



UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS
FACULDADE DE CIÊNCIAS MÉDICAS

TAMIRIS NOGUEIRA BEZERRA BUENO

GENÔMICA NA PRÁTICA MÉDICA: INVESTIGAÇÃO DE FENDA ORAL E S.
DELEÇÃO 22Q11.2 EM UM HOSPITAL PÚBLICO BRASILEIRO

CAMPINAS

2024

TAMIRIS NOGUEIRA BEZERRA BUENO

GENÔMICA NA PRÁTICA MÉDICA: INVESTIGAÇÃO DE FENDA ORAL E S.
DELEÇÃO 22Q11.2 EM UM HOSPITAL PÚBLICO BRASILEIRO

Dissertação apresentada à Faculdade de Ciências Médicas da
Universidade Estadual de Campinas como parte dos requisitos
exigidos para a obtenção do título de Mestra em Ciências, na Área de
Concentração em Genética Médica.

ORIENTADOR: PROFA. DRA. VERA LÚCIA GIL DA SILVA LOPES

ESTE TRABALHO CORRESPONDE À VERSÃO
FINAL DA DISSERTAÇÃO DEFENDIDA PELO
ALUNO TAMIRIS NOGUEIRA BEZERRA BUENO, E ORIENTADA PELA
PROFA. DRA. VERA LÚCIA GIL DA SILVA LOPES

CAMPINAS

2024

Ficha catalográfica
Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP)
Biblioteca da Faculdade de Ciências Médicas
Maristella Soares dos Santos - CRB 8/8402

B862g Bueno, Tamiris Nogueira Bezerra, 1991-
Genômica na prática médica : investigação de fenda oral e s. deleção
22q11.2 em um hospital público brasileiro / Tamiris Nogueira Bezerra Bueno. –
Campinas, SP : [s.n.], 2024.

Orientador: Vera Lúcia Gil da Silva Lopes.
Dissertação (mestrado) – Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP),
Faculdade de Ciências Médicas.

1. Fenda labial. 2. Fissura palatina. 3. Saúde pública - Brasil. 4.
Diagnósticos. 5. Síndrome de deleção 22q11.2. I. Lopes, Vera Lúcia Gil da
Silva, 1967-. II. Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP). Faculdade de
Ciências Médicas. III. Título.

Informações Complementares

Título em outro idioma: Genomics in medical practice : investigation of oral clefts and
22q11.2 deletion syndrome in a single Brazilian public hospital

Palavras-chave em inglês:

Cleft lip

Cleft palate

Public health, Brazil

Diagnosis

22q11.2 deletion Syndrome

Área de concentração: Genética Médica

Titulação: Mestra em Ciências

Banca examinadora:

Vera Lúcia Gil da Silva Lopes [Orientador]

Mara Sanches Guaragna

Roseli Maria Zechi Ceide

Data de defesa: 29-07-2024

Programa de Pós-Graduação: Ciências Médicas

Identificação e informações acadêmicas do(a) aluno(a)
- ORCID do autor: <https://orcid.org/0000-0001-6531-3903>
- Currículo Lattes do autor: <http://lattes.orq.br/6269845213820327>

COMISSÃO EXAMINADORA DA DEFESA DE MESTRADO

TAMIRIS NOGUEIRA BEZERRA BUENO

ORIENTADOR: PROFA. DRA. VERA LÚCIA GIL DA SILVA LOPES

MEMBROS TITULARES:

1. PROFA. DRA. VERA LÚCIA GIL DA SILVA LOPES

2. PROFA. DRA. MARA SANCHES GUARAGNA

3. DRA. ROSELI MARIA ZECHI CEIDE

Programa de Pós-Graduação em Ciências Médicas da Faculdade de Ciências Médicas da Universidade Estadual de Campinas.

A ata de defesa com as respectivas assinaturas dos membros encontra-se no SIGA/Sistema de Fluxo de Dissertação/Tese e na Secretaria do Programa da FCM.

Data de Defesa: 29/07/2024

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus, que sempre guiou e me deu forças nesta jornada.

Agradeço a minha mãe Maria, meu companheiro Leonardo e minha amiga Amanda, que estiveram do meu lado, me apoiando e incentivando em todos os momentos.

Agradeço minha orientadora, Prof^a Dra. Vera, pela oportunidade, por confiar em mim, sempre me apoiar e dividir um pouco do seu conhecimento comigo.

Agradeço ao Prof^o Dr. Társis, que sempre esteve disposto a me ajudar no que precisei.

Agradeço as minhas colegas do laboratório de Citogenética e Citogenômica da FCM - Unicamp, que sempre me ajudaram e apoiaram.

Este estudo recebeu apoio do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) processo no. 408504/2018-8.

O presente trabalho também foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001.

RESUMO

As anomalias craniofaciais (ACF) constituem grupo prevalente, clínica e etiologicamente heterogêneo, que afetam o arcabouço craniano e/ou facial. Entre elas, destacam-se as fendas orais (FO), em que 30% representam formas sindrômicas (FOS), e a Síndrome de deleção 22q11.2 (SD22q11.2). A avaliação genético-clínica é que dirige a investigação diagnóstica. Desde 2006, a Base Brasileira de Anomalias Craniofaciais (BBAC) tem sido uma importante iniciativa voluntária para registrar e seguir indivíduos com FO e SD22q11.2, possibilitando acesso a exames diagnósticos em contexto de pesquisa. Em momento de desenvolvimento e consolidação da Política Nacional de Atenção Integral a Pessoas com Doenças Raras (PNAIPDR) no Brasil, este estudo objetivou analisar o acesso à avaliação genética e ao diagnóstico de indivíduos com FO e suspeita de SD22q11.2 no Ambulatório de Dismorfologia Craniofacial do Hospital de Clínicas da Unicamp (ADCF-Campinas, SP). Trata-se de estudo transversal e descritivo que analisou os registros de atendimentos na BBAC no período de 2006 a 2019, previamente à habilitação do serviço à PNAIPDR. Após a avaliação clínica, diferentes métodos diagnósticos foram empregados, entre os quais apenas o cariótipo é integrante da tabela de procedimentos do Sistema Único de Saúde. Os demais - Hibridação *in situ* por fluorescência (FISH), *Multiplex Ligating Probe Amplification* (MLPA), análise cromossômica em microarranjos (CMA) e o sequenciamento completo do exoma (WES) - foram realizados ao longo do tempo em diferentes projetos de pesquisa, incluindo o presente. Entre os 166 indivíduos (88 F: 78 M) atendidos no ADCF, a idade de acesso variou de 0 a 52 anos (média = 8,3/ mediana = 4). O motivo de encaminhamento foi FO em 77/166 e suspeita de SD22q11.2 em 89/166. A proporção de FOS e FO não sindrômica (FONS), foi de 74,7% e 26,2%, respectivamente. Conclusão diagnóstica ocorreu em 85/166 casos, sendo 36/85 de diagnóstico clínico, dos quais 27/36 FONS. A idade de diagnóstico variou de 0 a 50 (média = 9,5 / mediana = 5); 81 indivíduos aguardam evolução clínica ou exames complementares. Anomalias cromossômicas foram detectadas em 6/ 77 e desequilíbrios genômicos ocorreram em 30/101 (15 deles, SD22q11.2). De 29 WES realizados, variantes causativas ou provavelmente relacionadas ao fenótipo ocorreram em 14 indivíduos (sete FOS e sete suspeitas de SD22q11.2 não confirmadas) envolvendo 15 diferentes; um indivíduo apresentou duas variantes provavelmente relacionadas ao fenótipo (nos genes *NHS* e *SHH*) e 21 WES foram

negativos. Um indivíduo apresentou desequilíbrio genômico (duplicação 17p12), heterozigose composta no gene PRX (alterações relacionadas à diferentes formas de Doença de Charcot Marie Tooth, formas 1AF e 4F, respectivamente) e variante provavelmente patogênica (*MECP2:c.763C>T p.(Arg255Ter)*). A prevalência de pacientes com FOS, em relação as FONS é o contrário da literatura e sugere falta de encaminhamento deste último grupo para avaliação. A falta de diagnóstico etiológico reflete, em parte, a falta de exames. Evidencia-se a diversidade etiológica, com destaque para a SD22q11.2. Fica clara a necessidade de diferentes recursos laboratoriais e seguimento especializado para diagnóstico. Os resultados mostram a necessidade de melhoria nas políticas públicas de saúde, facilitando o acesso a atendimento genético-clínico, exames diagnósticos e aconselhamento genético.

