

**UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO**  
**INSTITUTO DE BIOCÊNCIAS**

Débora Camilotti

**Comparação da heterogeneidade clínica entre portadores de desequilíbrios genômicos em 22q11.2 com base no motivo de encaminhamento para análise por *microarray* cromossômico**

*Comparison of clinical heterogeneity among carriers with genetic imbalance on 22q11.2 based on referral reason for chromosomal microarray analysis*

**São Paulo**  
**2021**

Débora Camilotti

**Comparação da heterogeneidade clínica entre portadores de desequilíbrios genômicos em 22q11.2 com base no motivo de encaminhamento para análise por *microarray* cromossômico**

*Comparison of clinical heterogeneity among carriers with genetic imbalance on 22q11.2 based on referral reason for chromosomal microarray analysis*

**Versão corrigida**

Dissertação apresentada ao Instituto de Biociências da Universidade de São Paulo, para a obtenção do Título de Mestre em Aconselhamento Genético e Genômica Humana.

Orientadora: Prof<sup>ª</sup> Dr<sup>ª</sup> Carla Rosenberg

**São Paulo**

**2021**

Ficha catalográfica elaborada pelo Serviço de Biblioteca do Instituto de Biociências da USP, com os dados fornecidos pelo autor.

Camilotti, Débora.

Comparação da heterogeneidade clínica entre portadores de desequilíbrios genômicos em 22q11.2 com base no motivo de encaminhamento para análise por *microarray* cromossômico / Débora Camilotti ; orientadora Carla Rosenberg. -- São Paulo, 2021.

76 f.

Dissertação (Mestrado Profissional) -- Programa de Pós Graduação em Aconselhamento Genético e Genômica Humana. Instituto de Biociências. Universidade de São Paulo.

1. Deleção 22q11.2. 2. Duplicação 22q11.2. 3. Análise cromossômica por *microarray* (CMA). I. Rosenberg, Carla. II. Título.

Bibliotecária responsável pela ficha catalográfica: Elisabete da Cruz Neves. CRB - 8/6228.

## FOLHA DE AVALIAÇÃO

**Comissão Julgadora:**



---

Prof(a) Dr(a) CARLA ROSENBERG

---

Prof(a) Dr(a) ANA LUCIA PEREIRA MONTEIRO CATELANI

---

Prof(a) Dr(a) TARSIS ANTONIO PAIVA VIEIRA

## **AGRADECIMENTOS**

Meus sinceros agradecimentos à Dr<sup>a</sup> Carla Rosenberg, por ter me acolhido, me orientado nesse projeto e ser um exemplo de profissional e pessoa admirável, cuja força e sabedoria me servirão de inspiração tanto para minha vida profissional, quanto pessoal.

À professora Dr<sup>a</sup> Ana Cristina Krepischi, pelas valiosas dicas, pela ajuda na revisão e pelo conhecimento compartilhado.

À Dr<sup>a</sup> Marília Moreira Montenegro pela colaboração.

À equipe do laboratório da professora Carla, especialmente à Sílvia e à Maraísa pela disponibilidade em me auxiliar no levantamento dos casos.

A todos os professores e colegas, pelo companheirismo e disponibilidade em compartilhar conhecimento.

À instituição, Universidade de São Paulo e à coordenação do programa que mesmo em meio à uma crise mundial de enfrentamento à uma pandemia, possibilitou a mim e a colegas, meios de continuarmos e concluirmos nossos trabalhos de forma planejada e segura.

## **DEDICATÓRIA**

A todos os pacientes e suas famílias, com todo respeito e consideração por esses, que ao participarem do projeto de pesquisa, permitem que possamos nos desenvolver como profissionais aptos a contribuir à sociedade na forma de trabalhador qualificado.

## RESUMO

CAMILOTTI, Débora. Comparação da heterogeneidade clínica entre portadores de desequilíbrios genômicos em 22q11.2 com base no motivo de encaminhamento para análise por *microarray* cromossômico. Dissertação (Mestrado Profissional em Aconselhamento Genético e Genômica Humana) – Instituto de Biociências, Universidade de São Paulo, São Paulo. 2021.

O cromossomo 22q11.2 é particularmente suscetível a rearranjos genômicos e os mais frequentes envolvem deleções e duplicações resultantes de rearranjos entre segmentos repetidos não homólogos presentes em baixo número de cópias (LCR, *Low copy repeats* - LCR22A a LCR22H). As sequências de LCR que flanqueiam as regiões de rearranjos 22q11.2 definem a localização aproximada dos pontos de quebra, sendo os tamanhos das mais frequentes 3 e 1,5 Mb. A deleção / duplicação de 3 Mb, causando as síndromes de deleção / duplicação 22q11.2, ocorre entre LCR22A e LCR22D e é a microdeleção patogênica mais frequentes em humanos, com uma incidência de cerca de 1 / 4.000 nascidos vivos. De fato, entre os ~6000 pacientes estudados por análise por *microarray* cromossômico, esta foi de longe a mais prevalente. As deleções e duplicações com outros pontos de quebra são mais raras e podem fornecer uma oportunidade valiosa para investigar os efeitos fenotípicos de um subconjunto de genes na região do desequilíbrio genômico 22q11.2. Nesse trabalho retrospectivo, compilamos os dados de 89 indivíduos investigados por análise por *microarray* cromossômico (CMA), sendo 56 com deleções e 33 com duplicações. Em seguida, comparamos os dados genômicos e clínicos dos pacientes deste estudo. De acordo com a literatura, as deleções típicas de ~3Mb e contendo *TBX1* foram as mais frequentes. Dado que o principal mecanismo de formação das alterações em 22q11.2 são NAHR, esperaríamos números similares de indivíduos com duplicações e deleções. No entanto, observamos praticamente o dobro de deleções quando comparados à duplicação. Esse viés evidencia que a deleção 22q11.2 gera mais sinais clínicos do que a duplicação. Do ponto de vista de sinais clínicos, deficiência intelectual ou déficit de aprendizagem, assim como dismorfismos craniofaciais são características frequentes na maioria das alterações cromossômicas microscópicas ou submicroscópicas e não seriam indicadores de CNVs específicas de 22q11.2. Por outro lado, a combinação de alterações comportamentais com defeitos cardíacos representa um forte indicador de del 22q11.2. Nossas descobertas contribuem para a relação genótipo-fenótipo para deleções / duplicações em 22q11.2, com implicações no diagnóstico e no aconselhamento genético.

**Palavras-chave:** Deleção 22q11.2. Duplicação 22q11.2. Análise cromossômica por *microarray* (CMA).

## ABSTRACT

CAMILOTTI, Débora. Comparison of clinical heterogeneity among carriers with genetic imbalance on 22q11.2 based on referral reason for chromosomal microarray analysis. Dissertação (Mestrado Profissional em Aconselhamento Genético e Genômica Humana) – Instituto de Biociências, Universidade de São Paulo, São Paulo. 2021.

Chromosome 22q11.2 is susceptible to genomic rearrangements and the most frequently reported involve deletions and duplications between low copy repeats LCR22A to LCR22H. The LCR sequences that flank the 22q11.2 deletion region define the common breakpoints, the most frequent ones being the 3 and 1.5 Mb deletions. The 3 Mb deletion/duplication causing 22q11.2 deletion/duplication syndrome occurs between LCR22A and LCR22D and is one of the most frequent pathogenic microdeletions in humans with an incidence of around 1/4,000 live births. In fact, among the ~ 6000 patients studied by chromosomal microarray analysis, this was the most prevalent. Different nested deletions and duplications are rarer and can provide a valuable opportunity to investigate the effects of a smaller subset of genes within the 22q11.2 genomic disorder region. In this retrospective study, we compiled data of 89 individuals investigated by chromosomal microarray analysis (CMA), ones being 56 with deletions and 33 with duplications. We then compared the genomic and clinical data for patients from this study. According to the literature, typical deletions of ~ 3Mb and containing TBX1 were more frequent. Since NAHR is the main mechanism for the formation of changes in 22q11.2, we would expect similar numbers of individuals with duplications and deletions. However, we observed almost twice as many deletions when compared to duplication. This bias shows that the 22q11.2 deletion generates more clinical signs than duplication. From a clinical symptoms point of view, intellectual disability or learning deficit, as well as craniofacial dysmorphisms are frequent features in most microscopic or submicroscopic chromosomal changes and they would not be indicators of 22q11.2 specific CNVs. However, the combination of behavioral changes with heart defects represents a strong indicator of del 22q11.2. Our findings contribute to the genotype–phenotype data for 22q11.2 deletions/duplications, with implications for genetic counseling and diagnostic.

**Keywords:** 22q11.2 Deletion. 22q11.2 Duplication. Chromosomal microarray analysis (CMA).



## SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO .....	8
1.1. Síndrome da microdeleção 22q11.2 .....	8
1.2. Síndrome da microduplicação 22q11.2 .....	11
1.3. Diagnóstico genético/molecular .....	12
1.3.1. A técnica de CMA no diagnóstico de desequilíbrios em 22q11.2 .....	14
1.3.2. Análise por <i>microarray</i> cromossômico .....	14
1.3.3. Interpretação dos resultados por CMA (análise por <i>microarray</i> cromossômico) .....	16
1.4. Os mecanismos moleculares das CNVs na região 22q11 .....	17
1.5. SD 22q11.2 e SDup 22q11.2 e os transtornos psiquiátricos .....	19
2 JUSTIFICATIVA E OBJETIVO .....	221
3 MATERIAL E MÉTODOS .....	22
3.1. Casuística .....	22
3.2. Extração do DNA .....	22
3.4. Array-CGH .....	22
3.5. Etapas da pesquisa .....	23
3.6 Processamento dos Dados .....	23
4 RESULTADOS .....	25
4.1. Duplicações 22q11 .....	26
4.1.1. Descrição das duplicações 22q11 .....	27
4.2. Deleções 22q11 .....	35
4.2.1. Descrição das deleções 22q11 .....	39
5. DISCUSSÃO .....	43
5.1. Comparação entre duplicação típica e atípica conforme os fenótipos centrais de cada caso ...	46
6. CONCLUSÃO .....	54
REFERÊNCIAS .....	55
ANEXOS .....	66
ANEXO A - Tabela com descrição dos genes mapeados nas CNVs em 22q11.2 .....	66
ANEXO B - Casos de SDup22q11.2 com CNVs patogênicas ou provavelmente patogênicas coexistentes .....	73
ANEXO C - Casos de SD22q11.2 com CNVs patogênicas ou provavelmente patogênicas coexistentes .....	74
ANEXO D - Casos de SDup22q11.2 com cariótipos alterados ou CNVs patogênicas ou provavelmente patogênicas coexistentes .....	75
ANEXO E - Casos de SDe122q11.2 com cariótipos alterados ou CNVs patogênicas ou provavelmente patogênicas coexistentes .....	76

## 1 INTRODUÇÃO

Este trabalho propõe a análise retrospectiva dos resultados de CMA de 89 pacientes portadores de desequilíbrios genômicos em 22q11.2, com o objetivo de avaliar quais foram os principais motivos de encaminhamento dos pacientes, gerando um espectro das indicações clínicas para investigação genômica nesses casos; seria importante determinar se um conjunto específico de sinais poderia indicar uma probabilidade alta de identificar a deleção 22q11.2. Pretendemos também comparar as características clínicas aos diferentes mapeamentos das alterações genéticas conforme localização entre as LCRs (*Low copy repeat*), classificadas como típicas ou atípicas, conforme será detalhado adiante. Este estudo será importante para obtermos dados que possam nos direcionar à melhor abordagem diagnóstica do ponto de vista custo-benefício dos pacientes com desequilíbrios genômicos em 22q11.2, bem como ao melhor entendimento da heterogeneidade fenotípica relacionada a tais alterações.

### 1.1. Síndrome da microdeleção 22q11.2

Sedlačkova, em 1955, relatou pela primeira vez um grupo de pacientes com voz anasalada e diminuição da mímica facial (Sedlackova, 1955). Posteriormente, em 1967, Angelo DiGeorge, relatou três crianças com deficiência imune letal de células T associada à hipoplasia das paratireoides (Di George et al., 1967; Lischner et al., 1967; Kirkpatrick e Digeorge, 1968). Strong em 1968, descreveu uma família na qual a mãe e seus três filhos apresentavam arco aórtico à direita, dismorfismo facial e déficit cognitivo (Strong, 1968; Shprintzen, 2008). Em 1969, Cayler descreveu pacientes com anomalias cardíacas conotruncais e face assimétrica ao choro (Cayler, 1969). No Japão, em 1976, Kinouchi et al., descreveram a “síndrome da anomalia conotruncal típica”, caracterizada por cardiopatia congênita e aparência facial típica (Kinouchi et al., 1976). Em 1978, finalmente, Shprintzen cunhou o termo “síndrome velocardiofacial”, (SVCF) que também ficou conhecida como “síndrome de Shprintzen”, para se referir ao quadro de cardiopatia congênita, voz anasalada com anomalias de palato, aparência facial característica e dificuldades de aprendizagem (Shprintzen et al., 1978).

No ano de 1981, análise de cariótipo mostrou um rearranjo cromossômico não equilibrado entre os cromossomos 20 e 22, segregando em quatro pacientes de uma mesma família com as características da síndrome de DiGeorge (De La Chapelle et al., 1981). Em 1991, quando a técnica de Hibridização *in situ* por fluorescência (*FISH – Fluorescence in situ Hybridization*) começava a ser utilizada de maneira rotineira, a microdeleção na banda q11.2 do cromossomo

22 foi descrita (Scambler et al., 1991) associada ao fenótipo. Wilson e colaboradores propuseram unificar todas as doenças já descritas relacionadas à microdeleção 22q11.2, no acrônimo CATCH22 (*Conotruncal heart defect, Abnormal face, T-cell deficiency, Clefting, e Hypocalcemia*, decorrentes de uma anormalidade no cromossomo 22) (Wilson et al., 1993); entretanto, o termo foi rejeitado pelos geneticistas, os quais optaram inicialmente pelo uso do termo síndrome de DiGeorge/Velocardiofacial, que foi substituído em 1998, por sugestão de Bassett e colegas, pelo termo síndrome de microdeleção 22q11.2 (SD22q11.2) (Bassett et al., 1998; Chow et al., 1998. Ficou claro que estes pacientes com espectro fenotípico diverso apresentavam microdeleção em 22q11.2, (McDonald-McGinn e Sullivan, 2011);

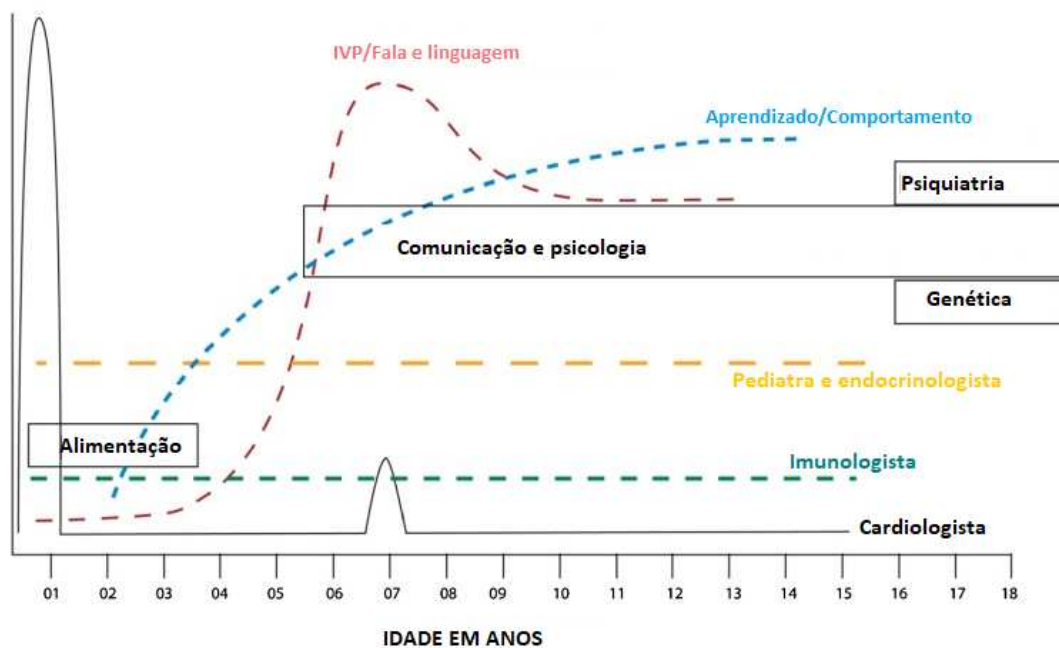
O fenótipo da SD 22q11.2 é altamente variável e pode afetar múltiplos órgãos e tecidos. As principais manifestações clínicas incluem defeitos cardíacos congênitos (DCC), principalmente conotruncais, anomalias cranio-faciais, palatais, deficiência imunológica, defeitos velofaríngeos, baixa estatura, dificuldade de aprendizagem e atraso no desenvolvimento e hipocalcemia (McDonald-McGinn et al., 1999; Robin e Shprintzen, 2005; Guo et al., 2011). Meechan e colaboradores, sugeriram que vários genes em 22q11 agem especificamente para mediar a interação morfogênica e subsequente diferenciação celular em sítios específicos nos membros, coração, rosto e prosencéfalo. Quando a dosagem de um amplo conjunto desses genes está diminuída, a morfogênese torna-se alterada resultando em fenótipo contido no espectro da SD22q11.2 (Meechan et al., 2009; Gothelf et al., 2011). Os portadores frequentemente também apresentam déficits cognitivos e comportamentais e um risco elevado de desenvolver transtornos psiquiátricos (Karayiorgou et al., 2010).

Atualmente, aceita-se que a SD22q11.2 é a síndrome de microdeleção mais comum na espécie humana, com prevalência de 1 em 4000 nascidos vivos (McDonald-McGinn e Sullivan, 2011). Em 2015, Grati e colaboradores (Grati et al., 2015) reportaram uma incidência de deleção 22q11.2 de 1 em 992 nascidos vivos, além de uma incidência de 1 em 850 para duplicações na mesma região porém esses dados provavelmente representam uma superestimativa, uma vez que foram baseados em estudos pré-natais por indicações variadas. A maioria dos portadores da SD22q11.2 apresentam deleções de 1,5 a 3 Mb, chamadas aqui de deleções típicas. Em 80 a 90% dos pacientes se observa uma deleção de ~3 Mb, que envolve cerca de 40 genes. A deleção de 1,5 Mb, inteiramente contida na região de 3 Mb, é vista em menos de 10% dos pacientes e envolve cerca de 28 genes; no entanto, isso não implica em uma forma mais branda da doença, o que dificulta ainda mais a correlação genótipo-fenótipo (Shprintzen, 2008; Swillen, 2016). Uma pequena porcentagem dos pacientes apresenta deleções atípicas e mutações pontuais no DNA, especificamente no gene *TBX1* (Amati et al., 1999).

O *TBX1*, é o principal gene responsável pelas manifestações clínicas da síndrome, e há relatos de mutações (embora não apenas da microdeleção do gene) envolvendo apenas ele em portadores do fenótipo (Zweier et al., 2007). Este gene, entre outros, controla o desenvolvimento do terceiro e quarto arcos faríngeos, cérebro e esqueleto. Nenhuma correlação entre o tamanho ou o local da deleção com o fenótipo foi ainda encontrada (Lima et al., 2010; Guo et al., 2011; Michaelovsky et al., 2012).

A heterogeneidade fenotípica de desequilíbrios na região 22q11.2 pode dificultar o diagnóstico molecular, importante para que se estabeleça tratamento e seguimento direcionados de acordo com as necessidades individuais de cada paciente, e aconselhamento genético adequado ao paciente e familiares (Habel et al., 2014). (Figura 01).

**Figura 1** - Esquema longitudinal dos principais problemas relacionados à SD 22q11.2 e equipes de profissionais multidisciplinar envolvidos no seguimento clínico conforme a idade do portador



Fonte: Adaptado de Habel et al. (2014).

Embora técnicas para investigar ganhos e perdas dessa região específica existam, a ausência de um fenótipo clínico claro leva, frequentemente, à solicitação de uma investigação genômica global, ou seja, análise por *microarray* cromossômico (CMA - *chromosomal microarray analysis*). A utilização da técnica para triagem genômica completa de pacientes sindrômicos leva não apenas à descrição de novas síndromes, mas também ao reconhecimento de um espectro mais amplo de características para síndromes com ampla heterogeneidade clínica, como exemplificado na própria SD 22q11.2 (Krepischi-Santos et al., 2006). O diagnóstico molecular da SD 22q11.2 por MLPA (*Multiplex ligation dependent probe amplification*),

apresentaria um menor custo para identificação da síndrome, porém, por ser um teste direcionado a alterações genéticas específicas, esse tipo de teste dependeria de uma suspeita clínica clara. Já a CMA, apesar de ser um teste mais caro, não depende de uma hipótese diagnóstica de síndrome específica para ser efetivo na detecção de alterações de números de cópias.

### **1.2.Síndrome da microduplicação 22q11.2**

A mesma região deletada na SD 22q11.2, quando duplicada, resulta na síndrome de duplicação 22q11.2 (SDup22q11.2), cujo fenótipo se sobrepõem ao da deleção, mas cuja frequência de sinais clínicos é menor (McDonald-McGinn et al., 2015; Wenger et al., 2016). As síndromes da microdeleção e da microduplicação 22q11.2 têm características em comum, que incluem anormalidades cardíacas, hipoplasia tímica, face característica, hipocalcemia, retardo cognitivo, defeitos palatais, insuficiência velo-faríngea e outras malformações (Portnoi, 2009).

Edelmann e colaboradores descreveram em 1999 o primeiro caso de síndrome da duplicação 22q11.2, no processo de investigação de uma criança de quatro anos com déficit de crescimento, hipotonia, apneia do sono e episódios epilépticos na infância, atraso no desenvolvimento motor, insuficiência velofaríngea e atraso de linguagem. Suas características faciais eram levemente dismórficas, com um rosto estreito e fissuras palpebrais descendentes (Edelmann et al., 1999). Uma revisão das manifestações clínicas dos casos de duplicação 22q11.2 relatados na literatura, aponta como sinais mais frequentes: deficiência intelectual / dificuldades de aprendizagem, déficits no desempenho da memória, organização perceptiva e compreensão verbal, transtorno de déficit de atenção e hiperatividade (TDAH) e comprometimento da fala (97%). Outras características incluem atraso no desenvolvimento neuropsicomotor (ADNPM) (67%), retardo de crescimento (63%) e hipotonia muscular (43%). As características dismórficas mais comuns foram hipertelorismo (70%), nariz achatado (53%), micrognatia (52%), insuficiência velofaríngea (48%), orelhas displásicas (45%), pregas epicânticas (42%), descamação palpebral e fissuras (41%). Malformação cardíaca congênita, deficiência visual e auditiva, convulsões, microcefalia, ptose e anormalidades urogenitais também foram relatadas (Wentzel et al., 2008). O fenótipo pode variar desde a apresentação assintomática até distúrbios graves do neurodesenvolvimento, tal como transtorno do espectro autista (TEA), (Wenger et al., 2016; Clements et al., 2017), deficiência intelectual (DI) e epilepsia (Valvo et al., 2012).

Ao contrário das deleções, que ocorrem na grande maioria dos casos *de novo*, as duplicações dessa região são frequentemente herdadas de pais fenotipicamente normais (Sahoo et al., 2011). Teoricamente, devido ao seu mecanismo de formação (discutido mais adiante), a síndrome de microduplicação 22q11.2 deveria ter uma incidência semelhante à da síndrome de microdeleção 22q11.2. No entanto, há muito menos relatos clínicos desta: no PubMed encontramos cerca de quatro vezes mais publicações sobre a síndrome de microdeleção 22q11.2 do que de microduplicação. A frequência de duplicações identificadas é aproximadamente metade das deleções, principalmente porque são menos detectadas, não apenas devido à ampla heterogeneidade fenotípica, mas sobretudo à penetrância incompleta e a uma apresentação clínica mais branda (Ensenauer et al., 2003; Yobb et al., 2005).

Embora existam características sobrepostas entre a síndrome de microdeleção e de microduplicação 22q11.2, as características fenotípicas dos portadores da duplicação tendem a ser mais brandas (Edelmann, et al., 1999, Hased et al., 2004; Portnoi et al., 2005). No aspecto neuropsiquiátrico, trabalhos recentes relacionam um risco aumentado para o desenvolvimento desses distúrbios em ambas as síndromes (Hoeffding et al., 2017).

### **1.3.Diagnóstico genético/molecular**

Para se identificar alterações citogenéticas que possam ser patogênicas, como na SD 22q11.2, podem ser utilizadas diferentes técnicas. A primeira técnica capaz de revelar essas alterações, é a citogenética tradicional (cariótipo), o qual possibilita a detecção de alterações cromossômicas grandes (Miller et al., 2010; Mefford et al, 2012), permitindo uma resolução de 5-10 megabases (Mb), (Trask, 2002), (cerca de 500 bandas por genoma haploide), segmentos que contêm em média 50 genes.

