozeva D, Norton N, Ivanov D, Mantripragada KK, Holmans P, et al. Support for the involvement of large copy number variants in the pathogenesis of schizophrenia. *Hum Mol Genet* 2009;18:1497-503.
36. Stefansson H, Rujescu D, Cichon S, Pietiläinen OP, Ingason A, Steinberg S, et al. Large recurrent microdeletions associated with schizophrenia. *Nature* 2008;455:232-6.
37. McCarthy SE, Makarov V, Kirov G, Addington AM, McClellan J, Yoon S, et al. Microduplications of 16p11.2 are associated with schizophrenia. *Nat Genet* 2009;41:1223-7.
38. American Psychiatric Association. Diagnostic and statistical manual of mental disorders. 4th ed. Washington (DC): American Psychiatric Association; 1994.
39. Rohde LA, Biederman J, Busnello EA, Zimmermann H, Schmitz M, Martins S, et al. ADHD in a school sample of Brazilian adolescents: a study of prevalence, comorbid conditions, and impairments. *J Am Acad Child Adolesc Psychiatry* 1999;38:716-22.
40. American Psychiatric Association. Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders (DSM-IV). 4 Ed. Washington: American Psychiatric Association, 1995.
41. Thapar A, Holmes J, Poulton K, Harrington R. Genetic basis of attention deficit and hyperactivity. *Br J Psychiatry* 1999;174:105-11.
42. Faraone SV, Biederman J. Neurobiology of attention-deficit hyperactivity disorder. *Biol Psychiatry* 1998;44:951-8.
43. Faraone SV, Doyle AE. The nature and heritability of attention-deficit/hyperactivity disorder. *Child Adolesc Psychiatr Clin N Am* 2001;10:299-316, viii-ix.
44. Williams NM, Zaharieva I, Martin A, Langley K, Mantripragada K, Fossdal R, et al. Rare chromosomal deletions and duplications in attention-deficit hyperactivity disorder: a genome-wide analysis. *Lancet* 2010;376:1401-8.
45. Mick E, Biederman J, Faraone SV, Sayer J, Kleinman MS. Case-control study of attention-deficit hyperactivity disorder and maternal smoking, alcohol use, and drug use during pregnancy. *J Am Acad Child Adolesc Psychiatry* 2002;41:378-85.

46. Zielinski JJ. Epidemiology of epilepsy. In: Laidlaw J, Richens A e Oxley J editors. A textbook of Epilepsy, Third edition, Churchill Livingstone, New York, 1988 .p.21-48.
47. Steinlein OK. Genetic mechanisms that underlie epilepsy. *Nat Rev Neurosci.* 2004;5:400-8.
48. Weber YG, Lerche H. Genetic mechanisms in idiopathic epilepsies. *Dev Med Child Neurol* 2008;50:648-54.
49. Lu Y, Wang X. Genes associated with idiopathic epilepsies: a current overview. *Neurol Res* 2009;31:135-43.
50. Mefford HC, Muhle H, Ostertag P, von Spiczak S, Buysse K, Baker C, et al. Genome-wide copy number variation in epilepsy: novel susceptibility loci in idiopathic generalized and focal epilepsies. *PLoS Genet* 2010;6:e1000962.
51. Roeleveld N, Zielhuis GA, Gabreëls F. The prevalence of mental retardation: a critical review of recent literature. *Dev Med Child Neurol* 1997;39:125-32.
52. McLaren J, Bryson SE. Review of recent epidemiological studies of mental retardation: prevalence, associated disorders, and etiology. *Am J Ment Retard* 1987;92:243-54.
53. Moeschler JB, Shevell M; American Academy of Pediatrics Committee on Genetics. Clinical genetic evaluation of the child with mental retardation or developmental delays. *Pediatrics* 2006;117:2304-16.
54. Battaglia A, Hoyme HE, Dallapiccola B, Zackai E, Hudgins L, McDonald-McGinn D, et al. Further delineation of deletion 1p36 syndrome in 60 patients: a recognizable phenotype and common cause of developmental delay and mental retardation *Pediatrics.* 2008;121:404-10.
55. Saam J, Gudgeon J, Aston E, Brothman AR. How physicians use array comparative genomic hybridization results to guide patient management in children with developmental delay. *Genet Med* 2008;10:181-6.
56. Shaw-Smith C, Redon R, Rickman L, Rio M, Willatt L, Fiegler H, et al. Microarray based comparative genomic hybridisation (array-CGH) detects submicroscopic chromosomal deletions and duplications in patients with learning disability/mental retardation and dysmorphic features. *J Med Genet* 2004;41:241-8.
57. Sagoo GS, Butterworth AS, Sanderson S, Shaw-Smith C, Higgins JP, Burton H. Array CGH in patients with learning disability (mental retardation) and congenital anomalies: updated systematic review and meta-analysis of 19 studies and 13,926 subjects. *Genet Med* 2009;11:139-46.
58. Moeschler JB, Amato RS, Brewster T, Burke L, Dinulos MB, Smith R, et al. Improving genetic health care: a Northern New England pilot project addressing the genetic evaluation of the child with developmental delays or intellectual disability. *Am J Med Genet C Semin Med Genet* 2009;151C:241-54.
59. Wincent J, Anderlid BM, Lagerberg M, Nordenskjöld M, Schoumans J. High-resolution molecular karyotyping in patients with developmental delay and/or multiple congenital anomalies in a clinical setting. *Clin Genet* 2011;79:147-57.