Palavras-chave: 1- Fenda de lábio; 2- Fenda de palato; 3- Saúde Pública – Brasil; 4- Diagnóstico; 5- Síndrome de deleção 22q11.2.

ABSTRACT

Craniofacial anomalies (CFA) are a prevalent, clinically, and etiologically heterogeneous group affecting cranial and/or facial structures. Among them, oral clefts (OC) stand out, of which 30% represent syndromic forms (SOC) and 22q11.2 deletion syndrome (DS22q11.2). The genetics evaluation is what directs the diagnostic investigation. Since 2006, the Brazilian Base of Craniofacial Anomalies (BDCA) has been an important voluntary initiative to register and follow individuals with OC and 22q11.2DS, enabling access to diagnostic exams in a research context. At a time of development and consolidation of the Política Nacional para Atenção Integral a Pessoas com Doenças Raras (PNAIPDR) in Brazil, this study aimed to analyze access to genetic evaluation and diagnosis of individuals with OC and suspected 22q11.2DS at the Craniofacial Dysmorphology Outpatient Clinic from the Hospital de Clínicas da Unicamp (ADCF-Campinas, SP). This is a cross-sectional and descriptive study that analyzed service records at BBAC from 2006 to 2019 before the service was approved by PNAIPDR. After clinical evaluation, different diagnostic methods were used, among which only the karyotype is part of the table of procedures of the Unified Health System. The others - Fluorescence *in situ* hybridization (FISH), Multiplex Ligating Probe Amplification (MLPA), Chromosomal microarray Analysis (CMA), and Whole Exome Sequencing (WES) - have been carried out over time in different research projects, including the present one. Among the 166 individuals (88 F: 78 M) evaluated at ADCF, the age at access ranged from 0 to 52 years (mean = 8.3/median = 4). The reason for referral was OC in 77/166 and suspected 22q11.2DS in 89/166. The proportion of SOC and non-syndromic OC (NSOC) was 74.7% and 26.2%, respectively. Diagnostic conclusions occurred in 85/166 cases, 36/85 of which were clinical diagnoses, of which 27/36 were NSOC. Age at diagnosis ranged from 0 to 50 (mean = 9,5 /median = 5); 81 individuals are awaiting clinical evolution or additional tests. Chromosomal abnormalities were detected in 6/77, and genomic imbalances occurred in 30/101 (15 of them, SD22q11.2). Of 29 WES performed, causative or probably phenotype-related variants occurred in 14 individuals (seven FOS and seven suspected unconfirmed 22q11.2DS) involving 15 different genes; one individual presented two variants probably related to the phenotype (in the *NHS* and *SHH* genes), and 21 WES were negative. One individual presented genomic imbalance (17p12 duplication), composed heterozygosity in the *PRX* gene (alterations related to different forms of Charcot Marie

Tooth Disease, forms 1AF and 4F, respectively) and probably pathogenic variant (*MECP2*:c.763C>T p.(Arg255Ter). The prevalence of patients with SOC and NSOC contradicts the literature and suggests a lack of referral of this last group for genetic evaluation. The significant lack of etiological diagnosis reflects, in part, the lack of access to genetic tests. Etiological diversity is evident in the studied group, with emphasis on 22q11.2DS. Furthermore, the need for different laboratory resources and specialized clinical follow-up for diagnosis is clear. The results show the need to improve public health policies, facilitating access to genetic-clinical care, diagnostic tests, and genetic counseling.

Keywords: 1- Cleft lip; 2- cleft palate; 3- Public health – Brazil; 4- Diagnosis; 5- 22q11.2 deletion Syndrome.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1: Representação esquemática do desenvolvimento do lábio e palato primário humano.....	25
Figura 2: Representação esquemática do desenvolvimento do lábio e palato secundário humano.....	26
Figura 3: Distribuição dos indivíduos registrados na Base Brasileira de Anomalias Craniofaciais de acordo com a avaliação clínica inicial.....	36
Figura 4: Desenho esquemático representando a nosologia referente a amostra deste estudo a partir da suspeita clínica.....	37

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Defeitos <i>major</i> mais associados aos indivíduos atendidos com FOS, apresentados em sentido craniocaudal (= 68)	39
Tabela 2: Desequilíbrios genômicos detectados por FISH e CMA em indivíduos com suspeita FOS sem suspeita de SD22q11.2 (n=50).....	41
Tabela 3: Descrição dos resultados de WES com variantes relacionadas ao fenótipo nos casos de FOS sem suspeita de SD22q11.2.....	41
Tabela 4: Nosologia dos indivíduos investigados por suspeita de FOS (n=103).....	43
Tabela 5: Principais achados clínicos presentes nos casos investigados por suspeita de SD22q11.2 apresentados em sentido craniocaudal (n=89)	45
Tabela 6: Desequilíbrios genômicos detectados por CMA em indivíduos com suspeita não confirmada de SD22q11.2.....	47
Tabela 7: Resultados de WES em casos de suspeita de SD22q11.2 não confirmadas.....	48
Tabela 8: Resultado conclusivo de WES realizado neste estudo.....	48
Tabela 9: Nosologia dos indivíduos investigados por suspeita de SD22q11.2 (n=89).....	50
Tabela 10: Trajetória diagnóstica dos indivíduos atendidos do ADCF e registrados na BBAC.....	52

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ABraOM: Arquivo Brasileiro Online de Mutações

ACF: anomalias craniofaciais

ACMG: *American College of Medical Genetics and Genomics and the Association*

ACPA: *American Cleft Palate-Craniofacial Association*

ADCF: Ambulatório de Dismorfologia Craniofacial

BBAC: Base Brasileira de Anomalias Craniofaciais

CID 10: Classificação Internacional de Doenças 10

CMA: Análise cromossômica por microarray (*Chromosomal Microarray analysis*)

CNV: *Copy Number Variation*

CRANE: *Cleft Registry and Audit NEtwork*

CranFlow: Craniofacial Anomalies: Registration, Flow, and Management

DCM: defeitos congênitos múltiplos

DCF: Dismorfologia Craniofacial

DFCR: *The Danish Facial Cleft Register*

del: deleção

EUROCAT: *European Surveillance of Congenital Anomalies*

ExAC: *Exome Aggregation Consortium*

FCM: Faculdade de Ciências Médicas

FISH: Hibridização In Situ por Imunofluorescência (*Fluorescence In Situ Hybridization*)

FGFR: Fibroblast growth factor receptor

FGFR1: Fibroblast growth factor receptor 1

FGFR2: Fibroblast growth factor receptor 2

FGFR3: Fibroblast growth factor receptor 3

FL: Fenda labial

FLP: fenda labiopalatal

FL/P: fenda labial com ou sem fenda palatal

FO: fenda oral

FOA: fenda oral atípica

FOS: fenda oral sindrômica

FOT: fenda oral típica

FONS: fenda oral não sindrômica

FP: fenda palatal

gnomAD: *The Genome Aggregation Database*

MLPA: Amplificação Multiplex de Sondas Dependente de Ligação (*Multiplex Ligation dependent Probe Amplification*)

NGS: Sequenciamento de Nova Geração

OMS (WHO): Organização Mundial da Saúde

PCBF: Projeto Crânio-Face Brasil

PNAIPDR: Política Nacional de Atenção Integral às Pessoas com Doenças Raras

qPCR: *Quantitative polymerase chain reaction*

RRTDFC: Rede Brasileira de Referência em Tratamento Craniofacial

SAF: Síndrome alcoólica fetal

SGC: serviço de genética clínica

SD: síndrome de deleção

SIX3: Six homeobox 3

SGC: Serviço de genética clínica

SUS: Sistema Único de Saúde

Unicamp: Universidade Estadual de Campinas

VUS: variante e significado incerto (*variant of unknown significance*)

WES: sequenciamento completo de exoma (*whole exome sequencing*)