A hibridização *in situ* por fluorescência (FISH - *fluorescence in situ hybridization*), foi descrita em 1981 (Langer et al., 1981). Essa técnica foi aplicada pela primeira vez em humanos em 1986 (Pinkel, Straume e Gray, 1986), e permite que sequências de ácidos nucleicos, sejam marcados com substâncias fluorescentes ou, alternativamente, que se acoplem a substâncias fluorescentes, e examinadas no local de complementaridade da sequência nos cromossomos. Embora alguns laboratórios tenham tido sucesso em identificar sequências de 1 ou poucos kbs, a resolução da técnica de FISH nos laboratórios em geral pode ser considerada como >20kb. (Korenberg et al., 1995). Atualmente, há vários *kits* de sondas disponíveis comercialmente para diagnósticos de síndromes específicas. Uma limitação da técnica é o número de alvos que podem ser simultaneamente investigados, geralmente determinados pelo número de

cores que podem ser detectadas que, embora possa chegar a algumas dezenas, é de apenas duas ou três na maioria dos laboratórios.

O MLPA é uma das técnicas mais utilizadas para a investigação molecular de doenças genéticas. Das várias vantagens que a técnica apresenta quando comparada a outras metodologias, se destacam a possibilidade de trabalhar em larga escala, permitindo que até 96 amostras sejam manipuladas simultaneamente, a rapidez e relativa simplicidade do processo, além do baixo custo. Essa técnica multiplex permite investigar simultaneamente microdeleções e microduplicações em até cerca de 40 sequências-alvo em uma única reação, com base em hibridização de DNA e subseqüentes reações de cadeia da polimerase (PCR). As sequências alvo são curtas (50 a 70 nucleotídeos), permitindo que o MLPA identifique alterações em um único gene ou exon, pequenas demais para detecção por FISH. Comparado à análise por *microarray* cromossômico (CMA), da qual falaremos mais para a frente, o MLPA é um método de baixo custo e tecnicamente descomplicado. Entretanto, a principal limitação da técnica é investigar um grupo de poucas dezenas de sequências alvo.

Como os testes por FISH e por MLPA, usam sondas com locais específicos de ligação no DNA (regiões alvo), para solicitar exames de diagnósticos por essas técnicas, deve-se suspeitar ou conhecer a patologia ou grupos de patologias e/ou locais candidatos do genoma em que podem ser encontradas alterações responsáveis.

O CMA consiste na utilização de um chip contendo centenas de milhares a milhões de sequências alvo no qual o DNA extraído da amostra a ser testada é hibridado. As intensidades de hibridização são comparadas às de genomas de referência, podendo ser um único DNA referência diferencialmente marcado e co-hibridado com o material teste (*comparative genomic hybridization* – CGH) ou bancos de dados de genomas referências. Embora existam relatos de detecções de alterações tão pequenas quanto 1 kb e detecção de alterações de ~20 kb sejam usuais, 50 kb é considerada uma resolução aceitável do ponto de vista clínico (Evangelidou et al., 2013; D'ambrosio et al., 2015). A técnica é capaz de detectar aneuploidias, bem como microduplicações e microdeleções, com aplicações em situações de pré e pós-natal e câncer. Embora a maioria dos adultos com SD 22q11.2 com manifestações clínicas típicas tenham recebido o diagnóstico na infância, por solicitação de teste genético direcionado através das características sindrômicas, o fenótipo variável da síndrome frequentemente apresenta um desafio diagnóstico significativo para os clínicos. Muitos dos adultos portadores foram diagnosticados apenas após o nascimento de prole afetada (McDonald-McGinn e Sullivan, 2011), e ainda há adultos com a SD 22q11.2 sem diagnóstico molecular, por serem assintomáticos ou apresentarem sinais clínicos pontuais, tais como deficiência intelectual e

distúrbios psiquiátricos (Vogels et al., 2014). O aumento da eficiência dos diagnósticos moleculares permite oferecer informações mais precisas no aconselhamento genético fornecido aos pacientes e às suas famílias (Maya et al., 2017). O aconselhamento genético é importante, não só para a compreensão da causa do distúrbio do paciente, como também para estimar o risco de ocorrência numa futura gravidez e, eventualmente, oferecer testes pré-natais ou pré-implantacionais (Martin et al., 2015).

### **1.3.1. A técnica de CMA no diagnóstico de desequilíbrios em 22q11.2**

O sequenciamento completo do exoma, seguido da CMA (*Chromosome microarray analyses*) ou análise por *microarray* cromossômico, são atualmente as técnicas mais recomendadas à investigação da etiologia genética para casos de atraso de desenvolvimento/deficiência intelectual, autismo ou malformações congênicas, especialmente quadros inespecíficos ou com grande heterogeneidade genética (Ligt et al., 2013; Miller et al., 2010). A técnica da hibridização genômica comparativa, (*array-CGH*), foi descrita por (Kallioniemi et al., 1992), envolvendo cromossomos dispostos em uma lâmina. Desta técnica derivou a hibridização genômica comparativa em microchip de DNA (*Array Comparative Genomic Hybridization*), conhecida por *array-CGH*, ou *aCGH*, onde segmentos de DNA (sondas) eram utilizados. O *array-CGH* surgiu como uma importante ferramenta para a detecção de alta resolução de variações do número de cópias em todo o genoma (*copy number variation* - CNVs) de trechos de DNA no genoma (Vasson et al., 2013; Edelmann e Hirschhorn, 2009; Galasso et al., 2010), detectando perdas ou ganhos submicroscópicos, frequentemente encontrados em casos de atraso mental idiopático, malformações congênicas ou alterações comportamentais, como o autismo (Beudet, 2013; Pinto et al., 2014; Qiao et al., 2014).

No caso da SD 22q11.2, cuja manifestação clínica é heterogênea, a utilização do CMA leva ao reconhecimento de características antes não correlacionadas à síndrome (Krepisch-Santos et al., 2006). A técnica permite o mapeamento preciso das CNVs encontradas, o que é essencial para determinar quais os genes envolvidos na alteração (Tzetis et al., 2012), no entanto, apresenta a desvantagem de não detectar rearranjos equilibrados, mas que às vezes podem afetar a estrutura ou a expressão de genes.

### **1.3.2. Análise por *microarray* cromossômico**

A resolução das plataformas varia basicamente de acordo com a densidade e o tipo das sondas que compõem o chip (Shinawi e Cheung, 2008). A resolução é resultado da combinação do espaçamento entre uma sonda e outra, e pelo número de sondas necessárias para identificar



uma alteração. Os tipos de sondas podem ser: sondas em BAC (*Bacterial Artificial Chromosomes*) ou oligonucleotídeos. As sondas clonadas em BACs consistem em grandes segmentos de sequências humanas (100-120 kb) inseridos em cromossomos artificiais de bactérias; o DNA tem então que ser extraído de bactérias, tendo custo alto e sendo de difícil implementação de larga escala. Microchips de oligonucleotídeos são comumente usados pela maioria dos laboratórios e os arrays comerciais atuais possuem cobertura genômica de até seis milhões de sondas por matriz (Van Bokhoven, 2011).

As sondas mais utilizadas atualmente são os oligonucleotídeos, pois oferecem uma maior cobertura de todo o genoma humano, aumentando a resolução do *array*. As sondas de oligonucleotídeos variam entre os 22 e 70 pares de base (bp) (Edelmann e Hirschhorn, 2009; Beaudet, 2013). Existem vários tipos de plataformas de *array* disponíveis comercialmente, apresentando diferentes características em termos de resolução, cobertura do genoma e utilização para diagnóstico. A resolução do *array* depende também da densidade das sondas em regiões ricas em genes e no restante do genoma (*backbone*).

As principais companhias que trabalham com as plataformas de oligonucleotídeos comerciais são: Agilent, Affymetrix, NimbleGen e Illumina, cada qual com suas vantagens, que dependem também do objetivo (clínico ou pesquisa) e da expertise disponível para a interpretação dos dados obtidos.

Na plataforma de CGH-*array*, o teste consiste no uso de uma amostra de DNA do paciente e outra de um controle normal, ambos de indivíduos do mesmo sexo. Cada amostra de DNA é marcada com corantes fluorescentes diferentes sendo posteriormente co-hibridadas numa lâmina de *array* na presença de Cot-1 para supressão de DNA repetitivo. O *array* contém sondas representativas do genoma humano, com as quais o DNA teste e o DNA controle hibridam competitivamente. Após a hibridização, a intensidade de fluorescência de cada *spot* do *array* é lida por um *scanner* e os resultados são analisados por um *software*. As regiões do genoma com igual número de cópias entre o DNA do paciente e o DNA controle apresentam uma fluorescência similar para os dois fluorocromos. Se o paciente possuir uma deleção em relação à amostra controle, a região deletada apresenta maior intensidade de fluorescência do DNA do controle, enquanto que nos casos das duplicações, a região duplicada apresenta maior intensidade da fluorescência do DNA do paciente (Edelmann e Hirschhorn, 2009; Beaudet, 2013; Kharbanda et al., 2015). Alternativamente nas metodologias de SNP-*array*, as intensidades fluorescentes das sequências de DNA do indivíduo afetado são comparadas

virtualmente com um banco de dados de intensidades obtidas em hibridações de indivíduos controles. Embora a técnica de *array-CGH* seja mais sensível na avaliação de número de cópias de DNA, as plataformas de SNP têm a vantagem de genotipar os indivíduos, permitindo identificar regiões em homozigose que podem ser indicativas de consanguinidade ou dissomia uniparental.

### **1.3.3. Interpretação dos resultados por CMA (análise por *microarray* cromossômico)**

Estão disponíveis muitos recursos *online*, como bases de dados, que apoiam a interpretação das alterações encontradas. Alguns exemplos são o *Database of Chromosomal Imbalance and Phenotype in Humans using Ensembl Resources* (DECIPHER), que compila em indivíduos afetados as alterações submicroscópicas detectadas e respectivos fenótipos (Firth et al., 2009) e o *Online Mendelian Inheritance in Man* (OMIM), que compila informação de genes humanos e fenótipos correspondentes (Hamosh et al., 2002).

A identificação de síndromes causadas por microdeleção/microduplicação relaciona alterações cromossômicas semelhantes ao espectro clínico apresentado pelos pacientes afetados (Galasso et al., 2010). A identificação de CNVs patogênicas permite identificar a causa do fenótipo do paciente, bem como oferecer aconselhamento genético mais preciso à família (Qiao et al., 2014).

As CNVs são classificadas como patogênicas, provavelmente patogênicas, de significado clínico indeterminado, provavelmente benignas e benignas, de acordo com os *guidelines* do *American College of Medical Genetics*, (Riggs et al., 2020). A classificação se baseia em parâmetros como o tamanho da alteração, o seu conteúdo em genes, frequências em bancos populacionais e de pacientes, dados de segregação etc.

Para a interpretação das CNVs, pode ser importante a realização de testes nos genitores, a fim de estabelecer se a alteração é herdada ou se ocorreu *de novo*. Quando a CNV ocorreu *de novo* no paciente, esse achado fortalece a hipótese de que seja realmente a causa da patologia. Quando a CNV é herdada, há vários parâmetros para serem considerados. Se o genitor portador da CNV apresentar os mesmos sintomas clínicos que o paciente, é muito provável que a CNV seja a causa da patologia. Nos casos em que o genitor portador não apresente o mesmo fenótipo clínico, é mais difícil interpretar a patogenicidade da CNV, pois penetrância incompleta não pode ser descartada (Richards et al., 2015).

Depois de analisados todos estes parâmetros, as CNVs patogênicas e provavelmente patogênicas, auxiliam no diagnóstico e aconselhamento genético adequado a cada paciente e respectiva família. No caso de ausência de CNVs, ou apenas na presença de CNVs

benignas/provavelmente benignas, é possível se excluir síndromes de microduplicação e microdeleção conhecidas, assim como CNVs dentro da resolução do *array*, como causa do quadro clínico, podendo a investigação seguir com outras abordagens. As CNVs de significado indeterminado devem ser reavaliadas periodicamente frente a nova literatura para determinar se é possível reclassificá-las como patogênicas ou benignas.

#### **1.4. Os mecanismos moleculares das CNVs na região 22q11.2**

O genoma humano possui CNVs, (*copy number variations*), as quais embora a maioria dos trabalhos publicados tenha as definido como segmentos de DNA de tamanho igual ou superior a 1 kb que apresentam número de cópias variável em relação a um genoma de referência, atualmente, são reconhecidas CNVs maiores do que 50 pares de base, ficando assim, classificadas como polimorfismos de inserção/deleção, (InDel), aquelas variantes menores do que 50 pares de base (MacDonald et al., 2004).

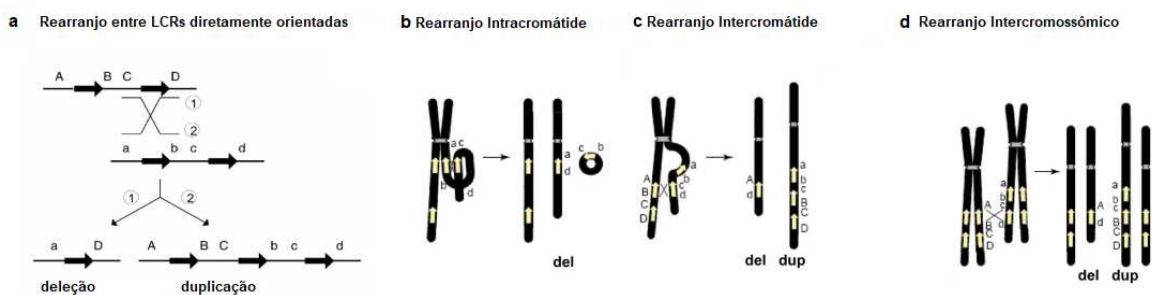
Estimativas apontam que as CNVs englobam entre 6% e 10% do genoma humano de referência (Gokcumen e Lee, 2009; Shaikh et al., 2009), entretanto, o número de estudos e descobertas de novas CNVs, especialmente após a introdução da técnica de *array*-CGH na rotina do diagnóstico (Sudmant, et al., 2015), tornam inespecífica a frequência dessas alterações em todo o genoma. Gokcumen e Lee (2009), apontaram que variantes estruturais, das quais as CNVs são a maioria, pudessem ser responsáveis pela variabilidade em até 0,7% do conteúdo total de nucleotídeos. Mais recentemente, partir de 2015, o Projeto 1000 Genomas (<https://www.internationalgenome.org/>) estimou que a diferença entre os genomas de dois indivíduos foi de 20 milhões de pares de bases (ou 0,6% do total de 3,2 bilhões de pares de bases). Investigações clínicas, também têm mostrado que CNVs raras possam estar associadas a doenças neurológicas e malformações congênitas, incluindo deficiência intelectual, esquizofrenia e autismo (Schneider et al., 2014; Bourgeron, 2015; Kates et al., 2015; Sudmant, et al., 2015; Shaikh, 2017).

Vários mecanismos que levam à formação de CNVs têm sido descritos, como: a *Non Allelic Homologous Recombination* (NAHR), que ocorre durante a divisão celular, quando existe recombinação entre regiões homólogas não alélicas flanqueantes repetitivas; o *Non-Homologous End-Joining* (NHEJ), quando ocorre a religação de cadeias duplas de DNA que sofreram quebras; e o *Fork Stalling and Template Switching* (FoSTeS), que ocorre durante a replicação do DNA, quando a forquilha de replicação encontra uma região difícil de replicar, estagnando e trocando para a cadeia de DNA complementar ou uma cadeia de DNA diferente

para continuar a replicação e ultrapassar algum erro ou quebra do DNA (Redon et al., 2006; Zhang et al., 2009; Carvalho e Lupski, 2016).

Na região 22q11.2 existem muitas sequências de DNA que se repetem, as LCRs (*low copy repeats*) ou blocos de duplicação segmentar intercaladas em toda a região, que podem favorecer NAHR que levam a produtos desiguais durante a formação de gametas, resultando na formação de óvulos ou espermatozoides com deleções ou duplicação desta região 22q11.2. Na meiose, a NAHR pode ocorrer entre parálogas na mesma cromátide (intracromátide), nas cromátides irmãs (intracromossômica ou intercromática) ou nos cromossomos homólogos (intercromossômica) (Shaw e Lupski, 2004). Quando ocorre entre duas LCRs diretamente orientadas, (Figura 2), os rearranjos intercromátides e intercromossômicos resultam em duplicação e deleção recíproca, enquanto os rearranjos intracromátides só podem levar à deleção. Assim, pelo menos teoricamente, a frequência de deleções deve ser sempre maior do que as duplicações. A diferença entre a frequência de deleções e duplicações reflete a frequência de NAHR intracromátides.

**Figura 2 - Rearranjos genômicos em LCRs diretamente orientadas.** Em (a) rearranjos genômicos entre cromossomos homólogos resultando em deleções ou duplicações. LCRs são representados como setas pretas com a orientação indicada pela direção da ponta da seta. Letras maiúsculas acima das linhas horizontais finas referem-se os pontos flanqueadores. Linhas diagonais finas referem-se a um evento de recombinação com os resultados mostrados pelos números 1 e 2. Em 2b-d estão representadas as duplicações e deleções recíprocas mediadas por recombinação homóloga não alélica (NAHR) em LCRs com orientação direta: (b) intracromátideo; (c) intercromátide e (d) intercromossômica. Os cromossomos são mostrados em preto, com o centrômero representado por linhas tracejadas. Setas amarelas representam LCRs. As letras adjacentes às cromátides referem-se à sequência flanqueadora.



Fonte: Adaptado de Lupski, (1998) e Stankiewicz e Lupski (2002)

A SD 22q11.2 é classificada conforme o tipo de deleção. A deleção mais frequente (80 a 90% dos casos), de 3 Mb, chamada de tipo 1, é mediada pelas LCR-A e LCR-D, que são as maiores LCRs, as que apresentam maior similaridade (~98%) de bases e que compartilham um bloco de 250 Kb na sequência duplicada. Por outro lado, a deleção de 1,5 Mb, tipo 2, presente em 7 a 14% dos casos, é flanqueada pelas LCR-A e LCR-B, que compartilham um bloco em comum de 135 Kb (Shaikh et al., 2000; Shaikh et al., 2007).

Algumas deleções atípicas têm sido descritas tanto dentro da região de 3 Mb, como não se sobrepondo a ela. Algumas dessas deleções possuem somente um ponto de quebra em uma LCR conhecida, enquanto outras apresentam os dois pontos de quebra fora de LCRs conhecidas (Amati et al., 1999; Shaikh et al., 2000; Zweier et al., 2007; Rodningen et al., 2008).

Em nosso trabalho, denominamos como alterações típicas, as alterações localizadas entre LCR A-D ou A-B e que incluam o gene *TBX1*. Alterações entre LCRs não envolvendo o gene *TBX1* são consideradas atípicas.

### **1.5. SD 22q11.2 e SDup 22q11.2 e os transtornos psiquiátricos**

A base genética de muitos transtornos psiquiátricos é heterogênea, mas há um consenso crescente de que o estudo de doenças genéticas bem definidas, que também incluem transtornos psiquiátricos, pode ser útil à compreensão destes do fenótipo (Murphy e Owen, 2001).

Um dos primeiros distúrbios genômicos associado a sintomas neuropsiquiátricos foi a SD22q11.2 (McDonald-McGinn et al., 2015). Além dos portadores poderem apresentar deficiência intelectual (DI) leve e deficiências específicas em áreas como processamento numérico e noção visão-espacial, a SD 22q11 também constitui um alto fator de risco para vários transtornos psiquiátricos, tais como, esquizofrenia, transtorno de ansiedade, transtorno do espectro autista (TEA), transtorno obsessivo-compulsivo (TOC), transtorno bipolar, (TB), transtorno de déficit de atenção e hiperatividade (TDAH) (Murphy et al., 1999; Gothelf et al., 2004; Fine et al., 2005; Gothelf et al., 2008; Green et al., 2009; Campbell et al., 2010; Drew et al., 2011; Clements et al., 2017).

Apesar do recente avanço sobre o conhecimento dos fatores de risco para o desenvolvimento de transtornos psiquiátricos em portadores de SD22q11.2, ainda não é possível prever os tipos de deficiências cognitivas ou transtornos psiquiátricos que uma criança portadora da deleção poderá desenvolver, o que dificulta a implementação de estratégias de intervenção precoce para melhorar a qualidade de vida e redução de agravos. Nesse sentido, no ano de 2015, uma revisão dos principais sintomas de manifestação tardia nos portadores da SD22q11.2, propôs um conjunto de diretrizes focadas no gerenciamento do aconselhamento neuropsiquiátrico, endócrino, cardiovascular, reprodutivo, psicossocial, genético e outras questões pertinentes aos adultos portadores, visando a intervenção e tratamentos precoces e apropriados a cada paciente (Fung et al., 2015).

Vale salientar, a presença de alterações psiquiátricas na SDup22q11.2, onde é possível observar com frequência a presença dessas alterações na grande maioria dos casos publicados atualmente. Vyas et. al, (2019), revisaram 353 publicações, que remeteram a 58

pacientes, cujas manifestações clínicas incluíram 12 diferentes características neurocomportamentais, das quais as síndromes neuropsiquiátricas foram descritas em aproximadamente um quarto de todas as duplicações entre a LCRB-D, e que 19% delas estão associadas à agressividade.

Uma revisão do papel das CNVs no locus 22q11.2 e sua associação com DI e TEA, discute mecanismos de distúrbios neuropsiquiátricos e do desenvolvimento e levanta sete diferentes hipóteses para justificar a presença da heterogeneidade clínica da relação *genótipo versus* fenótipo (Hiroi et al., 2013). Um fator considerado para a variação fenotípica, é a associação com outras CNVs, e observou-se que entre crianças portadoras de deficiência intelectual e anomalias congênitas, 10% apresentam uma CNV adicional (Girirajan et al., 2012).

Várias explicações para a expressividade variável e penetrância baixa nas duplicações 22q11.2 são propostas. Numerosos fatores podem estar envolvidos, incluindo CNVs adicionais, fatores ambientais ou epigenéticos, dosagem de alelo, nível de expressão gênica, idade e gênero (Girirajan et al., 2012).

Vorstman e colegas sugeriram que a identificação da duplicação 22q11.2 no TEA deve ser considerada para aconselhamento genético e decisões de planejamento familiar (Vorstman et al., 2017). Contudo, na prática clínica, há um crescente consenso de que se deve ter cautela ao fornecer aconselhamento genético para indivíduos portadores de CNVs com penetrância variável, pois as estimativas de risco tendem a ser imprecisas. Adicionalmente, há um sério risco de se superestimar a real relevância dessas CNVs, resultando na suspensão de investigações adicionais e, eventualmente, negligenciando outras mutações patogênicas.

A fim de identificar precursores confiáveis de agravos relacionados a CNVs em 22q11.2, tais como transtornos psiquiátricos graves e seguimento clínico mais direcionado e, conseqüentemente, melhorar os cuidados, seria útil identificar subtipos fenotípicos homogêneos. Isso permitiria investigações mais direcionadas das influências genéticas sobre a variabilidade fenotípica na síndrome. Assim, um objetivo do presente estudo é investigar a presença de subtipos, baseados em características clínicas, para refinar o espectro fenotípico extenso em SD22q11.2 e síndrome da duplicação 22q11.2, de modo a melhorar o diagnóstico clínico.

## 2 JUSTIFICATIVA E OBJETIVO

A heterogeneidade fenotípica, assim como a penetrância incompleta de ganhos e perdas na região 22q11.2 podem dificultar ou retardar o diagnóstico preciso, interferindo no tratamento a ser seguido e no correto aconselhamento genético. Embora haja diversas técnicas para se investigar ganhos e perdas dessa região específica, a ausência de um fenótipo clínico claro leva, frequentemente, à solicitação de uma investigação genômica global por CMA. O diagnóstico por MLPA que representa menor custo para diagnóstico da síndrome, depende de uma suspeita clínica clara, ao contrário do CMA, que embora seja um teste mais caro, não depende de uma hipótese diagnóstica de síndrome específica para ser efetivo. Assim, os objetivos desse trabalho foram:

- análise retrospectiva dos resultados de CMA de 89 pacientes portadores de desequilíbrios genômicos em 22q11.2;
- avaliar quais foram os principais motivos de encaminhamento dos pacientes, gerando um espectro das indicações clínicas para investigação genômica nesses casos;
- verificar se um conjunto específico de sinais pode ser indicativo de alta probabilidade de desequilíbrio genômico na região, consistindo talvez em um *subset* de pacientes para os quais o MLPA constitui uma alternativa diagnóstica custo efetiva;
- verificar se há correlações entre as manifestações clínicas a diferentes LCRs contendo alterações genéticas na região 22q11.2;
- buscar dados que possam nos direcionar à melhor abordagem diagnóstica do ponto de vista custo-benefício bem como uma melhor compreensão da relação fenótipo-genótipo nos pacientes com desequilíbrios genômicos em 22q11.2.