SUMÁRIO

Apresentação	15
1 INTRODUÇÃO.....	16
1.1 Anomalias craniofaciais e sua importância para saúde pública.....	16
1.2 Tratamento e reabilitação	18
1.3 Política Nacional de Atenção Integral a Pessoas com Doenças Raras (PNAIPDR)	19
1.4 Importância de banco de dados.....	21
1.5 Serviço de genética clínica do HC-Unicamp	22
2 JUSTIFICATIVA.....	25
3 OBJETIVOS	26
3.1 Objetivo geral	26
3.2 Objetivos específicos.....	26
4 REVISÃO DA LITERATURA.....	27
4.1 Diagnóstico de ACF e seus desafios na atenção à saúde no Brasil.....	32
5 SUJEITOS E MÉTODOS.....	34
5.1 Aspectos éticos.....	34
5.2 Desenho do estudo.....	34
5.3 Sequenciamento Completo de Exoma (Whole Exome Sequencing -WES).....	35
6 RESULTADOS	37
6.1 Casos avaliados com FO.....	39
6.2 Casos avaliados por suspeita de SD22q11.2.....	46
6.3 Nosologia completa dos indivíduos avaliados no ADCF/BBBAC	52
7 DISCUSSÃO	60
8 CONCLUSÃO	69
9 REFERÊNCIAS	70
10 ANEXOS.....	76

Apresentação

Minha formação é Bacharel em Biomedicina, iniciada em 2017 e finalizada em 2021. No ano de 2019, participei do processo seletivo para bolsas de estágio na Unicamp, sendo chamada para estagiar no Laboratório de Citogenética Humana e Citogenômica, sob a supervisão da Profa.Dra. Vera Lucia Gil da Silva Lopes e o Prof. Dr. Társis Paiva Vieira.

Neste período de 2 anos de estágio, tive a oportunidade de aprender de forma prática as técnicas de citogenética e genética molecular, além de participar das reuniões científicas dos grupos de pesquisa do laboratório e disciplinas relacionadas à genética na FCM.

Tudo isso me trouxe muito aprendizado e ainda mais vontade de embarcar nesta área científica. Com muito interesse na área de anomalias craniofaciais, ingressei no mestrado, orientada pela Professora Dra. Vera Lucia Gil da Silva Lopes.

Minha contribuição para o PCFB foi essencialmente na parte laboratorial, com o processamento de amostras de diferentes estudos e análise de dados de Sequenciamento Completo de Exoma do presente estudo para diagnóstico.

Agradeço minha orientadora que sempre me apoiou nesta jornada e confiou em minha capacidade, me incentivando a buscar e enriquecer sempre mais este trabalho, para ter a oportunidade de contribuir de forma significativa, podendo, a partir dos resultados, propor melhorias nas políticas públicas de saúde, em busca de gerar impactos positivos na qualidade de vida desses indivíduos.

1 INTRODUÇÃO

1.1 Anomalias craniofaciais e sua importância para saúde pública

As anomalias craniofaciais (ACF) constituem um grupo heterogêneo com extensa nosologia, que podem compreender alterações no arcabouço craniano e/ou facial. Estas afetam uma proporção significativa da população e a prevalência varia de acordo com as diferentes etiologias, regiões geográficas e grupos étnicos (1).

As ACF podem se manifestar de forma isolada ou acompanhada de outros defeitos morfológicos, aumentando a complexidade e o manejo clínico. Este grupo de anomalias congênitas apresenta diferentes etiologias conhecidas e, em parte dos quadros, esta ainda não é definida. Interações gene-ambiente desempenham papel crítico na manifestação e gravidade das ACF, em razão do complexo desenvolvimento das estruturas do arcabouço craniofacial no período embrionário. (2).

É importante destacar que as ACF podem ter consequências na fala, audição, aparência e cognição. Todos esses aspectos podem impactar a qualidade de vida dos indivíduos afetados, levando a desafios sociais, emocionais e físicos, exclusão social e laboral. Além disso, o tratamento é multiprofissional, prolongado e especializado, sendo considerado uma preocupação de saúde pública (1).

Dentre as ACF, destacam-se as fendas orais (FO), anomalias otomandibulares, craniossinostoses e holoprosencefalia (2). As FO caracterizadas como típicas (FOT) são as mais prevalentes, com estimativa de 1:700 nascidos vivos, com variação geográfica e étnica, sendo um dos defeitos congênitos mais comum na espécie humana (3,1). As FOT (fenda labial e/ou fenda palatal) podem ser classificadas em fendas orais não sindrômica (FONS) que corresponde a 70% dos casos, ou fendas

orais sindrômicas (FOS) que corresponde a 30% e estão associados a outras anomalias congênitas (3). Existem diferentes genes relacionados à gênese das FONS, com destaque para o *IRF6* (4).

A literatura mais recente mostra o reconhecimento de sinais clínicos relacionados às microformas de FONS, tal como agenesia dentária e descontinuidade do músculo *orbicular oris*, tornando mais complicado a identificação de agregação familiar (5,6). Ainda, por meio da investigação por sequenciamento de alto desempenho foram reportadas famílias com FONS apresentando variantes patogênicas em genes associados a quadros sindrômicos, enquanto em outras famílias, foram identificadas formas subclínicas de síndromes já conhecidas (7,8,9).

Com relação às FOS, existem cerca de 600 reconhecidas com transmissão monogênica. Teratogênese, com especial participação da Síndrome do Alcoólica Fetal (SAF), representa outra causa frequente, assim como anomalias cromossômicas e os desequilíbrios genômicos. Neste último grupo, a Síndrome de deleção 22q11.2 (SD22q11.2) constitui a microdeleção cromossômica mais frequente na população e apresenta ampla heterogeneidade clínica, frequentemente associada a anomalias palatais. As manifestações são variadas, podendo se sobrepor a outras condições genéticas ou apresentar manifestações leves, tornando a suspeita clínica desafiadora. Ainda, em boa parte dos casos de FOS, a etiologia não é conhecida (3,10,11,12).

Quanto às demais ACF, a heterogeneidade clínico-etiológica também é significativa e dependente de avaliação clínica e laboratorial específica para, quando possível, estabelecimento do diagnóstico e aconselhamento genético.

O sequenciamento completo do exoma (Whole Exome Sequencing – WES) representa uma importante ferramenta diagnóstica em indivíduos com doenças

genéticas raras, como indivíduos com ACM, FOS e transtornos do neurodesenvolvimento por exemplo. Neste último grupo, estudos tem apontado para um rendimento diagnóstico com WES de aproximadamente de 30 - 43% (13,14). Mesmo com o considerável rendimento, a interpretação dos dados exige amplo conhecimento, o qual está em constante evolução. Com isso, em casos em que não é possível concluir o diagnóstico, recomenda-se que os dados sejam reanalisados com periodicidade de dois anos, podendo levar a reclassificação de variantes e conclusão diagnóstica (15).

1.2 Tratamento e reabilitação

A Organização Mundial da Saúde (OMS) sugere uma abordagem abrangente para o tratamento e a reabilitação relacionadas às fendas labiopalatais. Quando se trata da composição da equipe, as diretrizes da OMS destacam a importância de envolver uma equipe multidisciplinar de profissionais de saúde, incluindo cirurgião plástico, ortodontista, fonoaudiólogo, odontopediatra, geneticista clínico, cirurgião pediátrico, psicólogo ou psicoterapeuta, enfermeiro, nutricionista e assistente social. Em situações específicas, também podem fazer parte da equipe um especialista em implantes cocleares para problemas de audição. O objetivo dessa equipe multidisciplinar é proporcionar um cuidado holístico aos indivíduos com fendas orais, abordando todos os aspectos da condição clínica e visando melhorar a qualidade de vida e o bem-estar (16).

Em relação as recomendações do *American Cleft Palate-Craniofacial Association* (ACPA) de tratamento e reabilitação dos pacientes com FO, a equipe interdisciplinar deve incluir psicólogo para apoio emocional, psiquiatra, geneticista/dismorfologia e aconselhamento genético, cirurgião maxilofacial e cirurgião plástico, atendimento com ortodontista e odontopediatra, pediatra,

fonoaudiólogo, para atuar no desenvolvimento da fala e terapia de linguagem e otorrinolaringologista, atuando nos cuidados com ouvido, nariz e garganta. Pode incluir também anestesiológico e oferecer diagnóstico médico por imagem. Testes genéticos são recomendados para confirmação de suspeita clínica e em casos complexos, em que não é possível reconhecer as manifestações clínicas inicialmente, é recomendada a realização do acompanhamento genético prolongado com testes genéticos atualizados. É recomendado que os pacientes recebam todo o acompanhamento com a equipe interdisciplinar, desde recém-nascidos, a partir do momento que são encaminhados (17,18).

No Brasil, o tratamento multiprofissional reabilitador para fendas orofaciais é definido pelo Ministério da Saúde desde 1994, por meio da Portaria nº62 de 19 de abril de 1994 (19). Em 1998 foi criada a Rede Brasileira de Referência em Tratamento Craniofacial (RRTDFC) no Sistema Único de Saúde (SUS), atualmente com 30 centros credenciados. No entanto, mesmo com o claro conhecimento sobre a importância da avaliação genética clínica e aconselhamento genético, a Portaria nº 62 de 19 de abril de 1994 nunca foi revisada e o geneticista ainda não é incluído como membro obrigatório da equipe multiprofissional (12). Além dos benefícios individuais dirigidos às famílias, este profissional facilita o planejamento terapêutico e a obtenção de dados epidemiológicos de forma mais precisa, sendo importante também para o planejamento de políticas públicas (20).

1.3 Política Nacional de Atenção Integral a Pessoas com Doenças Raras (PNAIPDR)

A investigação etiológica, no contexto da avaliação genético-clínica e, após, o aconselhamento genético são regidos pela portaria nº 199, de 30 de janeiro de 2014, que instituiu a Política Nacional de Atenção Integral às pessoas com Doenças Raras (PNAIPDR), contando com a previsão de alguns exames genéticos diagnósticos. Esta

portaria também institui a composição mínima para as equipes assistenciais na qual o médico geneticista está incluído. (21).

Dentro desta portaria, a estrutura da atenção às pessoas com doenças raras é organizada em eixo I, que é composto pelas doenças de origem genética, que são anomalias congênitas ou de manifestação tardia; deficiência intelectual; e erros inatos do metabolismo e em eixo II, que é composto por doenças de origem não genética, sendo elas infecciosas, inflamatórias e autoimunes (21).

Desta forma, esta portaria atenderia apenas os 30% indivíduos com FO que são raras, ou seja, FOS. Assim os 70% de indivíduos com FONS, que correspondem a cerca de 1,36/1000 recém-nascidos, não teriam acesso a avaliação genética. (3,12). Do ponto de vista clínico, a diferenciação entre FONS e FOS pode ser difícil, com a presença de sinais clínicos sutis, sendo possível que famílias com FOS passem despercebidas para profissionais não especializados. Além disso, o acesso à avaliação e ao aconselhamento genético enfrentam desafios significativos. A falta de médicos geneticistas e serviços especializados contribui para essa situação. No Brasil, a presença de equipes com médicos geneticistas é limitada, sendo mais concentrada no estado de São Paulo, localizado na região Sudeste (22).

Antes da PNAIPDR, com exceção ao cariótipo, não estavam previstas outras técnicas para diagnóstico de doenças genéticas no Sistema Único de Saúde (SUS). O acesso as técnicas de *Fluorescence In Situ Hybridization* (FISH), *Multiplex Ligation-dependent Probe Amplification* (MLPA), *chromosomal microarray analysis* (CMA), Sequenciamento de Sanger e Sequenciamento de Nova Geração (NGS), que inclui o WES, era possibilitado apenas por meio de projetos de pesquisa complementares para essas famílias (23). Atualmente, essas técnicas estão parcialmente contempladas na portaria 199 /2014, de acordo com o eixo e a Classificação

Internacional de Doenças 10 (CID 10) (24) e Protocolos Clínicos e Diretrizes Terapêuticas incorporados pelo Ministério da Saúde (<https://www.gov.br/saude/pt-br/assuntos/pcdt>). Entretanto, a real incorporação destas técnicas diagnósticas nos centros habilitados ainda é escassa e não uniforme.

1.4 Importância de banco de dados

A criação de bancos de dados permite reunir informações clínicas que auxiliam em pesquisas e, conseqüentemente, nos programas de saúde, permitindo o reconhecimento dos indivíduos, trazendo também facilidade de acesso à informação para pesquisadores e profissionais da saúde. Um exemplo é o Banco de Dados Internacional de Anomalias Craniofaciais, criado em 2002, desenvolvido pelo Instituto Nacional de Pesquisa Odontológica e Craniofacial e o Programa de Genética Humana da Organização Mundial da Saúde. Ele busca ainda reunir vários bancos de dados a fim de proporcionar uma ajuda coletiva que possa colaborar em diversas questões a volta dos indivíduos com anomalias craniofaciais, seus familiares e os profissionais de saúde envolvidos no atendimento e reabilitação (25).

Outro fator que torna a criação e manutenção destes bancos de dados muito importante, são as informações relacionadas a pesquisa etiológica, que tem sofrido novas abordagens, como as técnicas de genética molecular (25). Devido a heterogeneidade das fendas orofaciais, os registros relacionados aos caminhos abordados na investigação etiológica podem favorecer a troca de informações e conhecimento entre os profissionais e pesquisadores. Com isso, existem base de dados de diferentes países, como *Cleft Registry and Audit Network (CRANE)*, que registra informações relacionadas à fenda labial e /ou palatal na Inglaterra, Escócia, País de Gales e Irlanda do Norte (26), a *The Danish Facial Cleft Register (DFCR)*, que abrange indivíduos nascidos com FO na Dinamarca no período de 1936 a 2009 (27)

e o EUROCRAN registra dados de anomalias congênitas craniofaciais na Europa.

O Projeto Crânio-Face Brasil (PCFB), sediado na Faculdade de Ciências Médicas da Unicamp, foi concebido em 2003 como uma rede multicêntrica, multiprofissional e voluntária. O objetivo principal deste Projeto é produzir evidências científicas para subsidiar políticas públicas no campo da genética craniofacial. Neste sentido, têm sido realizados estudos em três campos principais: cuidados de saúde, genética de fendas orais e outras anomalias craniofaciais e educação.

Em 2009 o PCFB criou o Banco de Dados Brasileiro de Anomalias Craniofaciais, que evoluiu para a Base Brasileira de Anomalias Craniofaciais (BBAC). A coleta de dados é voluntária, sendo gerenciada por uma aplicação baseada na Web desenvolvida e registrada por integrantes do PCFB, a *CranFlow (Craniofacial Anomalies: Registration, Flow, and Management)* (23,28). Atualmente, a BBAC/*Cranflow* tem licença gratuita e abrange 10 serviços brasileiros para coleta informações de indivíduos com fendas orais e SD22q11.2, incluindo dados socioeconômicos, médicos e genéticos. São adicionados também os registros dos testes genéticos realizados e utilizam formulário de acompanhamento, permitindo analisar as alterações fenotípicas e diagnósticas, possibilitando uma base sólida de informações que podem ser usadas em estudos com diferentes abordagens (24). Uma ampla revisão sobre as ações do PCFB, assim como dados nosológicos foram publicados em 2020 (12).

1.5 Serviço de genética clínica do HC-Unicamp

O Serviço de Genética Clínica (SGC) foi criado em 1969 e atualmente está organizado em diferentes ambulatórios, cada uma fornecendo avaliação diagnóstica, acompanhamento e conduta terapêutica, quando disponível, bem como

aconselhamento genético. Acompanhando os avanços da Genética Médica, os dois ambulatórios iniciais do SGC foram complementados com outros, a fim de propiciar melhor atendimento, ensino e pesquisa em diferentes subáreas. Entre eles, está o Ambulatório de Dismorfologia Craniofacial (ADCF).

O ADCF iniciou suas atividades em 2002 no Hospital de Clínicas da Unicamp para diagnóstico e aconselhamento genético de anomalias craniofaciais e é parte integrante das atividades do PCFB.

Ao longo do tempo, o ADCF tem recebido pacientes oriundos do próprio HC-Unicamp, por meio de encaminhamentos de interconsultas, e pela rede pública de saúde da região de Campinas. O acesso da população é coordenado pelos municípios que integram a área de cobertura do HC-Unicamp e pelas Diretorias Regionais de Saúde (<https://hc.unicamp.br/pacientes/consultas-e-exames/>). A complexidade dos casos atendidos e as limitações de recursos humanos e espaço físico limitam ao atendimento semanal para 1 caso novo e quatro retornos.

Além do atendimento clínico disponível no Sistema Único de Saúde para diagnóstico em genética (consulta, cariótipo e aconselhamento genético), o registro na BBAC/CranFlow é oferecido como estratégia adicional e voluntária às famílias atendidas no ADCF. Esta possibilidade permite a inclusão em projetos de pesquisa que podem propiciar exames complementares diagnósticos, a depender de diferentes desenhos de estudo, e é aceita por cerca de 80% dos pacientes atendidos no ADCF.