### 3 MATERIAL E MÉTODOS

#### 3.1. Casuística

O banco de dados do Laboratório de Investigação em Genética Humana (LIGH- Dept de Genética e Biologia Evolutiva – IBUSP) contém nesse momento, resultados de análise por *microarray* genômico de 6.189 casos, dos quais 83 indivíduos encaminhados para o serviço de aconselhamento genético da Universidade de São Paulo, (USP) ou para a Deoxi Biotecnologia (Neogen), entre os anos de 2.007 e 2.018, apresentaram ganhos e perdas em 22q11.2. Através de uma parceria com o Laboratório de Citogenômica do Departamento de Patologia da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, também foram incluídos nesse projeto, seis casos contendo duplicações em 22q11.2 encaminhados pela Dr<sup>a</sup> Marília Moreira Montenegro.

Este estudo é parte do projeto de pesquisa aprovado pelo Comitê de Ética do Instituto de Biociências da Universidade de São Paulo: “*Arrays* genômicos em citogenética de alta resolução: Melhorando o diagnóstico de anomalias congênitas” sob o protocolo de número 075/2007 em 18 de dezembro de 2007. Os pais ou responsáveis pelos pacientes assinaram termo de consentimento informado.

#### 3.2. Extração do DNA

O DNA de amostras de sangue ou de saliva dos pacientes foi isolado usando um protocolo padrão de fenol-clorofórmio (Sambrook et al., 1989).

#### 3.3. SNP array

O DNA genômico dos pacientes, foram hibridizados em CytoSNP 850K BeadChip (Illumina, EUA), de acordo com as instruções do fornecedor, O chip contém 850.000 sondas SNP cobrindo todo o genoma. Os dados foram analisados utilizando o *Software BlueFuse Multi 4.1* (BlueGnome Ltd., Cambridge, Reino Unido).

#### 3.4. Array-CGH

O *array*-CGH foi realizado por co-hibridização de DNA genômico dos pacientes às amostras de referência na plataforma da Agilent Technologies (Design 22060), contendo aproximadamente 170.000 sondas oligonucleotídicas distintas distribuídas ao longo do genoma com espaçamento de aproximadamente 13 kb ao longo do genoma e 11 kb em Refseq genes. A hibridização e as lavagens foram realizadas de acordo com o protocolo do fabricante. As imagens digitalizadas dos *arrays* foram processadas usando o *software Feature Extraction* e os



dados foram analisados com o *software Genomic Workbench*, ambos da *Agilent Technologies*. O algoritmo estatístico *Aberration Detection Method 2 (ADM2)* foi utilizado com um limiar de sensibilidade de 6,7. Considerou-se duplicado ou deletado um segmento genômico quando a relação  $\log_2$  das intensidades fluorescentes Teste / Referência de uma determinada região abrangendo pelo menos três sondas estava acima de 0,3 ou abaixo de 0,3, respectivamente. CNVs detectadas foram comparadas com dados de banco de dados de CNVs detectadas em populações controle [DGV; <http://projects.tcag.ca/variation/>] ou de indivíduos com fenótipos (DECIPHER - <https://decipher.sanger.ac.uk/>)

### 3.5. Etapas da pesquisa

- a) Levantamento dos casos com duplicações ou deleções em 22q11.2 entre os pacientes documentados no banco de dados do LIGH e encaminhados para investigação por análise por *microarray* cromossômico, assim como os dados clínicos disponíveis dos pacientes atendidos.
- b) Os pacientes com alterações na região 22q11.2 tiveram as coordenadas genômicas das alterações detectadas no teste de CMA compiladas e as CNVs classificadas conforme Riggs et al. (2020).
- c) Foram levantados nos bancos de dados e nas fichas dos pacientes, os motivos de encaminhamento para o teste. Adicionalmente, foram compiladas outras alterações fenotípicas que estivessem registradas, mesmo que não fossem o motivo primário de encaminhamento
- d) A partir das manifestações descritas mais recorrentes, (presentes em pelo menos 10% dos casos), foram realizadas análises comparativas a fim de determinar se há diferença entre as manifestações clínicas entre as deleções/duplicações 22q11.2 típicas e atípicas.

### 3.6. Processamento dos Dados

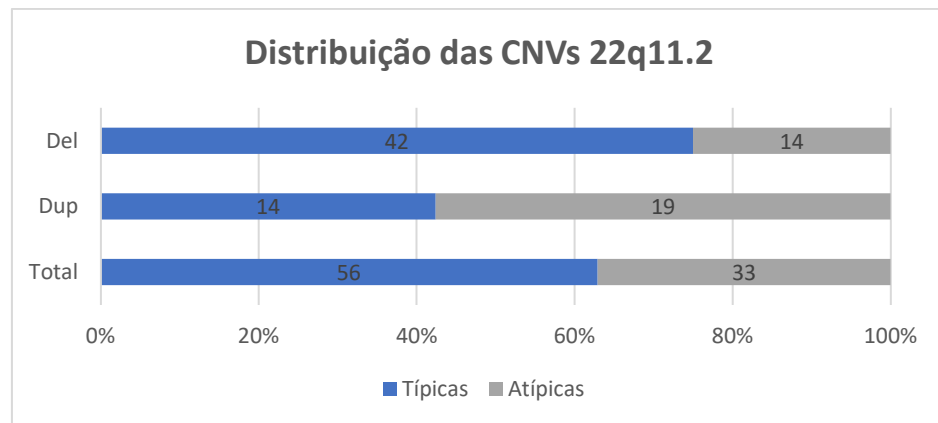
- a) Coleta de resultados de CMA para identificar aqueles que contenham duplicações ou deleções 22q11.2.
- b) Divisão de grupos de pacientes quanto aos tipos de mutação: típica e atípicas, estas últimas sobretudo se apresentarem pontos de quebra fora das LCR.
- c) Identificação de outros desequilíbrios genômicos fora da região 22q11.2.
- e) Análise das variantes de cada paciente nos *genomes browsers*, e pesquisa dos genes envolvidos em cada alteração.

- f) Identificação dos principais motivos clínicos para encaminhamento para CMA.
- g) Analisar se há correlação entre quadro clínico com as variantes encontradas
- h) Investigar se há sinais clínicos ou conjuntos de sinais clínicos específicos de encaminhamento que permitiriam reconhecer, *à priori*, os pacientes mais prováveis de apresentar alterações em 22q11.2.
- i) Os dados foram tabulados em planilhas EXCEL (*Microsoft Office*), para comparação, obtenção das frequências em porcentagem e elaboração de gráficos e tabelas.
- j) Para análise dos dados, foram consultados: *Online Mendelian Inheritance in Man* (OMIM) – (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/omim>); *ClinGen - Clinical Genome Resource* (<https://www.clinicalgenome.org/>); *Database of Chromosomal Imbalance and Phenotype in Humans using Ensembl Resources* (DECIPHER) – (<http://www.sanger.ac.uk/PostGenomics/decipher>); *Cytogenomics Array Group CNV Database* (CAGdb) – (<http://cagdb.org/>); e *University of California Santa Cruz Genome Browser* (UCSC Genome Browser) – (<https://genome.ucsc.edu/cgi-bin/hgGateway>).
- k) A análise das alterações foi feita da seguinte forma: no *UCSC Genome Browser*, foram inseridas as coordenadas da região alterada. Com este banco de dados é possível verificar os genes envolvidos e tem-se acesso a bancos de dados correlacionados (citados acima). Assim pode ser verificada a classificação dada à alteração e comparação do fenótipo do indivíduo com os documentados no DECIPHER, se os genes encontrados possuem alguma relação com doenças genéticas conhecidas (OMIM) e se a alteração já foi relatada pela literatura. Em seguida, as alterações não reconhecidamente patogênicas são analisadas com apoio na literatura, obtida através de pesquisa no *Pubmed* (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed>), no sentido de verificar informações sobre a região e/ou genes envolvidos.
- l) Casos cuja manifestação clínica não pode ser seguramente atribuída apenas à deleção/duplicação 22q11.2, por possuírem CNVs coexistentes classificadas como patogênicas ou provavelmente patogênicas, foram analisados separadamente dos testes de comparação entre deleção/duplicação típica e atípica.

## 4 RESULTADOS

Oitenta e três pacientes entre os 6.189 investigados por CMA pela equipe do laboratório de Genética Humana, em conjunto com outros seis casos do Laboratório de Citogenômica do Departamento de Patologia da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo apresentaram ganhos e perdas em 22q11.2. A **Figura 3** apresenta a distribuição de CNVs encontradas no total de casos.

**Figura 3** - Distribuição das CNVs 22q11.2 encontradas no total de casos analisados. As típicas estão localizadas entre LCR A-D ou A-B e incluem o gene *TBX1*. Duplicações entre LCRs não envolvendo o gene *TBX1* são consideradas atípicas



Na **Tabela 1** estão apresentados os casos contendo desequilíbrios genômicos detectados apenas em 22q11.2 e classificados conforme a região flanqueada pelas LCRs, entre A e I, como ilustrado na **Figura 4** (Endelmann et al., 1999; Burnside et al., 2015 e Yu et al., 2019). Na **Tabela 2** estão os casos que apresentam CNVs adicionais.

**Tabela 1** - Distribuição das CNVs 22q11.2 encontradas nos casos estudados

LCRs flanqueadoras	<i>TBX1</i>	del22q11	dup22q11	Total
A-D	Sim	34	9	43
A-B	Sim	0	1	1
A-B	Não	3	2	5
A-D	Não	3	0	3
B-C	Não	0	1	1
*A-A	Não	0	1	1

**Tabela 1 – Conclusão.**

<b>LCRs flanqueadoras</b>	<b>TBX1</b>	<b>del22q11</b>	<b>dup22q11</b>	<b>Total</b>
A-C	Sim	1	0	1
A-A	Sim	1	0	1
D-G	Não	1	0	1
C-D	Não	1	0	1
D-D	Não	0	2	2
D-E	Não	2	0	2
E-F (E*G)	Não	2	0	2
E-*G (E-F)	Não	0	1	1
E-I (E*H*)	Não	0	1	1
G-I (*GH*)	Não	0	3	3
H-I	Não	0	2	2
<b>Total</b>		<b>48</b>	<b>23</b>	<b>71</b>

**Tabela 2 - Distribuição dos casos que apresentam CNVs adicionais à região 22q11.2**

<b>LCRs flanqueadoras</b>	<b>TBX1</b>	<b>del22q11</b>	<b>dup22q11</b>	<b>Total</b>
A-D	Sim	3	1	4
A-B	Sim	2	2	4
A-B	Não	1	5	6
A-I	Sim	0	1	1
D-E	Não	1	0	1
D-G	Não	1	0	1
F-I	Não	0	1	1
<b>Total</b>		<b>8</b>	<b>10</b>	<b>18</b>

#### 4.1. Duplicações 22q11.1

Os casos foram analisados com relação às alterações descritas nos motivos de encaminhamento para a investigação genética (**Tabela 3**). As alterações mais recorrentes, (presentes em pelo menos 10% do total de casos), foram incluídas (**Tabela 3**). Foram considerados apenas os casos de duplicações isoladas ou com CNVs coexistentes classificadas como benignas ou provavelmente benignas e não provenientes de rearranjo com outro cromossomo. CNVs coexistentes, classificadas como patogênicas, provavelmente patogênicas e/ou provenientes de rearranjos entre outros cromossomos, (casos 1, 2, 3, 4, 5, 7, 8, 9 e 10), não foram consideradas na distribuição de frequências, mas podem ser consultadas no **Anexo B**.

#### 4.1.1. Descrição das duplicações 22q11.1

As duplicações entre as LCRs A e D ou A e B que incluem o gene *TBX1*, ao qual são atribuídas as características centrais da síndrome, foram consideradas típicas; aquelas não incluindo o gene *TBX1*, foram consideradas atípicas.

Os casos (Dup2; Dup4; Dup7 e Dup9), contendo CNVs adicionais, classificadas como patogênicas ou provavelmente patogênicas, ou com rearranjos cromossômicos, foram excluídos das análises.

Quatro casos assintomáticos (Dup13, Dup18, Dup20 e Dup27) foram identificados em genitores de pacientes portadores e sintomáticos. Desses casos, apenas a Dup13 é um caso típico, com duplicação mapeada entre as LCR A e D. Entre os casos 20 casos sintomáticos de duplicações, 40%, (8/20) são típicas, localizando-se entre as LCRs A e D. As atípicas são 60% (12/20) e distribuem-se: 35% (7/20) entre LCR A e D, mas não incluem o gene *TBX1*. Uma minoria de 25% dos casos (5/20) de duplicações mapeia entre LCRs distais (**Tabela 4**).

**Tabela 3 -** Resumo dos fenótipos presentes nos casos de SDup22q11.2 típicas (sombreadas) e atípicas. Continua

Fenótipo	Casos de Dup22q11.2 típicas											Casos de Dup22q11.2 atípicas												
	11	12	13	14	15	16	17	18	31	32	6	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30	33
Assintomático			X					X				X								X				
Dismorfismo crânio/facial	X	X		X	X				X	X					X		X			X	X	X		
Atraso desenvolvimento/DI		X		X	X	X	X		X	X					X	X				X	X	X	X	X
Comportamental/ Psiquiátrico	X				X	X			X		X				X	X		X						
Displasias ungueais	X			X				X	X															X
Déficit ponderal/BE				X				X	X	X										X	X	X	X	X
Infecções Recorrentes								X	X											X	X	X	X	X
Constipação Crônica								X	X											X				X
Fenda labial/palatina					X						X										X			
Convulsões									X											X	X			
Alterações Pulmonares									X											X	X			
Cegueira									X											X		X		
Microcefalia		X						X																X
AGD								X		X												X		
Ponte nasal alongada								X	X															X
Atraso de fala/linguagem									X		X													
TEA	X					X																		



Tabela 3 – Conclusão

Fenótipo	Casos de Dup22q11.2 típicas											Casos de Dup22q11.2 atípicas												
	11	12	13	14	15	16	17	18	31	32	6	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30	33
TN aumentada														X										
Torcicolo congênito														X										
Hemangioma hemiface															X									
Hipotonia															X								X	
Pé torto congênito															X			X						
Hipertonia MS															X						X	X	X	
Alterações SNC															X								X	
Obesidade																X								
Epilepsia										X											X			
Hipoparatiroidismo										X														
Hepatomegalia																							X	
Asplenia																							X	
Hemangioma corporal																								X
Hipertricose					X																			
Hipocalcemia										X														

**Legenda:** **DI** (deficiência intelectual); **RCIU** (retardo do crescimento intrauterino); **ADNPM** (atraso do desenvolvimento neuro psicomotor); **AGD** (atraso global do desenvolvimento); **BE** (Baixa estatura); **TEA** (transtorno do espectro autista); **MS** (membros superiores) e **SNC** (sistema nervoso central).



Os casos de duplicações 22q11 que serão considerados na distribuição de frequência, estão descritos e diferenciados conforme: a inclusão na duplicação do gene *TBX1*, coordenadas genômicas, tamanho, localização citogenética e quanto aos pontos de quebra entre as LCRs e a classificação da variante (**Tabela 4**). Há casos contendo CNVs coexistentes, das quais cinco delas, (01, 03, 05, 08 e 10), foram classificadas como patogênicas (P), ou provavelmente patogênicas (PP), que podem ser consultadas no **Anexo D**. Os casos que possuem duplicações isoladas, ou cuja CNV adicional é provavelmente benigna (**Tabela 4**), foram considerados para análise comparativa. Casos como os das duplicações 2, 4, 7 e 9, foram desconsiderados da análise, por possuírem cariótipos alterados ou a duplicação proveniente de rearranjos entre cromossomos, mas também podem ser consultados no **Anexo D (Tabela 13)**. A localização detalhada contendo os genes e patologias relacionadas de todas as CNVs, podem ser consultadas no **Anexo A (Tabela10)**.

**Tabela 4** - Localização e classificação das SDup22q11.2 sem CNVs adicionais patogênicas ou provavelmente patogênicas. Os casos estão agrupados quanto a duplicação do gene *TBX1*, quanto aos pontos de quebra entre as LCRs flanqueadoras (A-I) e quanto ao resultado de CMA. Continua

<i>TBX1</i>	LCR	Caso	Idade	Sexo	arr[GRCh37]	Tamanho	Classificação da CNV
Sim	A-D	Dup11	7	M	arr[GRCh37] 22q11.2(18886915_21811991)x3	2,9 Mb	P
Sim	A-D	Dup12	1	F			
Sim	A-D	Dup13	35	M	arr[GRCh37] 22q11.2(18886915_21463730)x3	2,5 Mb	P
Sim	A-D	Dup14	6	M			
Sim	A-D	Dup15	3	F	arr[GRCh37] 22q11.2(18886915_21462353)x3	2,5 Mb	P
Sim	A-D	Dup16	9	M	arr[GRCh37] 22q11.2(18989020_21910280)x3	2,9 Mb	P
Sim	A-D	Dup17	8	F	arr[GRCh37] 22q11.2(18886915_21811991)x3	2,9 Mb	P
Sim	A-D	Dup31	-	M			
Sim	A-D	Dup32	-	F	arr[GRCh37] 22q11.2(18844632_21463730)x3	2,9 Mb	P
Sim	A-*B	Dup18	29	M	arr[GRCh37] 22q11.2(18891398_20308800)x3	1,4Mb	P
Não	A-*B	Dup06	2	F	arr[GRCh37] 22q11.2(18,886915_19008108)x3	121,2 kb	PB
					arr[GRCh37] 8p11.2(43013936_43791691)x3	777,7 kb	PB
Não	*G-H*	Dup19	-	M	arr[GRCh37] 22q11.2(23696101_24960049)x3	1,2 Mb	P
Não	*G-H*	Dup20	-	F	arr[GRCh37] 22q11.2(23822784_24960049)x3	1,2 Mb	P
Não	*G-H*	Dup21	-	-	arr[GRCh37] 22q11.2(23717987_24998182)x3	1,3 Mb	P
Não	*A-A	Dup22	3	F	arr[GRCh37] 22q11.2(16114244_18844632)x3	2,7 Mb	P
Não	A-*B	Dup23	0,6	M	arr[GRCh37] 22q11.2(18886915_19008108)x3	121 Kb	PB
Não	A-*B	Dup24	6	F	arr[GRCh37] 22q11.2(18886915_19008108)x3	121 Kb	PB
Não	E-*G	Dup25	12	M	arr[GRCh37] 22q11.2(23249390_23648009)x3	398,6 Kb	PP
Não	*C-D	Dup26	4	F	arr[GRCh37] 22q11.2(21062566_21463730)x3	401,2 Kb	P
Não	E*-H*	Dup27	-	F	arr[GRCh37] 22q11.2(22998284_24997023)x3	2 Mb	P
Não	D-D*	Dup28	-	F	arr[GRCh37] 22q11.2(22314463_22561973)x3	247,5 kb	PB
Não	D-D*	Dup30	-	F	arr[GRCh37] 22q11.2(22302762_22550078)x3	247,3 kb	PB
Não	H-H*	Dup29	-	F	arr[GRCh37] 22q11.2(25711667_25910879)x3	199,2 Kb	PB
Não	H-H*	Dup33	-	F	arr[GRCh37] 22q11.2(25665985_25910879)x3	244,9 Kb	PB

**Legenda:** F (feminino); M (masculino); NR (não reportado); P (patogênica), PP (provavelmente patogênica), B (benigna) e PB (provavelmente benigna).

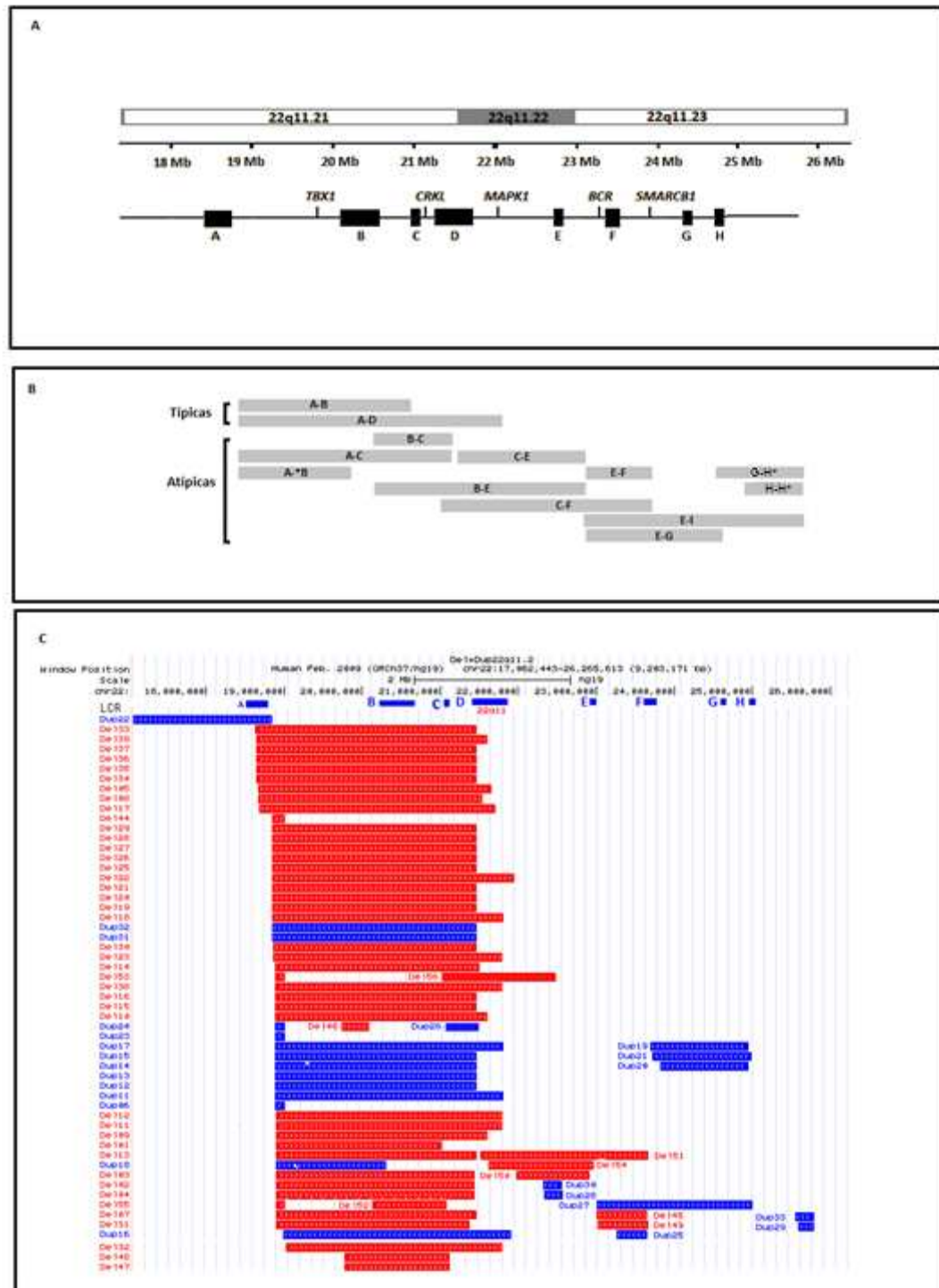
Os casos apresentados que foram considerados para distribuição de frequência estão agrupados conforme os fenótipos mais recorrentes (**Tabela 3**), gerando as diferentes categorias que estão apresentadas a seguir (**Tabela 5**).

**Tabela 5** - Apresentação dos fenótipos e respectivas frequências entre os 24 casos de Dup22q11.2 isoladas ou com CNVs coexistentes benigna ou provavelmente benignas. Deste total de casos, vinte apresentam alterações relatadas no encaminhamento à investigação genética e quatro são assintomáticos. Os casos estão separados entre duplicações típicas e as atípicas.

Fenótipos recorrentes	Típica		Atípica		Total	
	Nº	%	Nº	%	Nº	%
<b>DF</b>	6/8	75	8/12	66,7	14/20	70
<b>AD/DI</b>	7/8	87,5	6/12	50,0	13/20	65
<b>COMPORT.</b>	4/8	50	4/12	33,3	8/20	40
<b>DU</b>	4/8	50	1/12	8,3	5/20	25
<b>DEFPO</b>	3/8	37,5	5/12	41,7	8/20	40
<b>IR</b>	2/8	25	3/12	25	5/20	25
<b>COC</b>	2/8	25	2/12	16,7	4/20	20
<b>FENDA</b>	1/8	12,5	2/12	16,7	3/20	15
<b>CONV</b>	1/8	12,5	2/12	16,7	3/20	15
<b>AP</b>	1/8	12,5	2/12	16,7	3/20	15
<b>CEG</b>	1/8	12,5	2/12	16,7	3/20	15

**Legenda:** **AD/DI** (atraso do desenvolvimento/ deficiência intelectual); **DF** (dismorfismos faciais); **COMPORT** (alterações comportamentais); **FENDA** (fenda labial/palatina); **DU** (displasia ungueais/dedos/unhas); **CONV** (convulsões); **IR** (infecções recorrentes); **COC** (constipação crônica); **AP** (alterações pulmonar/respiratória); **CEG** (cegueira) e **DEFPO** (déficit ponderal).