O HC-Unicamp foi habilitado pelo Ministério de Saúde como Centro de Referência em Doenças Raras em dezembro de 2019 pela Portaria nº 199, de 30 de janeiro de 2014, e ainda se encontra em organização. Neste estudo, pretende-se caracterizar aspectos de acesso à investigação genética para indivíduos com ACF atendidos no ADCF do HC-Unicamp previamente à habilitação pela PNAIPDR. A

identificação das necessidades poderá subsidiar a implantação de propostas para a região de Campinas no escopo de Centro de Referência de Doenças Raras.

2 JUSTIFICATIVA

Todos os aspectos anteriormente relatados mostram a complexidade do aconselhamento genético nas ACF e reforçam a necessidade de estabelecimento de abordagem consistente baseada em avaliação clínica e diferentes técnicas laboratoriais para diagnóstico, e aconselhamento genético neste grupo populacional. O reconhecimento da atual abordagem no ADCF contribui no delineamento das necessidades regionais e nacionais para FO e SD22q11.2.

3 OBJETIVOS

3.1 Objetivo geral

- Analisar o acesso à avaliação genético-clínica e ao diagnóstico em uma amostra de indivíduos com FO e suspeita de SD22q11.2 atendidos no HC-Unicamp e registrados na Base Brasileira de Anomalias Craniofaciais

3.2 Objetivos específicos

- Caracterizar aspectos do acesso à avaliação genético-clínica;
- Caracterizar o tempo levado para a obtenção de um diagnóstico etiológico de indivíduos com FO e suspeita de SD22q11.2 neste serviço;
- Identificar os testes genéticos para esclarecimento diagnóstico neste serviço;
- Investigar por meio do WES, casos sem diagnóstico.

4 REVISÃO DA LITERATURA

Em relação às classificações de fendas orais típicas, estas podem se apresentar na forma de fenda labial (FL), fenda labial e palatal (FLP) ou fenda palatal (FP), podendo ser unilaterais, bilaterais ou mediais, completa ou incompleta (29,2).

A formação da face envolve processos complexos durante o desenvolvimento embrionário. As FL e FLP ocorrem durante a quarta a sexta semana pós-concepção no processo de formação do palato primário. As proeminências nasais mediais se fundem com as proeminências maxilares para formar o lábio superior e o palato primário, quando esses processos de fusão falham, pode levar a formação da FL ou FLP (29,30,31) (Figura1).

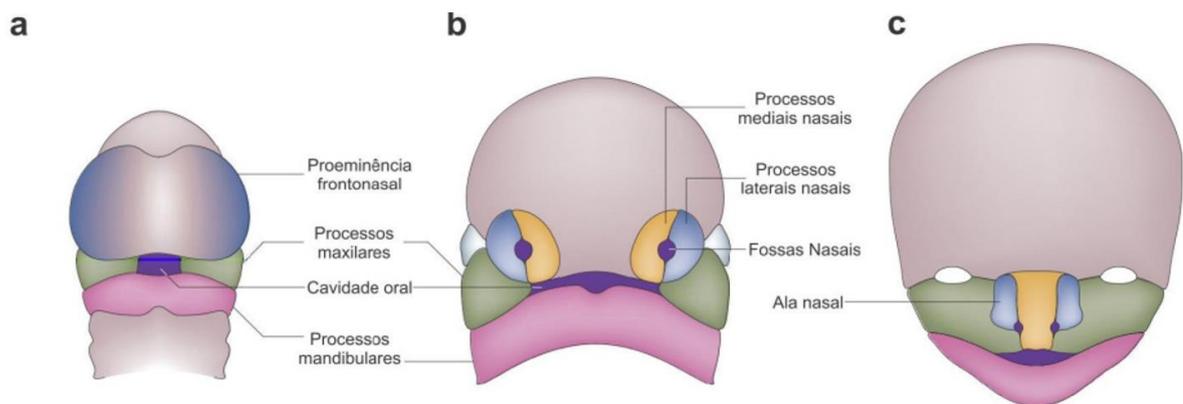


Figura 1: Representação esquemática do desenvolvimento do lábio e palato primário humano. As figuras a; b; c, correspondem ao desenvolvimento embrionário entre a quarta a sexta semana. (Adaptado, 27)

As FP, por sua vez, ocorrem durante a sétima a décima segunda semana pós concepção, durante o desenvolvimento do palato secundário. As proeminências palatais laterais se fundem para formar o palato duro, enquanto as proeminências palatais mediais se fundem para formar o palato mole e a úvula. Falhas no processo

de fusão podem originar FP (26,25) (Figura2).

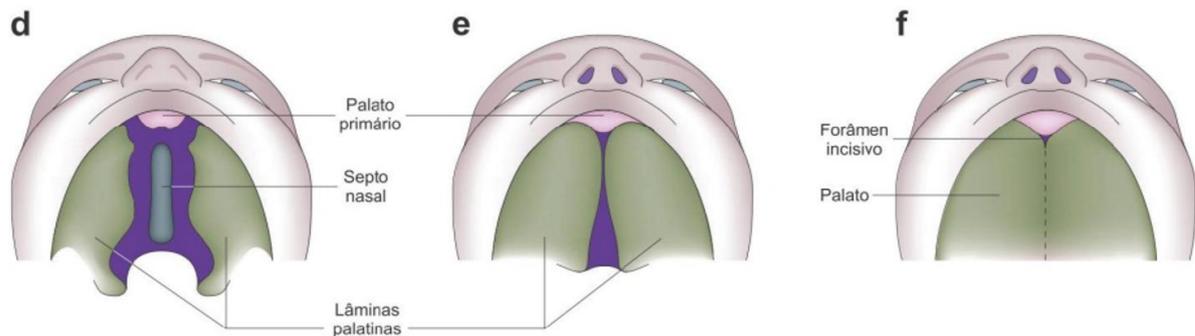


Figura 2: Representação esquemática do desenvolvimento do palato secundário humano. As figuras d; e; f, correspondem ao desenvolvimento embrionário do palato secundário. (Adaptado, 27)

Geralmente, as FL e as FLP são analisadas conjuntamente, pois têm em comum um defeito no palato primário. As FP costumam ser analisadas separadamente devido à origem embriológica distinta (32).

A etiologia das FO é complexa, podendo envolver fatores genéticos e ambientais, devido a vulnerabilidade do processo de desenvolvimento craniofacial (33). As FONS, que correspondem 70% das FO, podem ocorrer de forma esporádica em cerca de 80% dos casos ou familiar, em cerca de 20% dos casos (31,4).

Muitos estudos buscam entender a etiologia genética por trás das FONS e diversos genes envolvidos no desenvolvimento craniofacial já foram associados ao risco aumentado de FONS (33). Pesquisas conduzidas em famílias multiplex, realizadas por meio de WES demonstraram variantes em genes específicos com transmissão autossômica dominante, associados a FONS (34,35,4). Inclusive, após a investigação molecular de indivíduos diagnosticados previamente com FONS, pode ocorrer a identificação de alterações associadas as formas sindrômicas, levando a reclassificação desses indivíduos (7,9).

No entanto, as FONS, por possuírem maior complexidade etiológica, tiveram um menor progresso em relação ao diagnóstico genético quando comparadas às FOS, em que já foram identificadas muitas variantes patogênicas envolvidas em sua formação (36). Tanto nas FONS quanto nas FOS, o WES e o sequenciamento de genoma completo podem ser utilizados na busca de um diagnóstico etiológico assim como na pesquisa de variantes que possam estar envolvidas (7).

Os outros 30%, as chamadas FOS, estão acompanhadas de outros defeitos congênitos, dentre eles, outros defeitos na região craniofacial (como microftalmia/anoftalmia, microssomia craniofacial I, hipoplasia da íris e da córnea), defeitos cardiovasculares (como defeito no septo ventricular e defeito no septo atrial) e defeitos sistema musculoesquelético (como defeito de segmentação vertebral, ausência parcial de membro inferior e costelas fundidas), entre outros tecidos e sistemas (37).

Neste grupo, as etiologias, assim como as apresentações clínicas são diversas e incluem alterações cromossômicas e desequilíbrios genômicos, monogênicas, teratogênicas e multifatorial. Diversos genes já foram relatados como candidatos ao envolvimento no desenvolvimento de FO (33). Contudo, uma parcela considerável dos casos, possuem etiologia desconhecida (4).

A complexidade da gênese das FO relaciona-se com outras ACF. Por exemplo, a família dos genes *Fibroblast growth factor receptor (FGFR)* está associada a FOS e FONS, e, também a craniossinostoses sindrômicas, como a síndrome de Apert (MIM # 101200), causada por variante no gene no gene *FGFR2* (33,38).

Fatores externos podem elevar a probabilidade de desenvolvimento de FO. Vários teratógenos, como álcool, tabaco, medicamentos antiepilépticos (fenitoína,

ácido valproico), talidomida, dioxinas, pesticidas e ácido retinóico podem afetar o desenvolvimento embrionário, levando à FP. A exposição pré-natal ao álcool pode levar à SAF, que inclui diversos defeitos congênitos, incluindo FO. O uso do tabaco durante a gravidez também está relacionado ao risco aumentado de desenvolvimento de FO, podendo ainda levar à hipoxia do embrião pela redução dos níveis de oxigênio (39,33).

Além da FOT, existem as fendas orais atípicas (FOA), que possuem etiologia diversa e se apresentam em regiões topográficas distintas das FOT (40).

No grupo das FOS, a SD22q11.2 é uma importante causa de anomalias palatais, sendo a microdeleção mais frequente na espécie humana, com uma prevalência de 1:4000 nascidos vivos. Apesar da frequência das fendas orais presentes na SD22q11.2, nem todos os casos acompanham estas anomalias, estando associadas também a anomalias cardiovasculares, insuficiência velofaríngea, baixa estatura, anormalidades esqueléticas, atraso no desenvolvimento/dificuldades de aprendizagem, alterações imunológicas e psiquiátricas dentre outras. Já foram relatadas por volta de 180 manifestações clínicas relacionadas a SD22q11.2 (41,42).

Devido à heterogeneidade clínica da SD22q11.2, o diagnóstico pode demorar a ser aventado e a confirmação se dá por meio de testes genéticos. A forma mais comum, presente em aproximadamente 90% dos indivíduos, é a deleção típica de 3Mb, no entanto uma minoria dos indivíduos com SD 22q11.2 apresentam deleção de aproximadamente 1,5 Mb ou outras deleções atípicas. O diagnóstico pode ser realizado pelas técnicas de Hibridação in situ por FISH, MLPA, CMA e *Quantitative Polymerase Chain Reaction* (qPCR) (11,43,41,44).

Em relação aos demais grandes grupos de ACF, dentre os defeitos

otomandibulares, os mais comuns são Microsomia Craniofacial (MIM # 164210) com incidência de 1 em 5.600 indivíduos, Síndrome branquio-otorrenal (MIM # 113650) com estimativa de frequência de 1 em 40.000, Síndrome branquioculofacial (MIM # 113620) com incidência 1 em 1.000.000, Síndrome CHARGE (MIM # 214800) com incidência de 1 em 12.000 nascimentos, síndrome de Treacher-Collins (MIM # 154500) com incidência de 1 em 50.000 indivíduos e Síndrome de Nager (MIM # 154400) com prevalência desconhecida (38,45).

Nas craniossinostoses, existem formas isoladas (MIM # 123100) com incidência de 1 em cada 2.200 indivíduos e sindrômicas. Essas últimas englobam várias síndromes, como Síndrome de Crouzon (incidência de 16,5/1.000.000), Síndrome de Apert (prevalência de 1:80.000 a 1:160.000 nascidos vivos), Síndrome de Pfeifer (prevalência desconhecida) e Síndrome Beare-Stevenson cutis gyrata (prevalência de <1 / 1.000.000), conhecidas como craniossinostoses relacionadas aos genes da família do *FGFRs*, apresentando variantes genéticas nos genes *FGFR1*, *FGFR2* ou *FGFR3*. Mais de 150 doenças genéticas estão associadas a craniossinostose, como a Síndrome de Saethre-Chotzen (MIM # 101400), causada por variantes no gene *TWIST1* (estimativas de prevalência variam de 1:25.000 a 1:50.000), dentre outras (46,38).

Outro grupo de ACF são as holoprosencefalia, que podem estar relacionadas a anormalidades cromossômicas (como trissomia do cromossomo 13), síndromes monogênicas com holoprosencefalia como achado ocasional, pode ser também de forma isolada, ou seja, não sindrômica, sendo os genes mais comuns: *PSIU*, *ZIC2*, *SIX3* e *TGIF*. Ainda, o mesmo fenótipo pode se apresentar com causa desconhecida (47).

4.1 Diagnóstico de ACF e seus desafios na atenção à saúde no Brasil

De fato, o diagnóstico e o aconselhamento genético das ACF estão parcialmente contemplados pela PNAIPDR. Entretanto, muitos fatores colaboram para o diagnóstico etiológico tardio. Nas FO destacam-se a heterogeneidade etiológica, a falta de acesso ao médico geneticista e a testes genéticos (12). Apesar de frequentes, as FO ainda necessitam maior conhecimento científico, a fim de determinar a relação entre os diversos fenótipos e as diferentes etiologias genéticas. Outro fato importante é relacionado à idade: muitas vezes, o estabelecimento de fenótipos reconhecíveis clinicamente pode demorar, mas, por outro lado, muitos indivíduos com quadros típicos chegam tardiamente para avaliação genética. Acesso à avaliação genética ao nascimento possibilitaria o seguimento evolutivo, determinação da melhor estratégia diagnóstica, que poderia ser desde acompanhamento clínico até diferentes técnicas laboratoriais. No caso da SD22q11.2, a suspeição e o encaminhamento precoces possibilitariam o diagnóstico etiológico e seguimento clínico apropriado às necessidades individuais em tempo relativamente mais curto (48).

A distribuição geográfica dos centros credenciados a RRTDFC, muitas vezes também dificulta o acesso do indivíduo ao serviço, estando aproximadamente 55% localizados na região sudeste, e os outros 45% distribuídos de forma heterogênea pelo Brasil. Com isso, muitas vezes, para ter o serviço especializado necessário, necessita de um deslocamento até outro estado (49).

O acesso ao médico geneticista também é dificultado, sendo uma especialidade escassa, estando a maior parte dos profissionais localizada no estado de São Paulo (região sudeste do país). Isso leva a outros profissionais como pediatras,

psicólogos e cirurgiões plásticos assumirem a responsabilidade do aconselhamento genético. Estes, muitas vezes, não possuem o conhecimento necessário devido à complexidade das características genéticas apresentadas nas ACF (22, 50).

A realidade vivenciada pelo indivíduo com FO e seus familiares não fácil, principalmente quando ainda não possuem diagnóstico definitivo. A presença de alguma deficiência implica em enfrentar as próprias limitações, além de exclusão advinda da sociedade (20). Como a reabilitação dos indivíduos com fendas orais ocorre por meio de tratamento cirúrgico, não se entende que a avaliação genética neste primeiro momento seja necessária. No entanto, a partir dela é possível analisar defeitos associados, assim como a possível etiologia, levando a um melhor caminho na tomada de decisões que serão fundamentais para a inclusão social (51). Situação semelhante é vivida pelos indivíduos com outras ACF no que tange as dificuldades sociais, emocionais e investigação, visto a complexidade vasta etiologia (1, 46, 48).

Dada a complexidade clínica e etiológica relacionada às ACF, demandando uma abordagem genética personalizada para esclarecimento diagnóstico destes indivíduos, bem como as limitações da portaria nº 199, de 30 de janeiro de 2014 PNAIPDR, este estudo abordará aspectos de acesso e investigação de ACF no SGC/ADCF atendidos previamente à real instituição da PNAIPDR.

5 SUJEITOS E MÉTODOS

5.1 Aspectos éticos

Este estudo faz parte do Projeto Crânio-Face Brasil /Base Brasileira de Anomalias Craniofaciais (BBAC) e tem sua aprovação no Comitê de Ética da Universidade Estadual de Campinas - Unicamp 35316314.9.1001.5404 e 85020018.8.0000.5404.

5.2 Desenho do estudo

Trata-se de um estudo transversal e descritivo, realizado por meio da avaliação de dados primários de indivíduos com FO e suspeita de SD22q11.2 registrados na BBAC pelo Serviço de Genética Clínica do HC-Unicamp/ADCF prévios à habilitação deste como Centro de Referência de Doenças Raras. O registro dos indivíduos na BBAC é voluntário e representa cerca de 80% dos atendimentos no ADCF. O período escolhido foi de agosto de 2006 e dezembro de 2019.