**Figura 4** - Representação esquemática e apresentação dos casos de deleções e duplicação 22q11.2 da nossa coorte. (A) LCRs conhecidas em 22q11.2 (B) Classificação das CNVs conforme LCRs flanqueadoras e presença/ausência de *TBX1* (C). Casos de deleções (vermelho) e duplicações (em azul) analisados nesse estudo



Inspirado em Li et al., (2019). Dados gerados com recursos do USCC Genome Browser (<http://genome.cse.ucsc.edu/>).

#### 4.2. Deleções 22q11.2

Da mesma forma que nos casos de duplicações 22q11.2, os casos de deleções foram analisados com relação às alterações descritas no encaminhamento para investigação genética (Tabelas 6 e 7); as alterações mais recorrentes foram agrupadas para análise.

As tabelas 6 e 7, apresentam os fenótipos descritos como motivos de encaminhamento para análise de CMA. Na tabela 6, estão as Del22q11.2 classificadas como típicas (do caso Del 01 ao caso Del28) e a tabela 7, as atípicas (Del29 a Del39).

**Tabela 6** - Resumo dos fenótipos presentes nos casos de SD22q11.2 típicas. Os casos Del38 e Del 39, contém CNVs coexistentes. Continua.

Fenótipo	Casos SD22q11.2 típicas																																					
	Del01	Del02	Del03	Del04	Del05	Del07	Del08	Del09	Del10	Del11	Del12	Del13	Del14	Del15	Del16	Del17	Del18	Del19	Del20	Del21	Del22	Del23	Del25	Del26	Del27	Del28	Del29	Del30	Del31	Del32	Del33	Del34	Del35	Del36	Del37	Del38	Del39	
DCF	X				X		X			X	X	X	X	X		X		X	X	X		X		X	X	X	X	X		X	X	X	X	X	X	X	X	X
Fenda													X																								X	
Hipodontia					X														X																			
Hipotelorismo											X																											
DAU					X									X		X			X								X								X			
CC			X					X									X		X	X	X			X	X							X	X					X
Hip/miop						X								X																								
RCIU			X				X																															
DEFPO			X					X					X	X										X							X	X					X	
DI/AD	X	X		X	X	X	X		X	X	X		X	X	X	X			X		X	X	X	X	X	X	X	X	X	X				X	X	X	X	X
NC	X			X	X				X						X			X																				
TEA															X			X										X									X	
AI																	X																					
Perda auditiva					X									X						X																X		



**Tabela 6 - Conclusão.**

Fenótipo	Casos SD22q11.2 típicas																																								
	Del01	Del02	Del03	Del04	Del05	Del07	Del08	Del09	Del10	Del11	Del12	Del13	Del14	Del15	Del16	Del17	Del18	Del19	Del20	Del21	Del22	Del23	Del25	Del26	Del27	Del28	Del29	Del30	Del31	Del32	Del33	Del34	Del35	Del36	Del37	Del38	Del39				
Hipoton./miop.																																						X			
Artropatias																																							X		
Alt. SNC																																							X	X	X

**Fonte:** elaborado com dados do Laboratório de Genética do Instituto de Biociências da USP. **Legenda:** **DCF** (dismorfismo crânio/facial); **Fenda** (fenda labial/palatina); **DAU** (displasias auriculares/orelha displásica/implantação baixa); **CC** (cardiopatía congênita); **DI/AD** (deficiência intelectual/atraso de desenvolvimento); **Hip/miop.** (hipotonia/miopatia); **RCIU** (retardo do crescimento intrauterino); **DEFPO** (déficit ponderal); **NC** (alterações neuropsiquiátricas/comportamentais/cognitivas); **TEA** (transtorno do espectro autista); **AI** (ânus imperfurado); **AOF** (alterações oftalmológicas); **DU/D** (displasias unhas/dedos), **Aracnodac.** (aracnodactilias); **PTC** (pé torto congênito); Icterícia neo. (icterícia neonatal); **Alt. Renais** (alterações renais); **Hipotireoid.** (hipotireoidismo); **Pré-mat.** (pré-maturidade); **Disp. nasal** (displasias nasais); **Alt. SNC** (alterações do sistema nervoso central).

A **Tabela 7** apresenta casos de SD22q11.2 atípicas conforme o motivo de encaminhamento. Os casos contendo CNVs coexistentes (Del40, Del41, Del42 e Del43), classificadas como patogênicas ou provavelmente patogênicas, não foram consideradas para análise comparativa, mas podem ser consultados no **Anexo III (Tabela 12)**.

**Tabela 7** - Resumo dos fenótipos presentes nos casos Del44 ao Del56 de SD22q11.2 atípicas. Os casos Del44 e 45 contém CNVs coexistentes.

Casos SD22q11.2 atípicas													
Fenótipo	Del44	Del45	Del46	Del47	Del48	Del49	Del50	Del51	Del52	Del53	Del54	Del55	Del56
DCF	X	X		X		X		X			X	X	X
Microcefalia						X							
Disp Nasal		X											
Epicanto								X					
Blefarofimose								X					
Hipertric. Nev.												X	
Hipotelorismo					X								
DAU								X					
CC											X		
DI/AD	X	X	X	X	X	X			X	X		X	X
Hipoton./miop.		X											
DEFPO	X												
NC		X	X				X		X			X	
Ânus Imp.													X
Artropatias		X						X					
DU/D		X						X				X	
Convulsões		X											
Epilepsia		X											
Alt. Renais					X								

**Fonte:** elaborado com dados do Laboratório de Genética do Instituto de Biociências da USP. **Legenda:** DCF (dismorfismo crânio/facial); **Fenda** (fenda labial/palatina); **Disp. nasal** (displasias nasais); **Hipertric. Nev.** (hipertricrose nevíde); **DAU** (displasias auriculares/orelha displásica/implantação baixa); **CC** (cardiopatia congênita); **DI/AD** (atraso do desenvolvimento); **Hip/miop.** (hipotonia/miopatia); **DEFPO** (déficit ponderal); **NC** (alterações neurocomportamentais); **Ânus imp.** (ânus imperfurado); **AOF** (alterações oftalmológicas); **DU/D** (displasias unhas/dedos); **PTC** (pé torto congênito); **Alt. SNC** (alterações do sistema nervoso central); **Alt. Renais** (alterações renais).



#### 4.2.1. Descrição das deleções 22q11.2

Aqui, também consideramos apenas os casos de deleções isoladas ou com CNVs coexistente classificadas como benignas ou provavelmente benignas e não proveniente de rearranjo com outro cromossomo. Os casos estão descritos na **Tabela 8**. Casos contendo CNVs coexistente patogênicas ou provavelmente patogênicas, ou com rearranjos entre outros cromossomos podem ser consultados no **Anexo E**. Na **Tabela 9** estão apresentados os motivos de encaminhamento mais recorrentes dos 50 casos analisados de SD 22q11.2, sendo 37 deleções típicas e 13 deleções atípicas.

**Tabela 8** – Localização e classificação das CNVs entre os casos SD22q11. Os casos estão agrupados quanto a deleção do gene *TBX1*, quanto aos pontos de quebra entre as LCRs flanqueadoras (A-G) e quanto ao resultado de CMA

<i>TBX1</i>	LCR	Caso	Idade (anos)	Sexo	Arr [GRCh37]	Tamanho	Classificação da CNV
Sim	A-C	Del01	18	M	arr[GRCh37] 22q11.2(18890162_21026837)x1	2,1 Mb	P
Sim	A-D	Del02	22	F	arr[GRCh37] 22q11.2(18894620_21440656)x1	2,5 Mb	P
Sim	A-D	Del03	NR	F	arr[GRCh37] 22q11.2(18894620_21440656)x1	2,5 Mb	P
Sim	A-D	Del04	5	F	arr[GRCh37] 22q11.2(18894820_21440515)x1	2,5 Mb	P
Sim	A-D	Del05	12	F	arr[GRCh37] 22q11.2(18661699_21661435)x1	2,9 Mb	P
Sim	A-D	Del07	10	F	arr[GRCh37] 22q11.2(18894902_21464056)x1	2,5 Mb	P
Sim	A-D	Del08	0,5	M	arr[GRCh37] 22q11.2(18661758_21540287)x1	2,9 Mb	P
Sim	A-D	Del09	NR	M	arr[GRCh37] 22q11.2(18889490_21608479)x1	2,7 Mb	P
Sim	A-D	Del10	12	M	arr[GRCh37] 22q11.2(18886915_21608479)x1	2,7 Mb	P
Sim	A-D	Del11	11	F	arr[GRCh37] 22q11.2(18889490_21797812)x1	2,9 Mb	P
Sim	A-D	Del12	10	M	arr[GRCh37] 22q11.2(18889490_21797812)x1	2,9 Mb	P
Sim	A-D	Del13	10	F	arr[GRCh37] 22q11.2(18891398_21463730)x1	2,6 Mb	P
Sim	A-D	Del14	10	M	arr[GRCh37] 22q11.2(18877523_21505417)x1	2,6 Mb	P
Sim	A-D	Del15	1	M	arr[GRCh37] 22q11.2(18886915_21463730)x1	2,6 Mb	P
Sim	A-D	Del16	5	M	arr[GRCh37] 22q11.2(18886915_21463730)x1	2,6 Mb	P
Sim	A-D	Del17	12	M	arr[GRCh37] 22q11.2(18680130_21713055)x1	3 Mb	P
Sim	A-D	Del18	0,5	F	arr[GRCh37] 22q11.2(18844632_21811991)x1	2,9 Mb	P

Tabela 8 – Continuação

<i>TBX1</i>	LCR	Caso	Idade (anos)	Sexo	Arr [GRCh37]	Tamanho	Classificação da CNV
Sim	A-D	Del19	3	M			P
Sim	A-D	Del20	1	M	arr[GRCh37] 22q11.2(18844632_21463730)x1	2,6 Mb	P
Sim	A-D	Del21	0,04	M			P
Sim	A-D	Del22	10	F	arr[GRCh37] 22q11.2(18844632_21947644)x1	3,1 Mb	P
Sim	A-D	Del23	33	F	arr[GRCh37] 22q11.2(18861748_21797812)x1	2,9 Mb	P
Sim	A-D	Del25	1	F	arr[GRCh37] 22q11.2(18844632_21463730)x1	2,6 Mb	P
Sim	A-D	Del26	0,2	M			P
Sim	A-D	Del27	27	M			P
Sim	A-D	Del28	6	M	arr[GRCh37] 22q11.2(18844632_21463730)x1	2,6 Mb	P
Sim	A-D	Del29	3	F			P
Sim	A-D	Del30	9	M	arr[GRCh37] 22q11.2(18861748_21463730)x1	2,6 Mb	P
Sim	A-D	Del31	NR	F	arr[GRCh37] 22q11.2(18896972_21379958)x1	2,4 Mb	P
Sim	A-D	Del32	10	M	arr[GRCh37] 22q11.2(19024793_21800471)x1	2,8 Mb	P
Sim	A-D	Del33	1	M			P
Sim	A-D	Del34	2	M			P
Sim	A-D	Del35	1	M	arr[GRCh37] 22q11.2(18633446_21463730)x1	2,8 Mb	P
Sim	A-D	Del36	3	F			P
Sim	AD	Del37	5	M			P
Sim	A-D	Del38	2	M	arr[GRCh37] 22q11.2(18886915_21797812)x1 arr[GRCh37] 6q12(64765824_64818879)x1	2,9 Mb 53,06 kb	P PB
Sim	A-D	Del39	5	F	arr[GRCh37] 16q23(84014563_84136233)x3 arr[GRCh37] 16q24(84435229_85141661)x3 arr[GRCh37] 22q11.2(18640300_21608479)x1	121,7 kb 706,43 kb 3,0 Mb	PB PB P
Não	A-A	Del44	08	F	arr[GRCh37] 22q11.2(18844632_19008108)x1 arr[GRCh37] 15q26(100357435_100596154)x3	163.5 kb 238.7 kb	PB PB
Não	D-G	Del45	NR	F	arr[GRCh37] 22q11.2(22998992_23648478)x1 arr[GRCh37] 4q28(129462245_129598078)x3	649,5 kb 135.8 kb	PP PB
Não	A-*B	Del46	NR	F	arr[GRCh37] 22q11.2(19771455_19771891)x1	537 pb	PP
Não	A-*D	Del47	NR	M	arr[GRCh37] 22q11.2(19771355_21123068)x1	1,35 Mb	P
Não	A-*D	Del48	16	F			P
Não	E-*G	Del49	11	M	arr[GRCh37] 22q11.2(23011869_23654378)x1	642 Kb	PP

**Tabela 8 – Conclusão**

<i>TBX1</i>	LCR	Caso	Idade (anos)	Sexo	Arr [GRCh37]	Tamanho	Classificação da CNV
Não	D-*E	Del50	16	M	arr[GRCh37] 22q11.2(21957395_22905025)x1	947 Kb.	P
Não	D-*G	Del51	12	M	arr[GRCh37] 22q11.2(21499435_23654237)x1	2,1 Mb.	P
Não	A-*D	Del52	NR	F	arr[GRCh37] 22q11.2(20287395_21235025)x1	947 Kb	P
Não	A-*B	Del53	NR	F	arr[GRCh37] 22q11.2(18886915_19008108)x1	121,2 kb	PB
Não	D-*E	Del54	0,25	F	arr[GRCh37] 22q11.2(21608479_22961501)x1	1,4 Mb	P
Não	A-*B	Del55	10	F	arr[GRCh37] 22q11.2(18894835_19010508)x1	116 kb	PB
Não	C-D	Del56	2	M	arr[GRCh37] 22q11.2(21024880_22475205)x1	1.5 Mb	P

**Fonte:** elaborado com dados do Laboratório de Genética do Instituto de Biociências da USP. **Legenda:** LCR (repetição de baixo número de cópias); CMA (análise por *microarray* cromossômico); CNV (variante de número de cópia); NR (não reportado); P (patogênica); PP (provavelmente patogênica); PB (provavelmente benigna).

**Tabela 9** - Apresentação dos fenótipos mais recorrentes entre os 50 casos de SDe122q11.2 considerados para análise, separados entre as deleções típicas e as atípicas. A coluna à esquerda, se refere ao número de casos que apresenta o fenótipo e a coluna à direita, é referente ao percentual que esse número de casos representa do total de casos individualmente (37 típicas e 13 atípicas).

Fenótipos recorrentes	Típica		Atípica		Total	
	Nº	%	Nº	%	Nº	%
<b>DCF</b>	26/37	70,27	8/13	61,54	34/50	68
<b>AD/DI</b>	29/37	78,37	10/13	76,92	39/50	78
<b>CC</b>	11/37	29,73	1/13	7,69	12/50	24
<b>NC</b>	8/37	21,62	5/13	38,46	13/50	26
<b>DEFPO</b>	8/37	21,62	1/13	7,69	9/50	18
<b>DAU</b>	6/37	16,22	1/13	7,69	7/50	14
<b>PTC</b>	5/37	13,51	0/13	0,00	5/50	10
<b>DU</b>	3/37	8,11	3/13	23,08	6/50	12

**Legenda:** **DCF** (dismorfismos crânio faciais); **DAU** (displasias auriculares); **CC** (cardiopatia congênita); **AD/DI** (atraso de desenvolvimento/ deficiência intelectual); **DEFPO** (déficit ponderal); **NC** (alterações comportamentais e/ou neuropsiquiátricas); **DU** (displasia de unhas/dedos); **PTC** (pé torto congênito).

## 5. DISCUSSÃO

As LCRs22 são as principais causas de del/dup 22q11.2 por recombinação homóloga não alélica (NAHR) (Shaw e Lupski, 2004). Nosso estudo identificou na triagem, um total de 89 casos com CNVs em 22q11.2, sendo que as típicas (englobando *TBX1*) são 75% (42/56) dentre as deleções e 42,4% (14/33) dentre as duplicações. A literatura relata que CNVs entre LCRs A-D estão presentes em mais de 90% dos casos de SD22q11, sendo que aqueles envolvendo LCRs E, F, G, H são pouco frequentes e estão associados a um fenótipo heterogêneo, incluindo atraso no desenvolvimento, defeitos cardíacos congênitos e maior risco de parto prematuro (Burnside, 2015; Guo et al., 2018).

Estima-se que a incidência de deleções atípicas de 22q11.2 na população, seja em torno de 2% (Campbell *et al*, 2018). Uma recente análise dos dados de sequenciamento de mais de 1.500 portadores de SD22q11.2 identificou seis indivíduos com deleções atípicas com um ponto de quebra proximal entre LCRs A e B, e não foram notadas diferenças significativas entre as manifestações clínicas destes portadores em comparação às deleções típicas. mas sugerem que pontos de quebra fora das LCRs possam estar envolvidos com mecanismos complexos na formação de deleções atípicas (Vervoort et al., 2019). Nossos resultados, tanto para deleção, mas especialmente para duplicações, apresentam uma quantidade significativamente mais elevada de CNVs com pelo menos um ponto de quebra fora das LCRs, (**Tabela 4 e Tabela 8**), em contraste com o sugerido por Vervoort e colaboradores (2019). No entanto, nossos casos de deleções e duplicações incluem pacientes com CNVs restritas ao gene *PRODH*. Nos primeiros anos do desenvolvimento deste projeto, alterações em *PRODH* eram fortes candidatos a causar esquizofrenia, porém a elevada frequência relatada atualmente, conforme dados do *Database of Genomic Variants* (DGV), evidenciam que variantes como as encontradas em nossos casos que envolvem apenas o gene *PRODH*, sejam comuns e encontradas em mais de 1% da população geral. Portanto, excluídos esses, a maioria dos nossos casos também mapeiam no intervalo entre LCRs A e D.

Li et al. (2019) compararam achados clínicos pré-natais em exames de ultrassom entre as diversas deleções e duplicações pelas diferentes LCRs em 22q11.2. Alterações estruturais detectadas por ultrassom eram mais frequentes nos portadores de deleções do que de duplicações. Os autores enfatizaram que há diferenças entre as CNVs centrais, proximais e distais e que alterações *de novo* foram um fator associado à decisão de interrupção da gestação quando comparado aos casos de CNVs herdadas.

Entre os 33 casos de SDup22q11.2, mais de 60 diferentes características foram relatadas entre os motivos de encaminhamento para o exame genético (**Tabela 03**). Esse dado claramente aumenta quando comparado com as deleções da mesma região e evidenciam uma heterogeneidade muito maior no motivo de encaminhamento. Os sinais clínicos mais recorrentes incluem (1) alterações comportamentais, como dificuldade de socialização e alterações de comportamento; (2) atraso do desenvolvimento, como deficiência intelectual, atraso no crescimento, na aprendizagem, fala, andar); (3) dismorfismos faciais como alterações crânio-faciais, ponte nasal alongada, fenda labial/palatina; (5) displasia ungueais/dedos/unhas; (6) convulsões; (7) infecções recorrentes; (8) constipação crônica; (9) alterações pulmonar/respiratória; (10) cegueira; (11) convulsões.

A heterogeneidade clínica e a penetrância incompleta da SDup22q11.2, dificultam a hipótese diagnóstica e a escolha direcionada de um teste específico, sendo a CMA um teste que permite uma investigação não direcionada ampla do genoma (Manning e Hudgins, 2010).

Entre os 33 indivíduos com duplicação em 22q11.2, excluímos nove casos por conter outras alterações que sugeriam que a duplicação poderia não ser a causa principal, ou ao menos não a única, do fenótipo. Excluindo quatro genitores assintomáticos (Dup13, Dup18, Dup20 e Dup27), temos: doze casos com CNVs classificados como patogênicas, uma classificada como provavelmente patogênicas e sete casos são provavelmente benignas.

Considerando os 23 casos de duplicações isoladas, 10/23 são típicas: 9/23 são do tipo A-D (incluindo os casos assintomáticos Dup13 e Dup18) e 1/23 tipo A-B e incluem o gene *TBX1*. As duplicações atípicas são 13/23 dos casos, sendo destas: 3/23 estão na LCR A, mas não incluem o gene *TBX1*; 1/23 tipo \*C-D; 2/23 D-D\*; 1/23 E-\*G; 3/23 estão entre G e H (incluindo o assintomático Dup20); 1/23 E\*-H\* (assintomático Dup20) e 2/23 são do tipo H-H\* (**Tabela 4**). Aqui, para uma análise mais detalhada, ainda incluímos os casos assintomáticos.

A possibilidade de identificar CNVs ainda pouco conhecidas, tanto em casos sintomáticos quanto em portadores assintomáticos com filhos afetados, como em nossos casos Dup13, 18, 20 e 27, demonstram não apenas a importância do profissional especializado não apenas no diagnóstico, mas também no aconselhamento genético (Patch e Middleton, 2018).

Estudos recentes associaram tanto as duplicações 22q11.2 típicas entre LCRA e LCRD, quanto duplicações centrais (C-D), ao risco aumentado para atraso neurocognitivo, especialmente TEA, independentemente do tamanho da CNV, (Woodward et al., 2019; Clements et al., 2017). Outro trabalho, comparou dados clínicos de nove casos de duplicação

22q11.2, dos quais dois, eram de homens, portadores assintomáticos. Em ambos os casos, tratava-se de uma duplicação distal, entre as LCRs G-I (Yu et al., 2019). Entre nossos casos temos duplicações distais semelhantes (Dup19, Dup 20, Dup21, Dup25 e Dup27), aos casos relatados por Yu et al. (2019), entretanto, as Dup20 e Dup27 pertencem a indivíduos sem quadro clínico, sendo inclusive, o caso Dup21, herdado da mãe Dup20, o que pode reforçar a ideia de que a variante seja benigna, ou ainda, pode ser explicado pela penetrância incompleta ou a possibilidade de um quadro transitório sem persistência na idade adulta, tal como sugeriram Yu e colaboradores, (2019).

Ainda com relação as duplicações distais em 22q11.2, temos outros casos interessantes para destacarmos: os Dup29 e Dup33, ambos em indivíduos com quadro clínico, portadores de duplicações envolvendo apenas o gene *LRPL5* e os casos Dup28 e Dup30, que são ambas duplicações presente em portadores com quadro clínico e envolve apenas os genes *TOPEB* e *VPREB1*.

Considerando os casos contendo duplicações típicas isoladas, sem CNVs coexistentes, há oito genes OMIM envolvidos em condições cuja herança é autossômica recessiva (AR), (*SLC25A1*; *CDC45*; *GP1BB*; *TXNRD2*; *TANGO2*; *SCARF2*; *PI4KA*; *SNAP29*) e seis genes com padrão dominante (AD): *PRODH*; *TBX1*; *COMT*; *RTNR4*; *SERPIND1*; *LZTR1*. Estudos sugerem que o *TBX1* (*T-Box transcription fator 1*), um gene com domínio de ligação a DNA, que codifica fatores de transcrição envolvidos na regulação de diversos processos do desenvolvimento, seja o principal gene responsável pelas manifestações clínicas das CNVs em 22q11.2. (Zweier et al., 2007). Os achados de Yagi et al., (2003), indicaram que as mutações de *TBX1* são responsáveis por cinco dos principais fenótipos (excluindo DI), que são componentes da SD22q11.2: dismorfismos faciais, defeitos cardíacos, hipoplasia tímica, insuficiência velofaríngea com fenda palatina e disfunção paratireoide com hipocalcemia.

Um exemplo, da importância de profissional especializado no acompanhamento pré e pós teste genético é o caso Dup03 (excluído de nossa análise por conter uma CNV patogênica coexistente). Trata-se do portador de uma Dup22q11.2 típica de 1,4 Mb herdada do pai assintomático (Dup13), envolvendo 29 genes, sendo nove genes OMIM. A duplicação no pai envolve exatamente os mesmos genes que no filho afetado, porém, chama a atenção, quando comparado aos demais casos de duplicações típicas por ser o único caso que não envolve os genes OMIM: *SCARF2*, *PI4KA*, *SERPIND1*, *SNAP29* e *LZTR1*. Adicionalmente, este paciente, além dessa alteração no 22, apresenta uma duplicação *de novo* de 246 kb em 11q12, contendo dois genes (*CLP1* e *CTNND1*) que na ocasião do teste, suportada pela literatura, foi classificada

como variante de significado incerto. Posteriormente, em 2017, Ghoumid e colaboradores, (2017), associaram mutações no gene *CTNND1* à Síndrome blefaroqueilodôntica, (herança AD), atribuída tipicamente a mutações no gene *CDHI* em 16q22.1. A síndrome blefaroqueilodôntica (OMIM #617681), é caracterizada por alterações palpebrais, hipertelorismo, fenda palpebral e palatina além de outras características comuns à SDup22q11.2 (Ababneh et al., 2014). Esse exemplo também demonstra a vantagem do CMA comparado à investigação focada por exemplo, por MLPA, e reforça ainda mais a necessidade de profissional especializado em aconselhamento genético, cujas responsabilidades vão além da confecção e entrega de um laudo, mas um compromisso ético em esclarecer ao consultante os limites do conhecimento no campo da genética médica em um dado momento, e a reinterpretção de variantes de significado incerto periodicamente (Patch e Middleton, 2018).