Para FO, as variáveis analisadas foram: procedência, sexo biológico; idade ao atendimento, tipo de fenda (FONS ou FOS), tipo de defeitos associados, diagnóstico clínico, exames necessários para confirmação e seus resultados, idade ao diagnóstico. Testes diagnósticos foram realizados de acordo com a suspeita clínica e disponibilidade, de acordo com diferentes projetos de pesquisa.

Para suspeita de SD22q11.2, as variantes foram: procedência, sexo biológico; idade ao atendimento, presença ou não de FO, presença e tipo de defeitos associados, exame utilizados para investigação e seus resultados, idade ao diagnóstico.

Os exames genéticos inseridos previamente na BBAC são resultados de outros projetos do PCFB e foram compilados para este estudo. Estes incluem, a depender

da hipótese diagnóstica dos indivíduos atendidos: cariótipo, FISH (*TUPLE1 probe (Cyto cell Aquarius® or Visys Abbott®)*), MLPA (*kit P250 (MRC-Holland®, Amsterdam, the Netherlands)*), CMA (*Cytoscan 750K ou Cytoscan HD (Affymetrix ®)*) e WES (*Agilent SureSelect XT Human All Exon Kit V6 (Agilent Technologies®, Santa Clara, CA, USA)*).

Indivíduos sem diagnóstico definido e com material biológico disponível no biorrepositório vinculado à BBAC foram submetidos a investigação por meio de WES neste estudo.

5.3 Sequenciamento Completo de Exoma (Whole Exome Sequencing -WES)

Foram utilizadas amostras de DNA genômico dos indivíduos a partir do biorrepositório ligado à BBAC, localizado no Laboratório de Citogenética Humana e Citogenômica da Faculdade de Ciências Médicas da Unicamp. Todas as amostras foram quantificadas e submetidas à eletroforese em gel de agarose (1%) para avaliar a integridade do DNA.

O WES foi realizado por empresa terceirizada (*Macrogen, Inc.® (Seoul, South Korea) ©*) utilizando a plataforma *Illumina NovaSeq 6000 (Illumina, Inc®, San Diego, CA, USA)*, gerando paired-end reads, 2x150bp reads, com uma cobertura de 140X. O processo consistiu em utilizar 1µg de DNA genômico para formar uma biblioteca genômica com milhares de sequências com adaptadores específicos ligados em cada extremidade. A captura dos éxons foi realizada com o kit de captura *Agilent SureSelectXT Human All Exon Kit V6 (Agilent Technologies®, Santa Clara, CA, USA)*, que possui sequências de RNA complementares aos éxons. Os dados brutos foram extraídos no formato FASTQ.

A análise e classificação das variantes foi realizada utilizando a plataforma online *Varstation*®, em que os arquivos *FASTQ* foram utilizados como *input*. O Controle de Qualidade e pré-processamento dos dados foi realizado por meio das ferramentas *FastCQ*, *BEDTools*, *BamTools* e *VCFtools*. Sequencialmente, foi realizado o alinhamento dos dados brutos com o genoma humano de referência (GRCh37) utilizando as ferramentas *BWA-MEM*, *MarkDuplicates* e *IndelRealigner*. A chamada de variantes foi realizada utilizando *GATK - UnifiedGenotyper* e *HaplotypeCaller*.

A filtragem das variantes foi realizada seguindo os seguintes critérios:

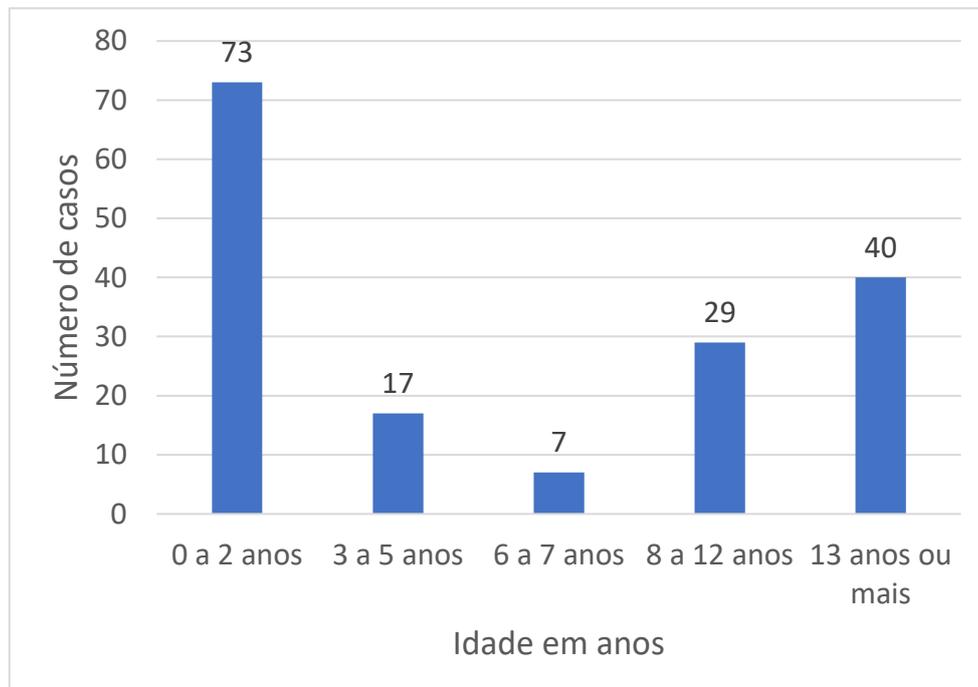
- 1) Cobertura mínima de 10x;
- 2) Frequência de Alelo Variante (VAF) $\geq 0,2$;
- 3) Foram selecionadas variantes *missense*, *nonsense*, *frameshift*, mudanças em sítios de *splicing*, *non-frameshift indels*, *start loss* e *stop loss*, e variantes sinônimas;
- 4) frequência alélica $< 0,5\%$ no Gnomad, ExAC e ABraOM.

Após a aplicação dos filtros, foi realizada a classificação das variantes seguindo os critérios *American College of Medical Genetics and Genomics* (ACMG), então as variantes foram analisadas de acordo com a comparação de fenótipo (OMIM). As variantes pré-selecionadas foram então analisadas nas bases de dados do *ClinVar* (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/clinvar/>) e *Varsome* (<https://varsome.com/>) e em seguida foi realizada a verificação da relevância no PubMed.

6 RESULTADOS

A casuística foi composta de 166 indivíduos, 78 masculinos e 88 femininos, com idades variando entre 0 e 52 (média = 8,3/ mediana = 4). A faixa etária dos indivíduos que compuseram a casuística no momento da primeira consulta realizada no SGC/ADCF pode ser observada no Gráfico 1. Foram procedentes de Campinas e região 100/166 (60%), 56/166 (34%) de São Paulo e 10/166 (6%) de outros estados.

Gráfico 1: Faixa etária da casuística completa na primeira consulta no SGC/ADCF



A casuística foi separada em FO e suspeita de SD22q11.2 de acordo com a suspeita diagnóstica inicial descrita da BBAC, desta forma, com relação à abordagem clínica inicial, 77 foram avaliados por FO e 89 por suspeita de SD22q11.2, das quais 26 também apresentavam FO, correspondendo a 103 indivíduos com FO na casuística (Figura 3).

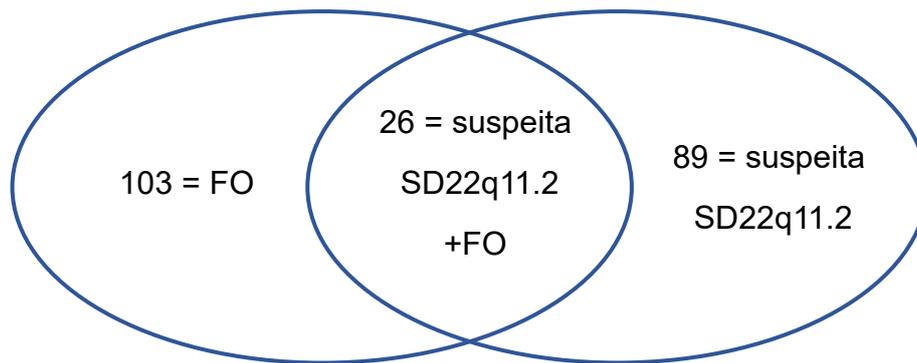


Figura 3: Distribuição dos indivíduos registrados na Base Brasileira de Anomalias Craniofaciais de acordo com a avaliação clínica inicial.