### **5.1. Comparação entre duplicação típica e atípica conforme os fenótipos centrais de cada caso**

Excluindo os casos contendo CNVs adicionais patogênicas ou possivelmente patogênicas, e os casos com rearranjos entre outros cromossomos, foram encontrados 10 casos contendo duplicações 22q11.2 típicas e 14 atípicas (**Tabela 5**), de modo geral, podemos dizer que há um predomínio de atraso do desenvolvimento e dismorfismos faciais, com idade média de diagnóstico de 7 anos nas típicas e 6,6 anos entre os casos de duplicações atípicas (**Tabelas 4 e 5**).

Temos seis casos de duplicações com CNVs coexistentes, onde cinco casos (Dup01; Dup03; Dup05; Dup08; Dup10) que podem ser consultados na tabela do **Anexo D (Tabela 13)**, cujas CNVs fora de 22q11.2 foram classificadas como patogênicas ou provavelmente patogênicas, e portanto, suas características clínicas não podem ser atribuídas com segurança apenas à duplicação 22q11.2; sendo assim, esses dados clínicos foram desconsiderados para cálculo de frequência. Apenas o caso Dup06, que contém uma CNV adicional provavelmente benigna foi considerado, juntamente com os demais 19 casos de SDup22q11.2 isoladas restantes, totalizando 20 pacientes distribuídos na **Tabela 5**.

Com relação a idade de diagnóstico nesse grupo, a idade variou desde 12 semanas gestacionais a 12 anos, (média de 4,26 anos). Quanto ao sexo, ficamos com 61% do sexo feminino e 39% para o masculino. Com relação ao fenótipo nossos resultados revelam que 70% (14/20), dos pacientes apresentaram sinais neurocognitivos que podem estar relacionados tanto com deficiência intelectual quanto com TEA, tal como atraso no desenvolvimento, atraso



de fala, dificuldade social e adaptativa, distúrbios de comportamento e déficit de atenção. Destes casos, 15% (3/20), têm características mais sugestivas de TEA, dois dos quais apresentam diagnóstico formal. Com relação a dismorfismos crânio e/ou faciais, 55% (11/20), possuíam estas características (**Tabela 3**).

As manifestações mais frequentes na SDup22q11.2 são: DI, atraso no desenvolvimento psicomotor, retardo de crescimento e hipotonia muscular (Wentzel et al., 2008), bem como outras características comuns entre a SDel22q11.2 e a SDup22q11.2 como: anormalidades cardíacas, hipoplasia tímica, face característica, hipocalcemia, retardo cognitivo, defeitos palatais e insuficiência velofaríngea (Portnoi, 2009). Nossos resultados estão centrados em 12 diferentes fenótipos que se apresentaram mais recorrentes em nosso grupo de casos estudados: atraso de desenvolvimento/deficiência intelectual; alterações comportamentais, (agressividade, dificuldade de socialização, TEA e déficit de atenção); dismorfismos faciais; fenda labial e/ou palatina; displasias em unhas e/dedos; convulsões; infecções recorrentes; constipação crônica; alterações pulmonares, cegueira e déficit ponderal, além disso, identificamos entre os progenitores de pacientes encaminhados, quatro portadores assintomáticos. Assim, entre todos os casos, 4/24, são genitores assintomáticos e com relação aos fenótipos, entre os 20 pacientes, 8/20 apresentaram alterações comportamentais, sendo dois destes, (caso Dup11 e Dup16), meninos de 7 e 9 anos com diagnóstico formal de TEA). Com relação a alterações crânio e/ou faciais, (incluindo diversos dismorfismos faciais), temos 55% (11/20); já com relação a atraso de desenvolvimento, (incluindo deficiência intelectual), temos estas características presentes em 65% (13/20) dos casos. Displasias em unhas e/ou dedos em 25% (5/20); déficit ponderal em 40% (8/20), e demais alterações, variaram entre 12% e 21% dos casos (**Tabela 5**).

A identificação de pequenas CNVs por CMA, pode ser importante aliada nas estratégias genômicas para o estudo de genes candidatos (Hoheisel, 2006). Os casos Dup28 e Dup30 possuem CNVs provavelmente benignas, com cerca de 247 kb na região típica dentro da LCR D, e os únicos genes envolvidos são: *TOP3B* e *VPREB1*. As Dup29 e Dup33, são duplicações distais atípicas à jusante da LCR H, envolvendo apenas o gene *LRP5L*.

Deleções do gene *TOP3B* (topoisomerase de DNA tipo 3B), já foram associadas à esquizofrenia e a comprometimento cognitivo (Stoll et al., 2013). Na DECIPHER, até maio de 2020, há relatos de 18 casos contendo deleções (ID DECIPHER 4625; 261309; 263308; 266246; 307779; 318024; 324416; 327632; 340131; 363278; 366431 376231; 379367; 380469 383969 385837; 385839; 400165; 409388; 412102), e 8 duplicações (ID DECIPHER: 251380;

266496; 273663; 281862; 286411; 337968; 340170, 370957 e 386867), envolvendo apenas o gene *TOP3B*. Entre as manifestações clínicas mais frequentes nas duplicações estão: dismorfismos faciais, DI, atraso no desenvolvimento na fala e na linguagem; manifestações comportamentais e sociais como TEA, TOC e TDAH; alterações de dedos e dentes. Duplicações 22q11.2 típicas distais, mesmo que pequenas estavam presentes em dois de nossos casos (Dup28 e Dup30), envolvendo apenas os genes *TOP3B* e *VPREB1*. Porém, o banco de dados DGV evidencia que alterações de cópias desse gene são frequentes na população.

O gene *LRP5L* (*LDL receptor related protein 5 like*), interage com os genes *CSNK2B* e o *PLK1* e já foi associado a epilepsia e alterações esqueléticas (Nasser et al., 2017; Van Wesenbeeck et al., 2003). Outros genes da mesma família, *LPR1* e *LPR4*, já foram associados à via de regulação de cartilagem articular e à miastenia congênita (Yamamoto et al., 2015; Rodríguez Cruz; Pallace e Beeson, 2014). Em nossos casos analisados, duplicações atípicas distais (H\*), os dois casos que envolviam apenas o gene *LRP5L* apresentavam alterações crânio faciais, atraso de desenvolvimento, baixa estatura e artropatias. No banco de dados DECIPHER, há sete casos de deleção atípicas distais, (ID DECIPHER: 4110; 250668; 261420; 276983; 283543; 301667 332057) e três de duplicações (ID DECIPHER 250106; 250692; 305705), semelhantes aos nossos casos Dup29 e Dup33. Entre as manifestações clínicas destacam-se: dismorfismos crânio/faciais, fenda labial e palatina, campodactilia, alterações em dentes e dedos, palato alto, deficiência intelectual, atraso no desenvolvimento de fala e linguagem e TDAH.

Infecções recorrentes foram relatadas em alguns casos de nossa coorte de Dup22q11.2, incluindo o caso Dup30 que envolve apenas os genes *TOP3B* e *VPREB1*. O gene *VPREB1* (V-Set Pre-B Cell Surrogate Light Chain 1) ou *CDI79a*, codifica para a cadeia leve que se associa à cadeia pesada da imunoglobulina, para formar um complexo molecular que é expresso na superfície das células iniciais de linfócitos B. Presume-se que esse complexo regule os rearranjos dos genes das imunoglobulinas na etapas iniciais da diferenciação das células B e que defeitos nessa regulação possam estar associados a doenças autoimune como artrite reumatoide (Zouali, 2014), Conidiobolomycosis, (Chiewchanvit et al., 2002) e imunodeficiências diversas (Ben-Ali et al., 2020, Halu et al., 2019).

Aparentemente não há diferença a penetrância de duplicações típicas e atípicas. Entre os 20 casos sintomáticos, não há diferença em relação à maioria das variáveis, distribuídas entre as manifestações clínicas, exceto por displasias em unhas e/ou dedos, (mais recorrente entre portadores de duplicações típicas). Atraso de desenvolvimento/deficiência intelectual, são

características que podem estar relacionadas a manifestações transitórias e/ou não persistentes ou discretas na idade adulta, o que dificulta ainda mais o diagnóstico desses portadores e o correto aconselhamento genético da SDup22q11.2.

Considerando os eventos que favorecem a formação dos desequilíbrios genômicos em 22q11.2, estima-se que a ocorrência da SDup22q11.2 é igual à SD22q11.2. Entretanto, entre os cerca de 6.000 exames de CMA de nosso laboratório, identificamos a princípio, mais de 70 casos de deleções e aproximadamente metade desse valor nos casos com duplicações. Assim mesmo, excluindo-se os casos com outras alterações alheias à região 22q11.2, continuamos com 50 deleções e 24 duplicações. Ainda que desconsideremos quatro casos de duplicações por serem assintomáticos, os três casos de deleção (Del44, Del53 e Del55), juntamente com mais um caso de duplicação (Dup6), pois abrangiam exclusivamente o *PRODH*, que atualmente é considerado polimorfismo, o número de deleções continua praticamente o dobro das duplicações.

Identificamos quatro casos de adultos assintomáticos: Dup13 (pai da Dup12); Dup18 (pai da Dup3); Dup20 (mãe de Dup19) e Dup27 (mãe da Dup5), através da investigação de herança de filhos encaminhados para investigação genética. Apenas os casos Dup12 e Dup19, cujas duplicações foram herdadas, permaneceram em nossa análise comparativa, pois os outros casos possuíam demais alterações que poderiam direta ou indiretamente influenciar nas manifestações clínicas do paciente. Dos 20 casos de duplicações com manifestações clínicas analisadas, apenas um caso (Dup6), possui uma CNV coexistente, classificada como provavelmente benigna, e que até o presente momento não há relação com as características apresentadas pelo paciente. Sendo assim, podemos admitir, que não havia outro desequilíbrio genético influenciando no fenótipo do portador em 19 casos.

Os resultados confirmam que a SDup22q11.2 pode ser uma relevante causa de atraso de desenvolvimento e deficiência intelectual na infância, bem como de manifestação de alterações comportamentais, e que diversos fatores podem contribuir para o sub diagnóstico da mesma, entre eles: penetrância incompleta, manifestações clínicas discretas que se amenizam ou não persistem na idade adulta.

Foram identificados 56 casos com deleções 22q11.2, (**Tabela 6** e **Tabela 7**), dos quais seis foram excluídos por conterem alterações maiores fora da região estudada (**Anexo E**). Dos 50 casos analisados, 37/50 típicas e 13/50 atípicas. Entre as deleções, 04 casos continham CNVs coexistentes (**Tabela 8**), e todas classificadas como provavelmente benignas. Assim, as

apresentações clínicas mais recorrentes entre os 50 casos analisados foram: dismorfismos crânio faciais, displasias auriculares, cardiopatia congênita, atraso de desenvolvimento (atraso do desenvolvimento neuropsicomotor ou deficiência intelectual); alterações comportamentais, baixa estatura; displasia de dedos ou unhas e pé torto congênito (**Tabela 6 e Tabela 7**).

No grupo de 50 casos SD22q11.2 analisados, assim como no grupo SDup22q11.2, há heterogeneidade clínica, ao todo mais de 40 diferentes características foram relatadas no encaminhamento destes (**Anexo 6**). Quatro dos casos (**Tabela 8**), continham CNVs coexistentes classificadas como provavelmente benignas, (Del38, Del39, Del44, Del45). Aqui, diferente dos casos de duplicação, onde a maioria das duplicações eram atípicas, temos 37/50 dos casos de deleções típicas, sendo que dentre estes, a idade média de encaminhamento para diagnóstico molecular foi de 7,68 anos e 20/37 eram do sexo masculino. Entre os casos de deleções atípicas, a média de idade de diagnóstico foi de 9,4 anos e 5/13 do sexo masculino.

Embora possa haver uma hipótese diagnóstica clínica, o acesso ao diagnóstico molecular é importante para confirmação da suspeita clínica, aconselhamento genético e seguimento clínico. Entretanto, há muitas limitações ao acesso de testes especializados à população geral (Brasil. Ministério da Saúde, 2015) impedindo que possamos fazer com segurança qualquer inferência com relação à gravidade do quadro com base na média de idade em que o paciente foi encaminhado. Adicionalmente, a SD22q11.2, em sua ampla heterogeneidade, pode dificultar a suspeita clínica precoce, pois ao longo do acompanhamento do paciente, algumas características como certos dismorfismos faciais, tornam-se mais evidentes (Fung et al., 2015; Habel et al., 2014).

Com relação a localização e ao quadro clínico dos casos de deleção estudados, todas as deleções típicas são do Tipo I, entre as LCRs A-D. Analisando os casos atípicos, temos a maioria, (6/13 casos), variando entre a região mais proximal, localizados entre as LCRs A e C.

Temos uma média de aproximadamente quatro diferentes alterações clínicas para cada caso, tanto para as deleções típicas quanto para as atípicas (**Tabela 6 e Tabela 7**); entretanto, algumas características aparentam ser mais recorrentes em deleções típicas, por exemplo no caso de cardiopatias congênitas e pé torto congênito, cuja frequência em deleções típicas é dez vezes maior do que em deleções atípicas (**Tabela 9**).

As pequenas deleções atípicas como dos casos Del44, Del45, Del46, Del49, Del53 e Del55 podem ser mais informativas quanto a relação genótipo-fenótipo. A Del44 é o caso de uma menina de 8 anos, com face sindrômica, deficiência intelectual e baixa estatura. Contém

uma CNV PB em 22q11.2, (deleção de 163,5 kb) envolvendo o gene *PRODH*, e outra CNV PB em 15q26.3, (duplicação de 238,7 kb), envolvendo apenas genes que até o momento são descritos como recessivos, dentre os quais, apenas o *ADAMTS17* (#613195), relacionado à síndrome de *Weill-Marchesani*, um distúrbio raro do tecido conjuntivo, cujas características podem incluir baixa estatura, (Shah et al., 2014). Este gene codifica um membro da família de proteínas ADAMTS (uma desintegrina e metaloproteinase com motivos de trombospondina), (Hubmacher e Suneel, 2015). Entretanto, os casos onde a literatura associa o *ADAMTS17* à baixa estatura, estão associados a deleções e /ou mutações com padrão de herança recessiva (van Duyvenvoorde et al., 2014; Lango Allen et al., 2010).

O gene *PRODH* codifica para uma prolina desidrogenase, cujas mutações em heterozigose estão associadas com suscetibilidade à esquizofrenia (OMIM #600850) e quando em homozigose à hiperprolinemia tipo I (OMIM #606810). Transtornos psiquiátricos especialmente esquizofrenia e autismo estão associados a CNVs no *PRODH* (Guilmatre et al., 2010; Choudhury et al., 2012).

A deleção *PRODH* / *DGCR6*, tal como em nossos casos **Del53** e **Del55**, é frequentemente observada em pacientes com hiperprolinemia tipo 1 (HPI) (Jacquet et al., 2003; Guilmatre et al., 2010). O fenótipo clínico do HPI ainda não está bem caracterizado. Embora alguns indivíduos apresentem deficiência intelectual, convulsões, atraso de fala, características autísticas, esquizofrenia ou transtorno bipolar, outros são assintomáticos (Afenjar et al., 2007; Di Rosa et al., 2008, 2014; Guilmatre et al., 2010). Nossos casos referem duas meninas com deleções de aproximadamente 120 kb, e suas manifestações clínicas incluem: atraso neuro psicomotor, dismorfismos faciais e deficiência intelectual.

A HPI é uma condição recessiva, assim, a deleção do *PRODH* deve ser combinada com outro evento (geralmente mutação missense que reduz a atividade enzimática) no segundo alelo para causar um aumento no nível de prolina no plasma (Guilmatre et al., 2010), mas um estudo de caso e controle, comparando a frequência da deleção do *PRODH* (tanto em homozigose quanto em heterozigose), apontou que a deleção de pelo menos um alelo foi um forte fator de risco para *HPI*. Nesse estudo entretanto, associações com o TEA não foram validadas (Richard et al., 2016). O envolvimento da hiperprolinemia no determinismo do TEA é relacionado ao fato de que a deficiência de *PRODH* em camundongos resulta em aumento da liberação de neurotransmissores em sinapses glutamatérgicas (Paterlini et al., 2005) e o do possível envolvimento do glutamato na patologia do TEA (Choudhury et al., 2012). Richard e colaboradores, (2016), sugerem que essa associação do *PRODH* ao TEA possa representar um

viés de inclusão. Importante salientar, porém, que é improvável que variantes de número de cópias tão frequentes na população como as de *PRODH* tenham impacto significativo em quadro clínico.

Os casos Del45 e Del49, são respectivamente uma menina de idade desconhecida e um menino de 11 anos. As manifestações clínicas incluem macrocefalia, dismorfismos faciais, atraso cognitivo e anomalias na fala no menino e atraso de desenvolvimento neuropsicomotor, epilepsia, convulsões, irritabilidade, displasia leve do acetábulo esquerdo, estrabismo divergente, escoliose, dismorfismos faciais, alterações articulares e hipotrofia muscular na menina. Ambos os casos possuem deleções com cerca de 640 kb que envolvem seis genes, (*BCR*, *GGTLC2*, *IGLL5*, *RTDRI*, *GNAZ* e *RAB36*), parcialmente sobrepostas à região da Síndrome da microdeleção 22q11.2 distal (Rauch et al., 2005).

Esses casos apresentam sinais como epilepsia e convulsões, que podem ser manifestações de distúrbios neuropsiquiátricos, dentre estes, o transtorno bipolar, frequentemente encontrado em pacientes SD22q11.2 (Papolos et al. 1996). Não há consenso quanto ao papel da epilepsia no desenvolvimento dos diferentes quadros psiquiátricos, que podem ocorrer ser tanto condições que ocorrem independentemente ou estarem relacionadas; os estudos cada vez mais comprovam a estreita relação existente entre epilepsia e determinadas alterações comportamentais, (Krishnamoorthy et al., 2007; Narayanan et al., 2019).

Entre os seis genes envolvidos nos dois casos de nossa coorte mencionados acima, vale ressaltar *BCR* e *GNAZ*. Deleções pontuais no gene *BCR* (OMIM #151410), foram associadas ao transtorno bipolar em pacientes com a SD22q11.2 (Papolos et al., 1996) e o mecanismo proposto é a ativação da via de sinalização PI3K através de proteínas serina-treoninas e ativadoras de GTPases (Muller et al., 1992). Quando o *BCR* é fosforilado, se liga ao *GRB2* (Ma et al., 1997), o qual está envolvido na sinalização de BDNF (Araki et al., 2000).

O gene *GNAZ* (OMIM #139160) codifica uma proteína encontrada no tecido neural (Fong et al., 1988; Matsuoka et al., 1988), e polimorfismos nesse gene foram identificados em pacientes com transtorno bipolar (Papolos et al., 1996; Saito et al., 1999; Carter, 2007). Recetemente um estudo da Universidade Federal de São Paulo, relatou uma alteração na expressão de genes vizinhos à região deletada na SD22q11.2, dentre estes, o *GNAZ* (Dantas et al., 2019). A expressão diferencial de genes que flanqueiam a região deletada foi observada anteriormente em outras síndromes de deleção, como a síndrome de Williams-Beuren (Merla et al. 2006), e na deleção 16p11.2 600 kb (Migliavacca et al., 2015). Nesse sentido, genes com

número normal de cópias mapeados perto da região excluída em 22q11.2, devem ser considerados possíveis candidatos a alguns dos sinais clínicos da síndrome, uma vez que as interações de longo alcance entre os elementos reguladores *cis* podem ser interrompidas, possivelmente afetando a expressão dos genes vizinhos (Dantas et al., 2019), demonstrando a importância de estudos funcionais para o auxílio de uma melhor compreensão da relação genótipo-fenótipo na síndrome da microdeleção/duplicação 22q11.2. Esse modelo de estudo, propõe que deleções de genes sensíveis à dose na região crítica da síndrome, produzem déficits de desenvolvimento via haploinsuficiência. Entre os muitos genes da região crítica, o *GNBIL* foi associada à esquizofrenia e ao transtorno bipolar (Williams et al., 2008; Li *et al.*, 2011; van Beveren et al., 2012; Sun et al., 2015) e ao TEA (Chen et al., 2012).

Nosso caso Del46 é uma menina com DI, TEA e esquizofrenia, portadora de uma deleção de 537 kb envolvendo apenas o gene *GNBIL* (OMIM #610778). Vale ressaltar aqui, a proximidade do *GNBIL* ao *TBX1*, gene considerado de grande relevância no fenótipo da síndrome, e a consideração de interação entre elementos reguladores influenciando na expressão de genes relevantes na manifestação clínica dos pacientes (Dantas et al., 2019).

## 6. CONCLUSÃO

As síndromes de microdeleção/duplicação 22q11.2, são exemplos, de CNVs recorrentes com penetrância incompleta e heterogeneidade tanto clínica quanto genotípica, sendo encontradas CNVs de diferentes tamanhos envolvendo as oito LCRs de 22q11.2. Tais aspectos, combinados à identificação de variantes de significado incerto, tornam ainda mais difíceis e desafiadoras a interação entre a genética clínica e o aconselhamento genético.

A SD22q11.2, descrita pela literatura como a microdeleção mais frequente na espécie humana, de fato, na amostra geral do nosso laboratório também é a mais prevalente, seguida respectivamente pela Síndrome da microdeleção 1p36 (OMIM #607872) e pela Síndrome da microdeleção 16q12.2 (OMIM #613604) em proporções bem menores.

Nossos resultados, com uma maioria de deleções típicas de ~3Mb e contendo TBX1 foram as mais frequentes, corroborando dados da literatura.

Observamos praticamente o dobro de deleções quando comparados à duplicação. Embora teoricamente, a frequência de deleções deve ser sempre maior do que as duplicações devido aos mecanismos de NAHR intracromátides, esse viés também evidencia que a deleção 22q11.2 gera mais sinais clínicos do que a duplicação. Adicionalmente, as duplicações são menos relatadas, provavelmente porque o excesso de genes repetidos é menos deletério do que as deleções.

Do ponto de vista de sinais clínicos, deficiência intelectual ou déficit de aprendizagem, assim como dismorfismos craniofaciais são características frequentes na maioria das alterações cromossômicas microscópicas ou submicroscópicas e não seriam indicadores de CNVs específicas de SD22q11.2. Por outro lado, a combinação de alterações comportamentais com defeitos cardíacos representa um forte indicador de del 22q11.2.

Em centros clínicos onde anomalias cardíacas são primariamente avaliadas, alterações cardíacas tendem a ser forte indicativo da Sd22q11.2. Porém, no Sistema Único de Saúde brasileiro, a atenção especializada é marcada por diferentes gargalos, principalmente no que se refere à falta de profissionais qualificados, de amplo acesso a exames clínicos e genéticos detalhados.



## REFERÊNCIAS

- ABABNEH, F. K. et al. “Blepharo-cheilo-dontic (BCD) syndrome: expanding the phenotype, case report and review of literature. *American journal of medical genetics, part A* v. 164A,6 p. 1525-9, 2014. DOI:10.1002/ajmg.a.36465. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24719364/>. Acesso em: 20 mai. 2020.
- AFENJAR, A. et al. Early neurological phenotype in 4 children with biallelic PRODH mutations. *Brain & development*, v. 29,9, p. 547-52, Oct 2007. DOI:10.1016/j.braindev.2007.01.008. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/17412540/>> Acesso em: 20 mai. 2020.
- AMATI, F. et al. Atypical deletions suggest five 22q11.2 critical regions related to the DiGeorge/velo-cardio-facial syndrome. *Eur J Hum Genet*, v. 7, n. 8, p. 903-9, Dec 1999. ISSN 1018-4813. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10602366>>. Acesso em: 20 mai. 2020.
- AMERICAN COLLEGE OF OBSTETRICIANS AND GYNECOLOGISTS COMMITTEE ON GENETICS. Committee Opinion No. 581: the use of chromosomal microarray analysis in prenatal diagnosis. *Obstetrics and gynecology*, v. 122,6, p. 1374-7, 2013. DOI:10.1097/01.AOG.0000438962.16108.d1. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24264715>>. Acesso em: 20 mai. 2020.
- ARAKI, T et al. Shp-2 specifically regulates several tyrosine-phosphorylated proteins in brain-derived neurotrophic factor signaling in cultured cerebral cortical neurons. *Journal of neurochemistry*, v. 74,2, p. 659-68, 2000. DOI:10.1046/j.1471-4159.2000.740659.x. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/10646517/>> Acesso em: 20 mai. 2020.
- BASSETT, A. S. et al. 22q11 deletion syndrome in adults with schizophrenia. *Am J Med Genet*, v. 81, n. 4, p. 328-37, Jul 1998. ISSN 0148-7299. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9674980>>. Acesso em: 20 mai. 2020.
- \_\_\_\_\_. Rare Genome-Wide Copy Number Variation and Expression of Schizophrenia in 22q11.2 Deletion Syndrome. *Am J Psychiatry*, v. 174, n. 11, p. 1054-1063, 11 2017. ISSN 1535-7228. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28750581>>. Acesso em: 20 mai. 2020.
- BEAUDET, A. L. The utility of chromosomal microarray analysis in developmental and behavioral pediatrics. *Child Dev*, v. 84, n. 1, p. 121-32, Jan-Feb 2013. ISSN 0009-3920. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1111/cdev.12050>>. Acesso em: 20 mai. 2020.
- BEN-ALI, M. et al. Genetic Approaches for Definitive Diagnosis of Agammaglobulinemia in Consanguineous Families. *Journal of clinical immunology*, v. 40,1, p. 96-104, 2020. DOI:10.1007/s10875-019-00706-4. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31696364/>>. Acesso em: 20 mai. 2020.
- BOURGERON, T. From the genetic architecture to synaptic plasticity in autism spectrum disorder. *Nat Rev Neurosci*, v. 16, n. 9, p. 551-63, Sep 2015. ISSN 1471-003x. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1038/nrn3992>>. Acesso em: 20 mai. 2020.
- BRASIL. Ministério da Saúde (MS), Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS). Protocolos de encaminhamento da Atenção Básica para Atenção Especializada – Endocrinologia e Nefrologia, Brasília: MS, UFRGS, v. 1, 2015. Disponível em: <[http://189.28.128.100/dab/docs/portaldab/publicacoes/protocolos\\_AB\\_vol1\\_Endocrinologia\\_Nefrologia.pdf](http://189.28.128.100/dab/docs/portaldab/publicacoes/protocolos_AB_vol1_Endocrinologia_Nefrologia.pdf)>. Acesso em: 20 mai. 2020.
- BURNSIDE, R. D. 22q11.21 Deletion Syndromes: A Review of Proximal, Central, and Distal Deletions and Their Associated Features. *Cytogenetic and genome research*, v. 146,2, p. 89-99, 2015. DOI:10.1159/000438708. Disponível em: <<https://www.karger.com/Article/Pdf/438708>>. Acesso em: 20 mai. 2020.
- CAMPBELL, I. M et al. What is new with 22q? An update from the 22q and You Center at the Children's Hospital of Philadelphia. *American journal of medical genetics, part A* v. 176,10 p. 2058-2069, 2018. DOI:10.1002/ajmg.a.40637. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6501214/pdf/nihms-1016660.pdf>> Acesso em: 20 mai. 2020.
- CAMPBELL, L. E. et al. Executive functions and memory abilities in children with 22q11.2 deletion syndrome. *Aust N Z J Psychiatry*, v. 44, n. 4, p. 364-71, Apr 2010. ISSN 0004-8674. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.3109/00048670903489882>>. Acesso em: 20 mai. 2020.

- CARTER, C J. Multiple genes and factors associated with bipolar disorder converge on growth factor and stress activated kinase pathways controlling translation initiation: implications for oligodendrocyte viability. *Neurochemistry international*, v. 50,3, p. 461-90, 2007. DOI:10.1016/j.neuint.2006.11.009. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/17239488/>> Acesso em: 20 mai. 2020.
- CARVALHO, C. M.; LUPSKI, J. R. Mechanisms underlying structural variant formation in genomic disorders. *Nat Rev Genet*, v. 17, n. 4, p. 224-38, Apr 2016. ISSN 1471-0064. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26924765>>. Acesso em: 20 mai. 2020.
- CAYLER, G. G. Cardiofacial syndrome. Congenital heart disease and facial weakness, a hitherto unrecognized association. *Arch Dis Child*, v. 44, n. 233, p. 69-75, Feb 1969. ISSN 1468-2044. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/5765991>>. Acesso em: 20 mai. 2020.
- CHEN, Y. et al. Evidence for involvement of GNB1L in autism. *American journal of medical genetics. Part B, Neuropsychiatric genetics: the official publication of the International Society of Psychiatric Genetics*, v. 159B,1, p. 61-71, 2012. DOI:10.1002/ajmg.b.32002. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22095694/>. Acesso em: 20 mai. 2020.
- CHIEWCHANVIT, S. et al. Entomophthoromycosis in Maharaj Nakorn Chiang Mai Hospital. *Journal of the Medical Association of Thailand*, v. 85,10 p. 1089-94, Oct 2002. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/12501900/>. Acesso em: 20 mai. 2020.
- CHOUDHURY, P.R.; LAHIRI, S.; RAJAMMA, U. et al. Glutamate mediated signaling in the pathophysiology of autism spectrum disorders. *Pharmacology, biochemistry, and behavior*, v. 100,4, p. 841-9, 2012. DOI:10.1016/j.pbb.2011.06.023. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21756930/>. Acesso em: 20 mai. 2020.
- CHOW, L. Y. et al. Velo-cardio-facial syndrome, schizophrenia and deletion at chromosome 22q11. *J Intellect Disabil Res*, v. 42 ( Pt 2), p. 184-8, Apr 1998. ISSN 0964-2633. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9617702>>. Acesso em: 20 mai. 2020.
- CLEMENTS, C. C. et al. Critical region within 22q11.2 linked to higher rate of autism spectrum disorder. *Mol Autism*, v. 8, p. 58, 2017. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29090080/>. Acesso em: 20 mai. 2020.
- DANTAS, A. G. et al. Downregulation of genes outside the deleted region in individuals with 22q11.2 deletion syndrome. *Human genetics*, v. 138,1, p. 93-103, 2019. DOI:10.1007/s00439-018-01967-6. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30627818/>. Acesso em: 20 mai. 2020.
- D'AMBROSIO, V. et al. Role of CGH array in the diagnosis of autosomal recessive disease: a case of Ellis-van Creveld syndrome. *Prenat Diagn*, v. 35, n. 1, p. 97-9, Jan 2015. ISSN 0197-3851. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1002/pd.4490>>. Acesso em: 20 mai. 2020.
- DE LA CHAPELLE, A. et al. A deletion in chromosome 22 can cause DiGeorge syndrome. *Hum Genet*, v. 57, n. 3, p. 253-6, 1981. ISSN 0340-6717. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/7250965>>.
- DI GEORGE, A. M. et al. Absence of the thymus. *Lancet*, v. 1, n. 7504, p. 1387, Jun 24 1967. ISSN 0140-6736 (Print)0140-6736. Disponível em: <http://dx.doi.org/>. Acesso em: 20 mai. 2020.
- DI ROSA, G. al. Type I hyperprolinemia and proline dehydrogenase (PRODH) mutations in four Italian children with epilepsy and mental retardation. *Psychiatric genetics*, v. 18,1, p. 40-2, 2008. DOI:10.1097/YPG.0b013e3282f08a3d. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/18197084/>. Acesso em: 20 mai. 2020.
- DI ROSA, Gabriella et al. "Long-term neuropsychiatric follow-up in hyperprolinemia type I." *Psychiatric genetics*, v. 24,4, 2014: 172-5. doi:10.1097/YPG.000000000000037. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24842239/>. Acesso em: 20 mai. 2020.
- DREW, L. J. et al. The 22q11.2 microdeletion: fifteen years of insights into the genetic and neural complexity of psychiatric disorders. *Int J Dev Neurosci*, v. 29, n. 3, p. 259-81, May 2011. ISSN 0736-5748. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ijdevneu.2010.09.007>. Acesso em: 20 mai. 2020.
- EDELMANN, L.; HIRSCHHORN, K. Clinical utility of array CGH for the detection of chromosomal imbalances associated with mental retardation and multiple congenital anomalies. *Ann N Y Acad Sci*, v. 1151,

p. 157-66, Jan 2009. ISSN 0077-8923. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1111/j.1749-6632.2008.03610.x>. Acesso em: 20 mai. 2020.

EDELMANN, L. et al. A common molecular basis for rearrangement disorders on chromosome 22q11. **Hum Mol Genet**, v. 8, n. 7, p. 1157-67, Jul 1999. ISSN 0964-6906 (Print)0964-6906. Disponível em: <http://dx.doi.org/>. Acesso em: 20 mai. 2020.

ENSENAUER, R. E. et al. Microduplication 22q11.2, an emerging syndrome: clinical, cytogenetic, and molecular analysis of thirteen patients. **Am J Hum Genet**, v. 73, n. 5, p. 1027-40, Nov 2003. ISSN 0002-9297 (Print)0002-9297. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1086/378818>. Acesso em: 20 mai. 2020.

EVANGELIDOU, P. et al. Implementation of high resolution whole genome array CGH in the prenatal clinical setting: advantages, challenges, and review of the literature. **Biomed Res Int**, v. 2013, p. 346762, 2013. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1155/2013/346762>. Acesso em: 20 mai. 2020.

FINE, S. E. et al. Autism spectrum disorders and symptoms in children with molecularly confirmed 22q11.2 deletion syndrome. **J Autism Dev Disord**, v. 35, n. 4, p. 461-70, Aug 2005. ISSN 0162-3257 (Print)0162-3257. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1007/s10803-005-5036-9>. Acesso em: 20 mai. 2020.

FIRTH, H. V. et al. DECIPHER: Database of Chromosomal Imbalance and Phenotype in Humans Using Ensembl Resources. **Am J Hum Genet**, v. 84, n. 4, p. 524-33, Apr 2009. ISSN 0002-9297. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.ajhg.2009.03.010>. Acesso em: 20 mai. 2020.

FONG, H.K. et al. Identification of a GTP-binding protein alpha subunit that lacks an apparent ADP-ribosylation site for pertussis toxin. **Proc Natl Acad Sci U S A**, v. 85(9), p. 3066-3070, 1988. DOI:10.1073/pnas.85.9.3066. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/3129724/>. Acesso em:

FUNG, W. L. A. et al. Practical guidelines for managing adults with 22q11.2 deletion syndrome. **Genetics In Medicine**, v. 17, p. 599, 01/08/online 2015. Disponível em: <https://doi.org/10.1038/gim.2014.175>. Acesso em: 20 mai. 2020.

GALASSO, C. et al. "Idiopathic" mental retardation and new chromosomal abnormalities. **Ital J Pediatr**, v. 36, p. 17, Feb 14 2010. ISSN 1720-8424. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1186/1824-7288-36-17>. Acesso em: 20 mai. 2020.

GIRIRAJAN, S. et al. Phenotypic Heterogeneity of Genomic Disorders and Rare Copy-Number Variants. **N Engl J Med**, v. 367, n. 14, p. 1321-31, Oct 4 2012. ISSN 0028-4793 (Print)1533-4406 (Electronic). Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1056/NEJMoa1200395>. Acesso em: 20 mai. 2020.

GÖKÇÜMEN, O; LEE, C. Copy number variants (CNVs) in primate species using array-based comparative genomic hybridization. **Methods**, v. 49, n. 1, p. 18-25, 2009. DOI: 10.1016/j.ymeth.2009.06.001. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/19545629/>. Acesso em: 20 mai. 2020.

GOTHELF, D. et al. Developmental changes in multivariate neuroanatomical patterns that predict risk for psychosis in 22q11.2 deletion syndrome. **J Psychiatr Res**, v. 45, n. 3, p. 322-31, Mar 2011. ISSN 0022-3956. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jpsychires.2010.07.008>. Acesso em: 20 mai. 2020.

\_\_\_\_\_. Obsessive-compulsive disorder in patients with velocardiofacial (22q11 deletion) syndrome. **Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet**, v. 126b, n. 1, p. 99-105, Apr 1 2004. ISSN 1552-4841 (Print)1552-4841. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1002/ajmg.b.20124>. Acesso em: 20 mai. 2020.

GOTHELF, D.; SCHAER, M.; ELIEZ, S. Genes, brain development and psychiatric phenotypes in velo-cardio-facial syndrome. **Dev Disabil Res Rev**, v. 14, n. 1, p. 59-68, 2008. ISSN 1940-5510 (Print)1940-5529. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1002/ddr.9>. Acesso em: 20 mai. 2020.

GHOUMID, J. et al. Blepharochelodontic syndrome is a CDH1 pathway-related disorder due to mutations in CDH1 and CTNND1. **Genet Med**, v. 19, p. 1013-1021, 2017. DOI:10.1038/gim.2017.11. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28301459/>. Acesso em: 20 mai. 2020.

GRATI, F. R. et al. Prevalence of recurrent pathogenic microdeletions and microduplications in over 9500 pregnancies. **Prenat Diagn**, v. 35, n. 8, p. 801-9, Aug 2015. ISSN 1097-0223. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25962607>. Acesso em: 20 mai. 2020.

- GREEN, T. et al. Psychiatric disorders and intellectual functioning throughout development in velocardiofacial (22q11.2 deletion) syndrome. **J Am Acad Child Adolesc Psychiatry**, v. 48, n. 11, p. 1060-8, Nov 2009. ISSN 0890-8567. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1097/CHI.0b013e3181b76683>. Acesso em: 20 mai. 2020.
- GU, W.; ZHANG, F.; LUPSKI, J.R. Mechanisms for human genomic rearrangements. **Pathogenetics**, v. 1(1), Nov 2008. DOI:10.1186/1755-8417-1-4. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/19014668/>. Acesso em: 20 mai. 2020.
- GUILMATRE, A. et al. Type I hyperprolinemia: genotype/phenotype correlations. **Human mutation**, v. 31, p. 961-5, 2010. DOI:10.1002/humu.21296. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/20524212/>. Acesso em: 20 mai. 2020.
- GUO, T. et al. Genotype and cardiovascular phenotype correlations with *TBX1* in 1,022 velo-cardio-facial/DiGeorge/22q11.2 deletion syndrome patients. **Hum Mutat**, v. 32, n. 11, p. 1278-89, Nov 2011. ISSN 1098-1004. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21796729>. Acesso em: 20 mai. 2020.
- GUO, X. et al. Proline dehydrogenase gene (PRODH) polymorphisms and schizophrenia susceptibility: a meta-analysis. **Metabolic brain disease**, v. 33(1), p. 89-97, 2018. DOI:10.1007/s11011-017-0128-8. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29047040/>. Acesso em: 20 mai. 2020.
- HABEL, A. et al. Towards a safety net for management of 22q11.2 deletion syndrome: guidelines for our times. **Eur J Pediatr**, v. 173, n. 6, p. 757-65, Jun 2014. ISSN 1432-1076. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24384789>. Acesso em: 20 mai. 2020.
- HALU, A et al. The multiplex network of human diseases. **NPJ systems biology and applications**, v. 5, (15), Apr 2019. DOI:10.1038/s41540-019-0092-5. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31044086/>. Acesso em: 20 mai. 2020.
- HAMOSH, A. et al. Online Mendelian Inheritance in Man (OMIM), a knowledgebase of human genes and genetic disorders. **Nucleic Acids Res**, v. 30, n. 1, p. 52-5, Jan 1 2002. ISSN 0305-1048. Disponível em: <http://dx.doi.org/>. Acesso em: 20 mai. 2020.
- HASSED, S. J. et al. A new genomic duplication syndrome complementary to the velocardiofacial (22q11 deletion) syndrome. **Clin Genet**, v. 65, n. 5, p. 400-4, May 2004. ISSN 0009-9163 (Print)0009-9163. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1111/j.0009-9163.2004.0212.x>. Acesso em: 20 mai. 2020.
- HIROI, N. et al. Copy number variation at 22q11.2: from rare variants to common mechanisms of developmental neuropsychiatric disorders. **Mol Psychiatry**, v. 18, n. 11, p. 1153-65, Nov 2013. ISSN 1359-4184. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1038/mp.2013.92>. Acesso em: 20 mai. 2020.
- HOEFFDING, L. K. et al. Risk of Psychiatric Disorders Among Individuals With the 22q11.2 Deletion or Duplication: A Danish Nationwide, Register-Based Study. **JAMA psychiatry**, v. 74,3, p. 282-290, 2017. DOI:10.1001/jamapsychiatry.2016.3939. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28114601/>. Acesso em: 20 mai. 2020.
- HOHEISEL, J. D. Microarray technology: beyond transcript profiling and genotype analysis. **Nature reviews. Genetics**, v. 7,3, p. 200-10, 2006. DOI:10.1038/nrg1809. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/16485019/>. Acesso em: 20 mai. 2020.
- HUBMACHER, D.; SUNEEL, S. A. ADAMTS proteins as modulators of microfibril formation and function. **Matrix Biol.**, vol. 47, p. 34-43, 2015. DOI:10.1016/j.matbio.2015.05.004. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25957949/>. Acesso em: 20 mai. 2020.
- JACQUET, H et al. The severe form of type I hyperprolinaemia results from homozygous inactivation of the PRODH gene. **Journal of medical genetics**, v. 40,1, 2003. DOI:10.1136/jmg.40.1.e7. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/12525555/>. Acesso em: 20 mai. 2020.
- KALLIONIEMI, A. et al. Comparative genomic hybridization for molecular cytogenetic analysis of solid tumors. **Science**, v. 258, n. 5083, p. 818-21, Oct 30 1992. ISSN 0036-8075 (Print)0036-8075. Disponível em: <http://dx.doi.org/>. Acesso em: 20 mai. 2020.
- KARAYIORGOU, M.; SIMON, T. J.; GOGOS, J. A. 22q11.2 microdeletions: linking DNA structural variation to brain dysfunction and schizophrenia. **Nat Rev Neurosci**, v. 11, n. 6, p. 402-16, Jun 2010. ISSN 1471-003x. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1038/nrn2841>. Acesso em: 20 mai. 2020.



- KATES, W. R. et al. Behavioral and Psychiatric Phenotypes in 22q11.2 Deletion Syndrome. **J Dev Behav Pediatr**, v. 36, n. 8, p. 639-50, Oct 2015. ISSN 0196-206X (Print)1536-7312 (Electronic). Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1097/dbp.0000000000000210>. Acesso em: 20 mai. 2020.
- KHARBANDA, M.; TOLMIE, J.; JOSS, S. How to use... microarray comparative genomic hybridisation to investigate developmental disorders. **Arch Dis Child Educ Pract Ed**, v. 100, n. 1, p. 24-9, Feb 2015. ISSN 1743-0585. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1136/archdischild-2014-306022>. Acesso em: 20 mai. 2020.
- KINOUCI, A. et al. **Facial appearance of patients with conotruncal anomalies.** *17. JPN*), S. P. 1: 84-87 p. 1976.
- KIRKPATRICK, J. A.; DIGEORGE, A. M. Congenital absence of the thymus. **Am J Roentgenol Radium Ther Nucl Med**, v. 103, n. 1, p. 32-7, May 1968. ISSN 0002-9580. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/5648947>. Acesso em: 20 mai. 2020.
- KORENBERG, J. R. et al. Toward a cDNA map of the human genome. **Genomics**, v. 29, n. 2, p. 364-70, Sep 20 1995. ISSN 0888-7543 (Print)0888-7543. Disponível em: <http://dx.doi.org/>. Acesso em: 20 mai. 2020.
- KREPISCHI-SANTOS, A. C. et al. Whole-genome array-CGH screening in undiagnosed syndromic patients: old syndromes revisited and new alterations. **Cytogenet Genome Res**, v. 115, n. 3-4, p. 254-61, 2006. ISSN 1424-8581. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/17124408/>. Acesso em: 20 mai. 2020.
- KRISHNAMOORTHY, E.S.; TRIMBLE, M.R.; BLUMER, D. The classification of neuropsychiatric disorders in epilepsy: a proposal by the ILAE Commission on Psychobiology of Epilepsy. **Epilepsy & behavior : E&B**, v. 10,3, p. 349-53, 2007. DOI:10.1016/j.yebeh.2006.10.002. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/17344100/>. Acesso em: 20 mai. 2020.
- LANGER, P. R.; WALDROP, A. A.; WARD, D. C. Enzymatic synthesis of biotin-labeled polynucleotides: novel nucleic acid affinity probes. **Proc Natl Acad Sci U S A**, v. 78, n. 11, p. 6633-7, Nov 1981. ISSN 0027-8424 (Print)0027-8424. Disponível em: <http://dx.doi.org/>. Acesso em: 20 mai. 2020.
- LANGO ALLEN, H. et al. Hundreds of variants clustered in genomic loci and biological pathways affect human height. **Nature**, v. 467,7317, p. 832-8, 2010. DOI:10.1038/nature09410. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/20881960/>. Acesso em: 20 mai. 2020.
- LI, S. et al. Prenatal Diagnosis of Microdeletions or Microduplications in the Proximal, Central, and Distal Regions of Chromosome 22q11.2: Ultrasound Findings and Pregnancy Outcome. **Frontiers in genetics**, v. 10, p. 813, Aug 2019. DOI:10.3389/fgene.2019.00813. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31543904/>. Acesso em: 20 mai. 2020.
- LI, Y. et al. Association study between GNB1L and three major mental disorders in Chinese Han populations. **Psychiatry research**, v. 187,3, p. 457-9, 2011. DOI:10.1016/j.psychres.2010.04.019. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/20538345/>. Acesso em: 20 mai. 2020.
- LIGT, J. et al. Detection of Clinically Relevant Copy Number Variants with Whole-Exome Sequencing. **Human Mutation**, v. 34, 10, p. 1439-48, 2013. DOI: 10.1002/humu.22387. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23893877/>. Acesso em: 7 abr. 2021.
- LIMA, K. et al. Age-dependent clinical problems in a Norwegian national survey of patients with the 22q11.2 deletion syndrome. **Eur J Pediatr**, v. 169, n. 8, p. 983-9, Aug 2010. ISSN 1432-1076. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20186429>. Acesso em: 20 mai. 2020.
- LISCHNER, H. W.; PUNNETT, H. H.; DIGEORGE, A. M. Lymphocytes in Congenital Absence of the Thymus. **Nature**, v. 214, n. 5088, p. 580-582, 1967-05-06 1967. ISSN 1476-4687/1476-4687.
- LUPSKI, J R. "Genomic disorders: structural features of the genome can lead to DNA rearrangements and human disease traits." **Trends in genetic: TIG**, vol. 14, n. 10, p. 417-22, Oct 1998. DOI:10.1016/s0168-9525(98)01555-8. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/11818139/>. Acesso em: 20 mai. 2020.
- MA, G. et al. Bcr phosphorylated on tyrosine 177 binds Grb2. **Oncogene**, v. 14 (19), p. 2367-72, 1997. DOI:10.1038/sj.onc.1201053. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/9178913/>. Acesso em: 20 mai. 2020.

- MACDONALD JR. et al. The Database of Genomic Variants: a curated collection of structural variation in the human genome. **Nucleic Acids Research**, v. 42, Database issue (2014): D986-D92. DOI: 10.1093/nar/gkt958. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/PMC3965079/>> Acesso em: 20 mai. 2020.
- MANNING, M.; HUDGINS, L. Professional Practice and Guidelines Committee. Array-based technology and recommendations for utilization in medical genetics practice for detection of chromosomal abnormalities. **Genet Med**, v. 12,11, p.742-5, 2010. DOI: 10.1097/GIM.0b013e3181f8baad. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/20962661/>> Acesso em: 20 mai. 2020.
- MARTIN, C. L.; KIRKPATRICK, B. E.; LEDBETTER, D. H. Copy number variants, aneuploidies, and human disease. **Clin Perinatol**, v. 42, n. 2, p. 227-42, vii, Jun 2015. ISSN 1557-9840. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26042902>. Acesso em: 20 mai. 2020.
- MATSUOKA, M. et al. Sequence analysis of cDNA and genomic DNA for a putative pertussis toxin-insensitive guanine nucleotide-binding regulatory protein alpha subunit. **Proc Natl Acad Sci USA**, v. 85 (15), p. 5384-8, 1988. DOI:10.1073/pnas.85.15.5384. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/2456569/>. Acesso em: 20 mai. 2020.
- MAYA, I. et al. When genotype is not predictive of phenotype: implications for genetic counseling based on 21,594 chromosomal microarray analysis examinations. **Genet Med**, v. 20, p.128-131, Jul 2018. DOI:10.1038/gim.2017.89. Disponível em: <https://doi.org/10.1038/gim.2017.89>. Acesso em: 20 mai. 2020.
- MCDONALD-MCGINN, D. M. et al. The Philadelphia story: the 22q11.2 deletion: report on 250 patients. **Genet Couns**, v. 10, n. 1, p. 11-24, 1999. ISSN 1015-8146. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10191425>. Acesso em: 20 mai. 2020.
- MCDONALD-MCGINN, D. M.; SULLIVAN, K. E. Chromosome 22q11.2 deletion syndrome (DiGeorge syndrome/velocardiofacial syndrome). **Medicine (Baltimore)**, v. 90, n. 1, p. 1-18, Jan 2011. ISSN 1536-5964. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21200182>. Acesso em: 20 mai. 2020.
- MCDONALD-MCGINN, D. M. et al. 22q11.2 deletion syndrome. **Nat Rev Dis Primers**, v. 1, p. 15071, 11 2015. ISSN 2056-676X. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27189754>. Acesso em: 20 mai. 2020.
- MEECHAN, D. W. et al. Diminished dosage of 22q11 genes disrupts neurogenesis and cortical development in a mouse model of 22q11 deletion/DiGeorge syndrome. **Proc Natl Acad Sci U S A**, v. 106, n. 38, p. 16434-45, Sep 22 2009. ISSN 0027-8424. Disponível em: < <http://dx.doi.org/10.1073/pnas.0905696106> >. Acesso em: 20 mai. 2020.
- MEFFORD, H. C.; BATSHAW, M.L.; HOFFMAN, E.P. Genomics, intellectual disability, and autism. **The New England journal of medicine**, v. 366,8, p. 733-43, United States, Jul 2012. DOI:10.1056/NEJMra1114194. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4107681/>. Acesso em: 20 mai. 2020.
- MERLA, G. et al. Submicroscopic deletion in patients with Williams-Beuren syndrome influences expression levels of the nonhemizygous flanking genes. **Am J Hum Genet**, v. 79 (2), p. 332-341, Aug 2006. DOI:10.1086/506371. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/16826523/>. Acesso em: 20 mai. 2020.
- MICHAELOVSKY, E. et al. Genotype-phenotype correlation in 22q11.2 deletion syndrome. **BMC Med Genet**, v. 13, p. 122, Dec 2012. DOI:10.1186/1471-2350-13-122. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23245648>. Acesso em: 20 mai. 2020.
- MIGLIAVACCA, E. et al. A Potential Contributory Role for Ciliary Dysfunction in the 16p11.2 600 kb BP4-BP5 Pathology. **Am J Hum Genet**, v. 96 (5), p. 784-96, May 2015. DOI:10.1016/j.ajhg.2015.04.002. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25937446/>. Acesso em: 20 mai. 2020.
- MILLER, D. T. et al. Consensus statement: chromosomal microarray is a first-tier clinical diagnostic test for individuals with developmental disabilities or congenital anomalies. **Am J Hum Genet**, v. 86, n. 5, p. 749-64, May 2010. DOI:10.1016/j.ajhg.2010.04.006. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20466091>. Acesso em: 20 mai. 2020.
- MULLER, A. J. et al. A limited set of SH2 domains binds BCR through a high-affinity phosphotyrosine-independent interaction. **Mol Cell Biol**, v. 12, n. 11, p. 5087-93, Nov 1992. DOI:10.1128/mcb.12.11.5087. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC360442/>. Acesso em: 20 mai. 2020.

- MURPHY, K. C.; JONES, L. A.; OWEN, M. J. High rates of schizophrenia in adults with velo-cardio-facial syndrome. **Arch Gen Psychiatry**, v. 56, n. 10, p. 940-5, Oct 1999. DOI:10.1001/archpsyc.56.10.940. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/10530637/>. Acesso em: 20 mai. 2020.
- MURPHY, K. C.; OWEN, M. J. Velo-cardio-facial syndrome: a model for understanding the genetics and pathogenesis of schizophrenia. **Br J Psychiatry**, v. 179, p. 397-402, Nov 2001. DOI:10.1192/bjp.179.5.397. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/11689394/>. Acesso em: 20 mai. 2020.
- NARAYANAN, J. et al. Factors Affecting Cognition and Depression in Adult Patients with **Epilepsy**. **J Epilepsy Res**, v. 9, n. 2, p. 103-110, Dec 2019. DOI:10.14581/jer.19018. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32509545/>. Acesso em: 20 mai. 2020.
- NASSER, H. et al. Myoclonic jerks are commonly associated with absence seizures in early-onset absence epilepsy. **Epileptic Disord**, v. 19, n. 2, p. 137-146, Jun 2017. DOI:10.1684/epd.2017.0905. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28540848/>. Acesso em: 20 mai. 2020.
- PAPOLOS, D. F. et al. Bipolar spectrum disorders in patients diagnosed with velo-cardio-facial syndrome: does a hemizygous deletion of chromosome 22q11 result in bipolar affective disorder?. **Am J Psychiatry**, v. 153, n. 12, p. 1541-7, Dec 1996. DOI:10.1176/ajp.153.12.1541. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/8942449/>. Acesso em: 20 mai. 2020.
- PATCH, C.; MIDDLETON, A. Genetic counselling in the era of genomic medicine. **Br Med Bull**, v. 126, n. 1, p. 27-36, Jun 2018. DOI:10.1093/bmb/ldy008. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29617718/>. Acesso em: 20 mai. 2020.
- PATERLINI, M. et al. Transcriptional and behavioral interaction between 22q11.2 orthologs modulates schizophrenia-related phenotypes in mice. **Nat Neurosci**, v. 8, n. 11, p. 1586-1594, Oct 2005. DOI:10.1038/nn1562. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/16234811/>. Acesso em: 20 mai. 2020.
- PINKEL, D.; STRAUME, T.; GRAY, J. W. Cytogenetic analysis using quantitative, high-sensitivity, fluorescence hybridization. **Proc Natl Acad Sci U S A**, v. 83, n. 9, p. 2934-8, May 1986. doi:10.1073/pnas.83.9.2934. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/3458254/>. Acesso em: 20 mai. 2020.
- PINKEL, D.; ALBERTSON, D.G. Array comparative genomic hybridization and its applications in cancer. **Nat Genet**, v. 37, S. 11-S17, Jun 2005. DOI:10.1038/ng1569. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/15920524/>. Acesso em: 20 mai. 2020.
- PINTO, D. et al. Convergence of genes and cellular pathways dysregulated in autism spectrum disorders. **Am J Hum Genet**, v. 94, n. 5, p. 677-94, May 1 2014. ISSN 0002-9297. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.ajhg.2014.03.018>. Acesso em: 20 mai. 2020.
- PORTNOI, M. F. Microduplication 22q11.2: a new chromosomal syndrome. **Eur J Med Genet**, v. 52, n. 2-3, p. 88-93, Mar-Jun 2009. ISSN 1769-7212. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.ejmg.2009.02.008>. Acesso em: 20 mai. 2020.
- PORTNOI, M.F. et al. 22q11.2 duplication syndrome: two new familial cases with some overlapping features with DiGeorge/velocardiofacial syndromes. **Am J Med Genet A**, v. 137, n. 1, p. 47-51, Aug 2005. DOI:10.1002/ajmg.a.30847. Disponível em: <https://doi.org/10.1002/ajmg.a.30847>. Acesso em: 20 mai. 2020.
- QIAO, Y. et al. Copy number variants (CNVs) analysis in a deeply phenotyped cohort of individuals with intellectual disability (ID). **BMC Med Genet**, v. 15, p. 82, Jul 16 2014. ISSN 1471-2350. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1186/1471-2350-15-82>. Acesso em: 20 mai. 2020.
- RAUCH, A. et al. Systematic assessment of atypical deletions reveals genotype-phenotype correlation in 22q11.2. **J Med Genet**, v. 42, n. 11, p. 871-876, Nov 2005. DOI:10.1136/jmg.2004.030619. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1735953/pdf/v042p00871.pdf>. Acesso em: 20 mai. 2020.
- REDON, R. et al. Global variation in copy number in the human genome. **Nature**, v. 444, n. 7118, p. 444-54, Nov 23 2006. ISSN 0028-0836. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1038/nature05329>. Acesso em: 20 mai. 2020.
- REES, E. et al. Evidence that duplications of 22q11.2 protect against schizophrenia. **Mol Psychiatry**, v. 19, n. 1, p. 37-40, Jan 2014. ISSN 1476-5578. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24217254>. Acesso em: 20 mai. 2020.

RICHARD, A.C. et al. The 22q11 PRODH/DGCR6 deletion is frequent in hyperprolinemic subjects but is not a strong risk factor for ASD. *Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet*, v. 171B, n. 3, p. 377-382, Jan 2016. DOI:10.1002/ajmg.b.32416. Disponível em: <https://doi.org/10.1002/ajmg.b.32416>. Acesso em: 20 mai. 2020.

RICHARDS, S. et al. Standards and guidelines for the interpretation of sequence variants: a joint consensus recommendation of the American College of Medical Genetics and Genomics and the Association for Molecular Pathology. *Genet Med*, v. 17, n. 5, p. 405-24, May 2015. ISSN 1530-0366. Disponível em: <  
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25741868>>. Acesso em: 20 mai. 2020.

RIGGS, E.R. et al. Technical standards for the interpretation and reporting of constitutional copy-number variants: a joint consensus recommendation of the American College of Medical Genetics and Genomics (ACMG) and the Clinical Genome Resource (ClinGen). *Genet Med*, v. 22, n. 2, p. 245-257, Feb 2020. DOI:10.1038/s41436-019-0686-8. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7313390/>. Acesso em: 20 mai. 2020.

ROBIN, N. H.; SHPRINTZEN, R. J. Defining the clinical spectrum of deletion 22q11.2. *J Pediatr*, v. 147, n. 1, p. 90-6, Jul 2005. ISSN 0022-3476. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16027702>. Acesso em: 20 mai. 2020.

RODNINGEN, O. K. et al. 1.4Mb recurrent 22q11.2 distal deletion syndrome, two new cases expand the phenotype. *Eur J Med Genet*, v. 51, n. 6, p. 646-50, Nov-Dec 2008. ISSN 1769-7212. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.ejmg.2008.07.007>. Acesso em: 20 mai. 2020.

RODRÍGUEZ CRUZ, P.M.; PALACE, J.; BEESON, D. Congenital myasthenic syndromes and the neuromuscular junction. *Curr Opin Neurol*, v. 27, n. 5, p. 566-575, Oct 2014. DOI:10.1097/WCO.000000000000134. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25159927/>. Acesso em: 20 mai. 2020.

SAHOO, T. et al. Copy number variants of schizophrenia susceptibility loci are associated with a spectrum of speech and developmental delays and behavior problems. *Genetics in Medicine*, v. 13, n. 10, p. 868, 2011-08-08 2011. doi:10.1097/GIM.0b013e3182217a06. Disponível em: <https://www.nature.com/articles/gim2011146>. Acesso em: 20 mai. 2020.

SAITO, T. et al. Analysis of GNAZ gene polymorphism in bipolar affective disorder. *Am J Med Genet*, v. 88, n. 4, p. 324-328, Aug 1999. DOI:10.1002/(sici)1096-8628(19990820)88:4<324::aid-ajmg7>3.0.co;2-m. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/10402497/>. Acesso em: 20 mai. 2020.

SAMBROOK, J.; FRITSCH, E. F.; MANIATIS, T. *Molecular cloning : a laboratory manual*. 2. Cold Spring Harbor, NY: Cold Spring Harbor Laboratory Press, 1989. xxxviii + 1546 ISBN 0879693096.

SCAMBLER, P. J. et al. Microdeletions within 22q11 associated with sporadic and familial DiGeorge syndrome. *Genomics*, v. 10, n. 1, p. 201-6, May 1991. ISSN 0888-7543. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/2045103>. Acesso em: 20 mai. 2020.

SCHNEIDER, M. et al. Psychiatric Disorders From Childhood to Adulthood in 22q11.2 Deletion Syndrome: Results From the International Consortium on Brain and Behavior in 22q11.2 Deletion Syndrome. *Am J Psychiatry*, v. 171, n. 6, p. 627-39, Jun 2014. ISSN 0002-953X (Print)1535-7228 (Electronic). Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1176/appi.ajp.2013.13070864>. Acesso em: 20 mai. 2020.

SCHOUTEN, J. P. et al. Relative quantification of 40 nucleic acid sequences by multiplex ligation-dependent probe amplification. *Nucleic Acids Res*, v. 30, n. 12, p. e57, Jun 15 2002. ISSN 0305-1048. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC117299/pdf/gnf056.pdf>. Acesso em: 20 mai. 2020.

SEDLACKOVA, E. [Insufficiency of palatolaryngeal passage as a developmental disorder]. *Cas Lek Cesk*, v. 94, n. 47-48, p. 1304-7, Nov 25 1955. ISSN 0008-7335 (Print)0008-7335. Disponível em: <http://dx.doi.org/>. Acesso em: 20 mai. 2020.

SHAH, M.H. et al. Whole exome sequencing identifies a novel splice-site mutation in ADAMTS17 in an Indian family with Weill-Marchesani syndrome. *Mol Vis*, v. 20, p. 790-796, Jun 2014. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4057248/>. Acesso em: 20 mai. 2020.

SHAIKH, T. H. Copy Number Variation Disorders. *Curr Genet Med Rep*, v. 5, n. 4, p. 183-190, Dec 2017. ISSN 2167-4876 (Print) 2167-4876.



- SHAIKH, T. H. et al. Chromosome 22-specific low copy repeats and the 22q11.2 deletion syndrome: genomic organization and deletion endpoint analysis. **Hum Mol Genet**, v. 9, n. 4, p. 489-501, Mar 1 2000. ISSN 0964-6906 (Print)0964-6906. Disponível em: <http://dx.doi.org/>. Acesso em: 20 mai. 2020.
- \_\_\_\_\_. Low copy repeats mediate distal chromosome 22q11.2 deletions: sequence analysis predicts breakpoint mechanisms. **Genome Res**, v. 17, n. 4, p. 482-91, Apr 2007. ISSN 1088-9051 (Print)1088-9051. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1101/gr.5986507>. Acesso em: 20 mai. 2020.
- \_\_\_\_\_. High-resolution mapping and analysis of copy number variations in the human genome: a data resource for clinical and research applications. **Genome Res**, v. 19, n. 9, p. 1682-90, Sep 2009. DOI:doi:10.1101/gr.083501.108. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/19592680/>. Acesso em: 20 mai. 2020.
- SHAW, C. J.; LUPSKI, J.R. Implications of human genome architecture for rearrangement-based disorders: the genomic basis of disease. **Hum Mol Genet**, v. 13 n. 1, p. 57-64, Feb 2004. DOI:10.1093/hmg/ddh073. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/14764619/>. Acesso em: 20 mai. 2020.
- SHINAWI, M.; CHEUNG, S. W. The array CGH and its clinical applications. **Drug Discov Today**, v. 13, n. 17-18, p. 760-70, Sep 2008. ISSN 1359-6446 (Print)1359-6446. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.drudis.2008.06.007>. Acesso em: 20 mai. 2020.
- SHPRINTZEN, R. J. Velo-cardio-facial syndrome: 30 Years of study. **Dev Disabil Res Rev**, v. 14, n. 1, p. 3-10, 2008. ISSN 1940-5510. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18636631>. Acesso em: 20 mai. 2020.
- SHPRINTZEN, R. J. et al. A new syndrome involving cleft palate, cardiac anomalies, typical facies, and learning disabilities: velo-cardio-facial syndrome. **Cleft Palate J**, v. 15, n. 1, p. 56-62, Jan 1978. ISSN 0009-8701. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/272242>. Acesso em: 20 mai. 2020.
- STANKIEWICZ, P.; LUPSKI, J.R. Genome architecture, rearrangements and genomic disorders. **Trends Genet**, v.18, n.2, p. 74-82, Oct 2002. DOI:10.1016/s0168-9525(02)02592-1. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/11818139/>. Acesso em: Mai. de 2020
- STOLL, G. et al. Deletion of TOP3 $\beta$ , a component of FMRP-containing mRNPs, contributes to neurodevelopmental disorders. **Nat Neurosci**, v. 16, n. 9, p. 1228-1237, Sep 2013. DOI:10.1038/nn.3484. Disponível em: <https://dx.doi.org/10.1038/nn.3484>. Acesso em: 20 mai. 2020.
- STRONG, W. B. Familial syndrome of right-sided aortic arch, mental deficiency, and facial dysmorphism. **J Pediatr**, v. 73, n. 6, p. 882-8, Dec 1968. ISSN 0022-3476 (Print)0022-3476. Disponível em: [https://www.jpeds.com/article/S0022-3476\(68\)80241-0/pdf](https://www.jpeds.com/article/S0022-3476(68)80241-0/pdf). Acesso em: 20 mai. 2020.
- SUDMANT, P. et al. An integrated map of structural variation in 2,504 human genomes. **Nature**, v. 526, n. 7571, p. 75-81, Oct 2015. ISSN 1476-4687. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26432246>. Acesso em: 20 mai. 2020.
- SUDMANT, P. H. et al. An integrated map of structural variation in 2,504 human genomes. **Nature**, v. 526, n. 7571, p. 75-81, Oct 1 2015. ISSN 0028-0836. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1038/nature15394>. Acesso em: 20 mai. 2020.
- SUN, Y. et al. The schizophrenia/bipolar disorder candidate gene GNB1L is regulated in human temporal cortex by a cis-acting element located within the 3'-region. **Neurosci Bull**, v. 31, n. 1, p. 43-52, May 2015. DOI:10.1007/s12264-014-1461-0. Disponível em: [https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5562634/pdf/12264\\_2014\\_Article\\_1461.pdf](https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5562634/pdf/12264_2014_Article_1461.pdf). Acesso em: 20 mai. 2020.
- SWILLEN, A. The importance of understanding cognitive trajectories: the case of 22q11.2 deletion syndrome. **Curr Opin Psychiatry**, v. 29, n. 2, p. 133-7, Mar 2016. ISSN 1473-6578. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26779858>. Acesso em: 20 mai. 2020.
- TRASK, B. J. Human genetics and disease: Human cytogenetics: 46 chromosomes, 46 years and counting. **Nature Reviews Genetics**, v. 3, n. 10, p. 769, 2002-10-01 2002. ISSN 1471-0064/1471-0064. Disponível em: <https://www.nature.com/articles/nrg905>. Acesso em: 20 mai. 2020.

- TZETIS, M. et al. The clinical utility of molecular karyotyping using high-resolution array-comparative genomic hybridization. **Expert Rev Mol Diagn**, v. 12, n. 5, p. 449-57, Jun 2012. ISSN 1473-7159. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1586/erm.12.40>. Acesso em: 20 mai. 2020.
- VALVO, G. et al. 22q11.2 Microduplication syndrome and epilepsy with continuous spikes and waves during sleep (CSWS). A case report and review of the literature. **Epilepsy Behav**, v. 25, n. 4, p. 567-72, Dec 2012. DOI:10.1016/j.yebeh.2012.09.035. Disponível em: [https://www.epilepsybehavior.com/article/S1525-5050\(12\)00597-5/fulltext](https://www.epilepsybehavior.com/article/S1525-5050(12)00597-5/fulltext). Acesso em: 20 mai. 2020.
- VAN BEVEREN, N.J. et al. Functional gene-expression analysis shows involvement of schizophrenia-relevant pathways in patients with 22q11 deletion syndrome [published correction appears in PLoS One, v. 7, n. 4, 2012. DOI:10.1371/annotation/d80f4e7d-5e96-41da-9dae-717b0d0d3c60. Buitendijk, Gabriella [corrected to Buitendijk, Gabriëlle H S].]. **PLoS One**, v. 7, n. 3, p. 33473. DOI:10.1371/journal.pone.0033473. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3310870/>. Acesso em: 20 mai. 2020.
- VAN BOKHOVEN, H. Genetic and epigenetic networks in intellectual disabilities. **Annu Rev Genet**, v. 45, p. 81-104, 2011. ISSN 0066-4197. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1146/annurev-genet-110410-132512>. Acesso em: 20 mai. 2020.
- VAN DUIN, E. D. A. et al. Neural correlates of reward processing in adults with 22q11 deletion syndrome. **J Neurodev Disord**, v. 8, p. 25, 2016. ISSN 1866-1947 (Print)1866-1947. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1186/s11689-016-9158-5>. Acesso em: 20 mai. 2020.
- VAN DUYVENVOORDE, H.A. et al. Copy number variants in patients with short stature. **Eur J Hum Genet**, v. 22, n. 5, p. 602-609, May 2014. DOI:10.1038/ejhg.2013.203. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3992565/>. Acesso em: 20 mai. 2020.
- VAN WESENBEECK, L. et al. Six novel missense mutations in the LDL receptor-related protein 5 (LRP5) gene in different conditions with an increased bone density. **Am J Hum Genet**, v. 72, n. 3, p. 763-771, Feb 2003. DOI:10.1086/368277. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1180253/>. Acesso em: 20 mai. 2020.
- VASSON, A. et al. Custom oligonucleotide array-based CGH: a reliable diagnostic tool for detection of exonic copy-number changes in multiple targeted genes. **Eur J Hum Genet**, v. 21, n. 9, p. 977-87, Sep 2013. ISSN 1018-4813. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1038/ejhg.2012.279>. Acesso em: 20 mai. 2020.
- VERVOORT, L. et al. Atypical chromosome 22q11.2 deletions are complex rearrangements and have different mechanistic origins. **Hum Mol Genet**, v. 28, n. 22, p. 3724-3733, Nov 2019. DOI:10.1093/hmg/ddz166. Disponível em: <https://doi.org/10.1093/hmg/ddz166>. Acesso em: 20 mai. 2020.
- VOGELS, A. et al. Presenting symptoms in adults with the 22q11 deletion syndrome. **Eur J Med Genet**, v. 57, n. 4, p. 157-62, Mar 2014. ISSN 1878-0849. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24576609>. Acesso em: 20 mai. 2020.
- VYAS, S.; CONSTANTINO, J.N.; BALDRIDGE, D. 22q11.2 duplication: a review of neuropsychiatric correlates and a newly observed case of prototypic sociopathy. **Cold Spring Harb Mol Case Stud.**, v. 5,6 a004291. 13 Dec. 2019, doi:10.1101/mcs.a004291. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6913156/> Acesso em: 20 mai. 2020.
- VORSTMAN, J. A. S. et al. Autism genetics: opportunities and challenges for clinical translation. **Nat Rev Genet**, v. 18, n. 6, p. 362-376, Jun 2017. ISSN 1471-0056. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1038/nrg.2017.4>. Acesso em: 20 mai. 2020.
- WENGER, T. L. et al. 22q11.2 duplication syndrome: elevated rate of autism spectrum disorder and need for medical screening. **Mol Autism**, v. 7, p. 27, 2016. ISSN 2040-2392. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27158440>. Acesso em: 20 mai. 2020.
- WENTZEL, C. et al. Clinical variability of the 22q11.2 duplication syndrome. **Eur J Med Genet**, v. 51, n. 6, p. 501-10, Nov-Dec 2008. ISSN 1769-7212.
- WILLIAMS, N.M. et al. Strong evidence that GNB1L is associated with schizophrenia. **Hum Mol Genet**, v. 17, n. 4, p. 555-566, Feb 2008. DOI:10.1093/hmg/ddm330. Disponível em: <https://doi.org/10.1093/hmg/ddm330>. Acesso em: 20 mai. 2020.

WILSON, D. I. et al. DiGeorge syndrome: part of CATCH 22. **Journal of Medical Genetics**, v. 30, n. 10, p. 852, 1993. Disponível em: <http://jmg.bmj.com/content/30/10/852.abstract>. Acesso em: 20 mai. 2020.

WOODWARD, K.J. et al. Atypical nested 22q11.2 duplications between LCR22B and LCR22D are associated with neurodevelopmental phenotypes including autism spectrum disorder with incomplete penetrance. **Mol Genet Genomic Med**, v. 7, n. 2, p. 00507, Feb 2019. DOI:10.1002/mgg3.507. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6393688/>. Acesso em: 20 mai. 2020.

YAGI, H. et al. Role of TBX1 in human del22q11.2 syndrome. **Lancet**, London, England, v. 362, n. 9393, p. 1366-73, Oct 2003. DOI:10.1016/s0140-6736(03)14632-6. Disponível em: [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(03\)14632-6](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(03)14632-6). Acesso em: 20 mai. 2020.

YAMAMOTO, G.L. et al. Rare variants in SOS2 and LZTR1 are associated with Noonan syndrome. **J Med Genet**, v. 52, n. 6, p. 413-421, Jun 2015. DOI:10.1136/jmedgenet-2015-103018. Disponível em: <https://jmg.bmj.com/content/52/6/413.long>. Acesso em: 20 mai. 2020.

YORB, T. M. et al. Microduplication and triplication of 22q11.2: a highly variable syndrome. **Am J Hum Genet**, v. 76, n. 5, p. 865-76, May 2005. ISSN 0002-9297 (Print)0002-9297. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1086/429841>. Acesso em: 20 mai. 2020.

YU, A. et al. Genotypic and phenotypic variability of 22q11.2 microduplications: An institutional experience. **Am J Med Genet**, v. 179, n. 11, p. 2178-2189, Nov 2019. DOI:10.1002/ajmg.a.61345. Disponível em: <https://doi.org/10.1002/ajmg.a.61345>. Acesso em: 20 mai. 2020.

ZOUALI, M. Transcriptional and metabolic pre-B cell receptor-mediated checkpoints: implications for autoimmune diseases. **Mol Immunol**, v. 62, n. 2, p. 315-320, Dec 2014. DOI:10.1016/j.molimm.2014.01.009. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.molimm.2014.01.009>. Acesso em: 20 mai. 2020.

ZHANG, F. et al. The DNA replication FoSTeS/MMBIR mechanism can generate genomic, genic and exonic complex rearrangements in humans. **Nat Genet**, v. 41, n. 7, p. 849-53, Jul 2009. ISSN 1546-1718. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19543269>. Acesso em: 20 mai. 2020.

ZWEIER, C. et al. Human *TBX1* missense mutations cause gain of function resulting in the same phenotype as 22q11.2 deletions. **Am J Hum Genet**, v. 80, n. 3, p. 510-7, Mar 2007. ISSN 0002-9297 (Print)0002-9297. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1086/511993>. Acesso em: 20 mai. 2020.

## ANEXOS

## ANEXO A - Tabela com descrição dos genes mapeados nas CNVs em 22q11.2

Tabela 10 - Descrição dos genes mapeados nas CNVs em 22q11.2.

GENE	CHr	Localização (GrCh37/Hg19)	Herança	Nº OMIM	Nº OMIM patológico	%HI	pLI	Manifestação Clínica
<i>POTEH</i>	22	22:16256441-16287937	-	608913	-	94,24	-	-
<i>OR11H1</i>	22	22:16448824-16449805	-	-	-	87,88	0,77	-
<i>CCT8L2</i>	22	22:17071667-17073700	-	-	-	92,35	0	-
<i>XKR3</i>	22	22:17264302-17302589	-	611674	-	95,84	0	-
<i>GAB4</i>	22	22:17442826-17489112	-	-	-	87,13	0	-
<i>CECR6</i>	22	22:17597189-17602257	-	-	-	75,2	0	-
<i>CECR5</i>	22	22:17618401-17646177	-	-	-	75,38	0	-
<i>IL17RA</i>	22	22:17565844-17596583:1	AR	605461	613953	84,95	0,12	imunodeficiência 51
<i>CECR1</i>	22	22:17660194-17702879	AR	607575	182410, 615688	85,15	0	S. de Sneddon, vasculite, auto inflamação, imunodeficiência, defeitos hematológicos
<i>CECR2</i>	22	22:17840837-18037850	-	607576	-	66,27	0	-
<i>SLC25A18</i>	22	22:18043139-18073760	-	609303	-	75,07	0	-
<i>ATP6V1E1</i>	22	22:18074902-18111584	AR	108746	617402	39,35	0,88	
<i>BCL2L13</i>	22	22:18111621-18213388	-	-	-	65,99	0,07	-
<i>BID</i>	22	22:18216906-18257536	-	601997	-	88,61	0	-
<i>MICAL3</i>	22	22:18270415-18507325	-	608882	-	36,04	1	-
<i>PEX26</i>	22	22:18560689-18613905		608666	614872, 614873	72,52	0,44	deficiência biogênese de peroxissomo (7A/7B)
<i>TUBA8</i>	22	22:18593097-18629321:1	AR	605742	613180	42,61	0	displasia cortical, má formação cerebral
<i>USP18</i>	22	22:18632666-18660164	AR	607057	617397	74,13	0,39	S. pseudo-Torch 2

Tabela 10 – Continuação

GENE	CHr	Localização (GrCh37/Hg19)	Herança	Nº OMIM	Nº OMIM patológico	%HI	pLI	Manifestação Clínica
<i>DGCR6</i>	22	22:18893541-18901751	-	601279	-	61,1	0	-
<i>PRODH</i>	22	22:18900294-18924066	AD	606810	239500	45,37	0	Susceptibilidade à esquizofrenia (AD)
	22		AR		600850			Hiperprolinemia (AR)
<i>DGCR2</i>	22	22:19023795-19109967	-		-	39,12	0	-
<i>SLC25A1</i>	22	22:19163095-19166343	AR	190315	615182, 618197	46,07	0,63	miastenia congênita; acidúria D2
<i>CDC45</i>	22	22:19466982-19508135	AR	603465	617063	8,4	0,07	Síndrome de Meier-Gorlin
<i>GP1BB</i>	22	22:19710468-19712294	AR	138720	231200	78	0,1	Síndrome de Bernard-Soulier (BSS)
<i>TBX1</i>	22	22:19744226-19771116	AD	602054	187500, 188400, 192430, 217095	4,91	0,98	Síndrome micro del22q11.2; Tretralogia de Fallot; VCF; más formações conotruncais – CTHM;
<i>TXNRD2</i>	22	22:19863040-19929341	AR	606448	617825	72,21	0	Deficiência de glicocorticoide 5
<i>COMT</i>	22	22:19929130-19957498	AD	116790	167870, 181500	40,79	0	Suscetibilidade à S. pânico e Esquizofrenia
<i>TANGO2</i>	22	22:20004537-20053449	AR	616830	616878	51,9	0	Encefalomiopatia metabólica; arritmias; neurodegeneração
<i>RTNR4</i>	22	22:20228938-20270769	AD	605566	181500	35,77	0,53	Suscetibilidade à Esquizofrenia
<i>SCARF2</i>	22	22:20778874-20792146	AR	613619	600920	70,16	-	Síndrome de <i>Van den Ende-Gupta</i> (dismorfismos faciais típicos del22q11)
<i>PI4KA</i>	22	22:21061979-21213705	AR	600286	616531	36,16	0	PMGYCHA – alterações esqueléticas e neurológicas
<i>SERPIND1</i>	22	22:21128167-21142008	AD	142360	612356	68,87	0	Trombofilia
<i>SNAP29</i>	22	22:21213271-21245506	AR	604202	609528	61,36	0,15	Disgenesia cerebral, neuropatia, ictiose, S. queratoderma palmoplantar

Tabela 10 – Continuação

GENE	CHr	Localização (GrCh37/Hg19)	Herança	Nº OMIM	Nº OMIM patológico	%HI	pLI	Manifestação Clínica
<i>LZTR1</i>	22	22:21333751-21353327	AR	600574	605275	32,82	0	Síndrome de Noonan tipo 2 (AR)
	22		AD		615670, 616564			Noonan tipo 10 e Schwannomatose 2
<i>BCR</i>	22	22:23521891-23660224	-	151410	-	5,65	1	Leucemia – LMC, LLA
<i>IGLL1</i>	22	22:23915312-23922495	AR	146770	613500	81	0,02	Agamaglobulinemia 2
<i>CHCHD10</i>	22	22:24108021-24110630	AD	615903	615048, 615911, 616209	77,1	0	Atrofia muscular espinal; ELA; demência, Miopatia
<i>SMARCCB1</i>	22	22:24129150-24176703	AD	601607	162091, 609322, 614608	8,06	1	Schwannomatose 1; RTPS1; S. Coffin-Siris
<i>MIF</i>	22	22:24236191-24237414	-	153620	604302	23,93	0,03	Sucetibilidade à artrite reumatoide juvenil
<i>SPECCIL</i>	22	22:24666786-24813708	AD	614140	145410, 145420, 600251	53,3	0,99	S. Opitz GBBB II; hipertelorismo tipo Teebi; fenda facial obliqua
<i>UPB1</i>	22	22:24863206-24924358	AR	606673	613161	64,99	0	Deficiência de beta- ureidopropionase
<i>MYO18B</i>	22	22:24979718-25024972	AR	607295	616549	76,35	0	S. Kliepeel-Feil 4 com miopatia e dismorfismo facial
<i>GGT1</i>	22	22:26138111-26427007	AR	612346	231950	64,4	0,68	Glutationuria
<i>CRYBB3</i>	22	22:25615489-25627836	AR, AD	123630	609741	53,23	0	Catarata 22
<i>CRYBB2</i>	22	22:25595817-25603330	AD	123620	601547	48,54	0,58	Catarata 3
<i>DGCR14</i>	22	22:19117792-19132197	-	601755	-	50,62	0	-
<i>TSSK2</i>	22	22:19118321-19120134	-	610710	-	33,13	0	-
<i>GSC2</i>	22	22:19136089-19137796	-	601845	-	65,74	0,04	-
<i>CLTCLI</i>	22	22:19166986-19279239	-	601273	-	72,86	0	-
<i>HIRA</i>	22	22:19318221-19435224	-	600237	-	19,47	1	-
<i>C22orf39</i>	22	22:19338891-19435755	-	-	-	70,44	0	-

Tabela 10 – Continuação

GENE	CHr	Localização (GrCh37/Hg19)	Herança	Nº OMIM	Nº OMIM patológico	%HI	pLI	Manifestação Clínica
<i>MRPL40</i>	22	22:19419425-19423598	-	605089	-	54,98	0,02	-
<i>UFD1L</i>	22	22:19437433-19466738	-	601754	-	11,95	1	-
<i>CLDN5</i>	22	22:19510547-19515068	-	602101	-	50,93	0,74	-
<i>SEPT5</i>	22	22:19701987-19712295	-	602724	-	32,67	0,91	-
<i>GNB1L</i>	22	22:19770747-19842462	-	610778	-	48,56	0	-
<i>C22orf29</i>	22	22:19833661-19842419	-	-	-	89,11	0	-
<i>ARVCF</i>	22	22:19957419-20004331	-	602269	-	54,56	0	-
<i>DGCR8</i>	22	22:20067755-20099400	-	609030	-	5,07	1	-
<i>TRMT2A</i>	22	22:20099389-20104915	-	611151	-	68,22	0	-
<i>ZDHHC8</i>	22	22:20116979-20135530	-	608784	-	37,81	0,99	-
<i>DGCR6L</i>	22	22:20301799-20307603	-	609459	-	79,33	0,13	-
<i>GGTLC3</i>	22	22:20366206-20368028	-	612340	-	94,16	-	-
<i>RIMBP3</i>	22	22:20456003-20461786	-	612699	-	90,2	-	-
<i>USP41</i>	22	22:20704868-20745048	-	-	-	93,24	-	-
<i>ZNF74</i>	22	22:20748405-20762745	-	194548	-	86,28	0	-
<i>KLHL22</i>	22	22:20783528-20850170	-	618020	-	41,2	0,7	-
<i>MED15</i>	22	22:20850200-20941919	-	607372	-	24,4	0,96	-
<i>CRKL</i>	22	22:21271714-21308037	-	602007	-	4,34	0,16	-
<i>AIFM3</i>	22	22:21319396-21335649	-	617298	-	38,59	0	-
<i>THAP7</i>	22	22:21353393-21356485	-	609518	-	50,87	0,03	-
<i>P2RX6</i>	22	22:21364097-21383119	-	608077	-	76,25	0	-
<i>SLC7A4</i>	22	22:21383007-21387129	-	603752	-	74,02	0	-

Tabela 10 – Continuação

GENE	CHr	Localização (GrCh37/Hg19)	Herança	Nº OMIM	Nº OMIM patológico	%HI	pLI	Manifestação Clínica
<i>GGT2</i>	22	22:21562262-21581926	-	137181	-	76,54	0,8	-
<i>RIMBP3B</i>	22	22:21737663-21743446	-	612700	-	89,37	-	-
<i>HIC2</i>	22	22:21771693-21805752	-	607712	-	59,72	0,95	-
<i>TMEM191C</i>	22	22:21820712-21825558	-	-	-	-	-	-
<i>RIMBP3C</i>	22	22:21899646-21905750	-	612701	-	88,67	-	-
<i>UBE2L3</i>	22	22:21903736-21978323	-	603721	-	3,65	0,78	-
<i>YDJC</i>	22	22:21982378-21984353	-	-	-	69,43	0	-
<i>CCDC116</i>	22	22:21987005-21991616	-	-	-	94,42	0	-
<i>SDF2L1</i>	22	22:21996550-21998587	-	607551	-	60,97	0,05	-
<i>PPIL2</i>	22	22:22006559-22054304	-	607588	-	57,93	0,03	-
<i>YPEL1</i>	22	22:22051833-22090123	-	608082	-	43,56	0,22	-
<i>MAPK1</i>	22	22:22108789-22221970	-	176948	-	0,43	0,98	-
<i>PPM1F</i>	22	22:22273793-22307209	-	-	-	77,13	0	-
<i>TOP3B</i>	22	22:22311397-22337213	-	603582	-	15,86	0,11	-
<i>VPREB1</i>	22	22:22599087-22599927	-	605141	-	91,87	0	-
<i>ZNF280B</i>	22	22:22838767-22863505	-	-	-	76,32	0,28	-
<i>ZNF280A</i>	22	22:22868060-22874613	-	-	-	92,53	0	-
<i>PRAME</i>	22	22:22890123-22901768	-	606021	-	93,31	0	-
<i>GGTLC2</i>	22	22:22988780-22990368	-	612339	-	93,22	0	-
<i>IGLL5</i>	22	22:23229960-23238287	-	-	-	94,92	-	-
<i>RTDR1</i>	22	22:23401593-23487208	-	605663	-	78,69	0	-
<i>GNAZ</i>	22	22:23412540-23467224	-	139160	-	36,01	0,89	-



**Tabela 10** – Continuação Conclusão

<b>GENE</b>	<b>CHr</b>	<b>Localização (GrCh37/Hg19)</b>	<b>Herança</b>	<b>Nº OMIM</b>	<b>Nº OMIM patológico</b>	<b>%HI</b>	<b>pLI</b>	<b>Manifestação Clínica</b>
<i>RAB36</i>	22	22:23487513-23506537	-	605662	-	73,09	0	-
<i>C22orf43</i>	22	22:23950639-23974508	-	-	-	97,21	0	-
<i>RGL4</i>	22	22:24030323-24041363	-	612214	-	99,6	0	-
<i>ZNF70</i>	22	22:24083769-24093279	-	194544	-	81,97	0,17	-
<i>VPREB3</i>	22	22:24094930-24096655	-	605017	-	92,91	0,02	-
<i>C22orf15</i>	22	22:24105208-24108048	-	-	-	88,59	0,08	-
<i>MMP11</i>	22	22:24110413-24126503	-	185261	-	50,96	0	-
<i>DERL3</i>	22	22:24176690-24181315	-	610305	-	59,73	0	-
<i>SLC2A11</i>	22	22:24198890-24228496	-	610367	-	83,79	0	-
<i>GSTT2B</i>	22	22:24299601-24303373	-	-	-	91,37	0,52	-
<i>DDTL</i>	22	22:24309089-24314721	-	-	-	89,4	0,42	-
<i>DDT</i>	22	22:24313554-24322660	-	602750	-	83,4	0,41	-
<i>GSTT2</i>	22	22:24322339-24326106	-	600437	-	91,98	0,23	-
<i>GSTTP1</i>	22	22:24340828-24347258	-	-	-	-	-	-
<i>GSTT1</i>	22	22:24376133-24384680	-	600436	-	44,19	0	-
<i>CABIN1</i>	22	22:24407642-24574596	-	604251	-	34,11	0	-
<i>SUSD2</i>	22	22:24577227-24585078	-	615825	-	86,34	0	-
<i>GGT5</i>	22	22:24615622-24641110	-	137168	-	83,27	0	-
<i>ADORA2A</i>	22	22:24813847-24838328	-	102776	-	31,86	0,33	-
<i>GUCD1</i>	22	22:24936406-24951903	-	-	-	42,59	0,02	-
<i>SNRPD3</i>	22	22:24951471-25005947	-	601062	-	11,25	0,88	-
<i>FAM211B</i>	22	22:24981588-24989175	-	-	-	84,83	0	-

**Tabela 10 – Conclusão**

GENE	CHr	Localização (GrCh37/Hg19)	Herança	Nº OMIM	Nº OMIM patológico	%HI	pLI	Manifestação Clínica
<i>RAB36</i>	22	22:23487513-23506537	-	605662	-	73,09	0	-
<i>PIWIL3</i>	22	22:25115001-25170687	-	610314	-	97,43	0	-
<i>SGSM1</i>	22	22:25202236-25323545	-	611417	-	55,19	0,98	-
<i>TMEM211</i>	22	22:25331077-25342662	-	-	-	85,83	0,22	-
<i>KIAA1671</i>	22	22:25348697-25593415	-	-	-	94,58	-	-
<i>LRP5L</i>	22	22:25747385-25801344	-	25323	-	82,59	-	-
<i>ADRBK2</i>	22	22:25960816-26125261	-	109636	-	54,36	0,79	-

**Fonte:** Database of of Genomic Variation and Phenotype in Humans using Ensembl Resources (DECIPHER) em <https://decipher.sanger.ac.uk/> e em Online Mendelian Inheritance in Man (OMIM) em <https://omim.org/>.

**ANEXO B** - Casos de SDup22q11.2 com CNVs patogênicas ou provavelmente patogênicas coexistentes

**Tabela 11** - Resumo dos fenótipos presentes nos casos de SDup22q11.2 típicas (sombreadas) e atípicas contendo CNVs coexistentes classificadas como patogênicas ou provavelmente patogênicas, as quais não foram consideradas na análise:

Fenótipo	Casos de Dup22q11.2 típicas			Casos de Dup22q11.2 atípicas					
	1	3	4	2	5	7	8	9	10
Dismorfismo crânio/facial				X	X				
Hipertelorismo					X				
Macrocrania		X							
Blefarofimose	X		X						
Orelha de implantação baixa	X		X						
Pescoço curto/alado	X								
Fenda labial/palatina							X		
Hipertelorismo mamilar	X								
Cardiopatia			X	X	X				X
Atraso de desenvolvimento	X	X	X						X
Comportamental/ Psiquiátrico/Cognitivo	X	X						X	X
Transtorno do espectro autista							X		X
Perda auditiva	X								
Prega palmar única		X							
Convulsões			X						
Epilepsia							X		
Perda auditiva								X	
Alterações oftalmológicas								X	
Camptodactilia								X	
Ânus imperfurado						X			
Cegueira unilateral						X			
Artropatias						X			

**Legenda:** ADNPM (atraso do desenvolvimento neuro psicomotor).

**AENXO C** - Casos de SD22q11.2 com CNVs patogênicas ou provavelmente patogênicas coexistentes

**Tabela 12** - Resumo dos fenótipos presentes nos casos de SD22q11.2 típicas (sombreadas) e atípicas contendo CNVs coexistentes classificadas como patogênicas ou provavelmente patogênicas, as quais não foram consideradas na análise:

Fenótipo	Casos Del22q11.2 típicas				Casos Del22q11.2 atípicas	
	Del40	Del41	Del42	Del6	Del24	Del43
Dismorfismo crânio-facial	X		X		X	
ADNPM	X	X	X	X	X	
Cardiopatía congênita	X				X	X
Epicanto	X					
Hipertelorismo	X					
Retrognatismo	X					
Atraso global do desenvolvimento		X				
Baixa estatura			X			
Atraso de fala/linguagem		X				
Deficiência intelectual					X	X
Alterações renais/urogenitais				X	X	X
Displasias ungueais				X		

**Legenda:** ADNPM (atraso do desenvolvimento neuro psicomotor).

### ANEXO D - Casos de SDup22q11.2 com cariótipos alterados ou CNVs patogênicas ou provavelmente patogênicas coexistentes

Casos de SDup22q11.2 desconsiderados da análise comparativa entre as frequências das duplicações típicas e atípicas, por possuírem cariótipos alterados ou CNVs coexistentes classificadas como patogênicas ou provavelmente patogênicas.

**Tabela 13** – Localização e classificação das CNVs entre os casos SDup22q11.2 contendo alterações coexistentes à duplicação na região 22q11.2. Os casos estão agrupados quanto a deleção do gene *TBX1*, quanto aos pontos de quebra entre as LCRs flangeadoras (A-G) e quanto ao resultado de CMA

<i>TBX1</i>	LCR	Caso	Idade (anos)	Sexo	Cariótipo	CMA Arr [GRCh37]	Tamanho	Classificação da CNV
Sim	*A-H*	Dup2	0,5	M	47,XY,?r?[15]/ 46,XY[15]	arr[GRCh37] 22q11.2(16114244_33531406)x3 arr[GRCh37] 3p22(39357305_39427713)x1	17,43 Mb 70,41 kb	P PB
Sim	*A-A	Dup4	15	F	47,XX,+mar	arr[GRCh37] 22q11.2(16114244_20278471)x3 arr[GRCh37] 11q23.3(116681008_134934063)x3	4,16 Mb 18,25 Mb	P P
Não	*A-A	Dup7	10	F	47,XX+mar	arr[GRCh37] 22q11.2(16114244_18628715)x3 arr[GRCh37] 2p25.3(943250_1495800)x3	2,5 Mb 553 kb	P PB
Não	*A	Dup9	11	M	47,XY,+mar [28]/46,XX [2]	arr[GRCh37] 22q11.2(17012935_18107966)x3 arr[GRCh37] 14q22.1(51157160_51427506)x3	1,18 Mb 270,3 kb	P PB
Sim	*A-D	Dup01	15	F	NR	arr[GRCh37] 22q11.2(18886915_21463730)x3 arr[GRCh37] 18q21.(55211141_55920444)x3	2,6 Mb 709,4 KB	P PP
Sim	A	Dup03	0,55	M	NR	arr[GRCh37] 22q11.2(18891398_20308800)x3 arr[GRCh37] 11q12.1(57420780_57667222)x3	1,4 Mb 246 kb	PP PP
Não	E-H*	Dup05	15	F	NR	arr[GRCh37] 22q11.2(23012069_24959908)x3 arr[GRCh37] 9q34.3(140535200_140567612)x1 arr[GRCh37] 17q11.2(16603145_20395535)x1	1,9 Mb 32Kb 3,9 Mb	P B P
Não	*A	Dup08	6	F	NR	arr[GRCh37] 22q11.2(16114244_17294251)x3 arr[GRCh37] 6q26(162668889_162757061)x1	1,18 Mb 88,17 Kb	PB PP
Não	A-A	Dup10	5	M	NR	arr[GRCh37] 22q11.2(19771355_19771891)x3 arr[GRCh37] 14q12(30186580_3253022)x3	537 pb 2,35 Mb	PB PP

**Legenda:** LCR (repetição de baixo número de cópias); CMA (análise por *microarray* cromossômico); CNV (variante de número de cópia); NR (não reportado); P (patogênica); PP (provavelmente patogênica); PB (provavelmente benigna)

## ANEXO E - Casos de SDe122q11.2 com cariótipos alterados ou CNVs patogênicas ou provavelmente patogênicas coexistentes

Casos de SDe122q11.2 desconsiderados da análise comparativa entre as frequências das deleções típicas e atípicas, por possuírem cariótipos alterados ou CNVs coexistentes classificadas como patogênicas ou provavelmente patogênicas.

**Tabela 14** – Localização e classificação das CNVs entre os casos SD22q11. Os casos estão agrupados quanto a deleção do gene *TBX1*, quanto aos pontos de quebra entre as LCRs flangeadoras (A-G) e quanto ao resultado de CMA. Os resultados contendo CNVs coexistentes classificadas como patogênicas ou provavelmente patogênicas estão destacados em sombreado.

<i>TBX1</i>	LCR	Caso	Idade (anos)	Sexo	Cariótipo	CMA Arr [GRCh37]	Tamanho	Classificação da CNV
Sim	A-D	Del06	3	M	47,XY,+mar	arr[GRCh37] 22q11.2(18661699-21661435 x1	2,9 Mb	P
Sim	A-D	Del24	2	F	45, XX [20]	arr[GRCh37] 22q11.2(18861748-21463730 x1	2,6 Mb	P
Sim	A-D	Del40	13	F	NR	arr[GRCh37] 15q13 (30950529-32513233 x3 arr[GRCh37] 22q11.2(18844632-21463730 x1	1,6 Mb 2,62 Mb	PP P
Sim	A-D	Del41	5	M	NR	arr[GRCh37] 22q11.2(18844632-20312668 x1 arr[GRCh37] 21q22 (47720357-47934849 x1	1,47 Mb 214,5 kb	P PP
Sim	*A-A	Del42	NR	M	46,XY, t(17,22)(p13, q11.2)	arr[GRCh37] 22q11.2(16133474-20311763 x1 arr[GRCh37] 17p13.3(51885-2444335 x1	4,2 Mb 2,3 Mb	P P
Não	E*-F	Del43	19	M	NR	arr[GRCh37] 22q11.2(23065304-23217283x1 arr[GRCh37] 17q12(44083882-44210195x3	151,98 kb 126,31 kb	PB PP

Legenda: LCR (repetição de baixo número de cópias); CMA (análise por *microarray* cromossômico); CNV (variante de número de cópia); VUS (variante de significado incerto); NR (não reportado); P (patogênica); PP (provavelmente patogênica); PB (provavelmente benigna).