A nosologia completa deste estudo encontra-se discriminada abaixo. Ao todo, 36 tiveram diagnóstico clínico, sendo 27 FONS e 9 FOS, 15 SD22q11.2, 14 outros desequilíbrios genômicos, 13 condições monogênicas; em 1 caso, houve concomitância de alterações que justificam o quadro clínico (desequilíbrio genômico e variante provavelmente patogênica no gene *MECP2*) e 6 anomalias cromossômicas. Ao todo, anomalias cromossômicas foram detectadas em 6/ 77 e desequilíbrios genômicos ocorreram em 30/101 (15 deles, SD22q11.2). A Figura 4 resume a quantidade e as técnicas de exames genéticos realizados em cada grupo.

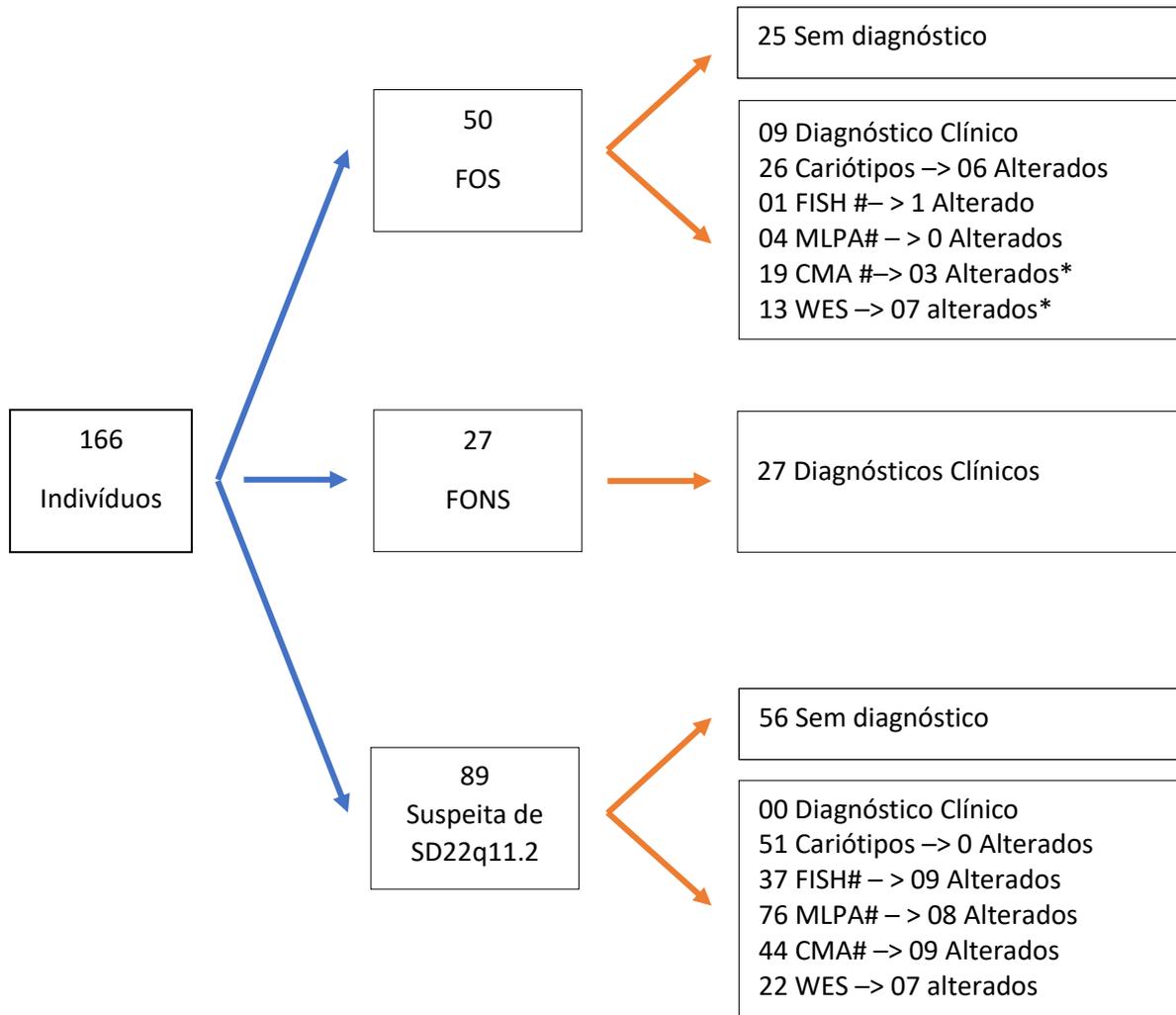


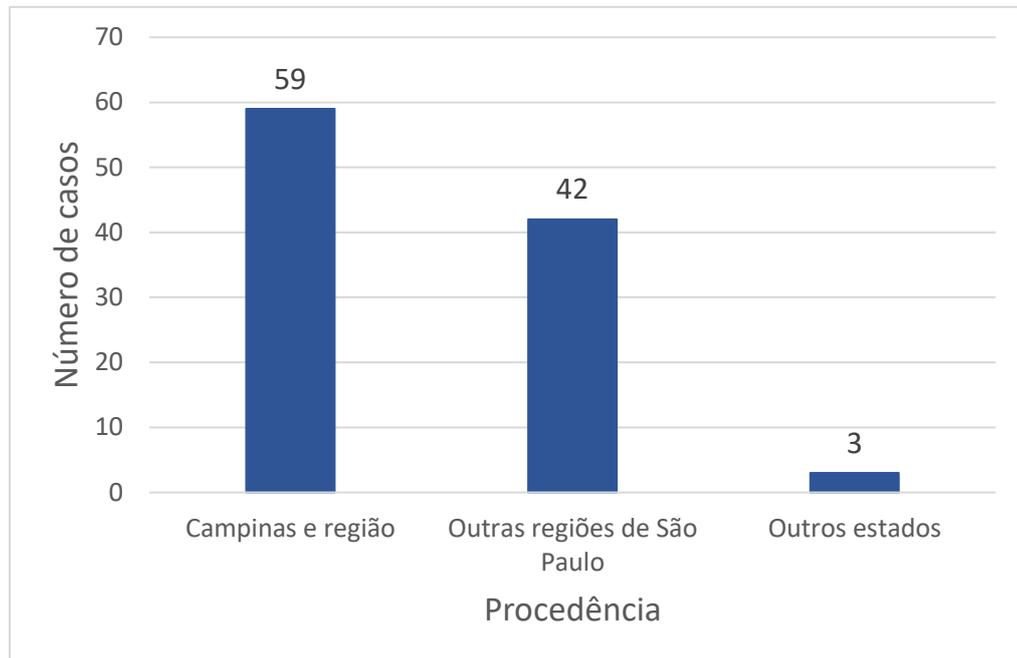
Figura 4: Desenho esquemático representando a nosologia referente a amostra deste estudo a partir da suspeita clínica.

Observação: *Um indivíduo apresentou diferentes diagnósticos realizado por CMA e WES; # um indivíduo fez mais de um teste em contexto de pesquisa.

6.1 Casos avaliados com FO

Os casos de FO representaram 103/166 (62%) da amostra, sendo procedentes de Campinas e região 59/103 (57%), 42/103 (40%) de outras regiões do estado de São Paulo e 3/103 (3%) de outros estados (gráfico 2).

Gráfico 2: Procedência dos indivíduos investigados por FO no presente estudo (n=103)



Neste grupo, foram atendidos 52 indivíduos masculinos e 51 femininos. A idade ao primeiro atendimento variou de 0 a 52 anos (média = 7, mediana = 2).

Quanto ao tipo de FO, 77/103 representaram FOS (74,7%), sendo que destes, 26 possuíam inicialmente suspeita de SD22q11.2 e 27/103, FONS (26,2%). Dentro do grupo de FO, 10 casos foram inicialmente classificados como suspeita de FONS, no entanto, com a evolução do quadro clínico e reavaliação, foram reclassificados como FOS.

A tabela 1 mostra os defeitos *major* associados mais frequentes nas FOS.

Tabela 1: Defeitos *major* mais associados aos indivíduos atendidos com FOS, apresentados em sentido craniocaudal (= 68)

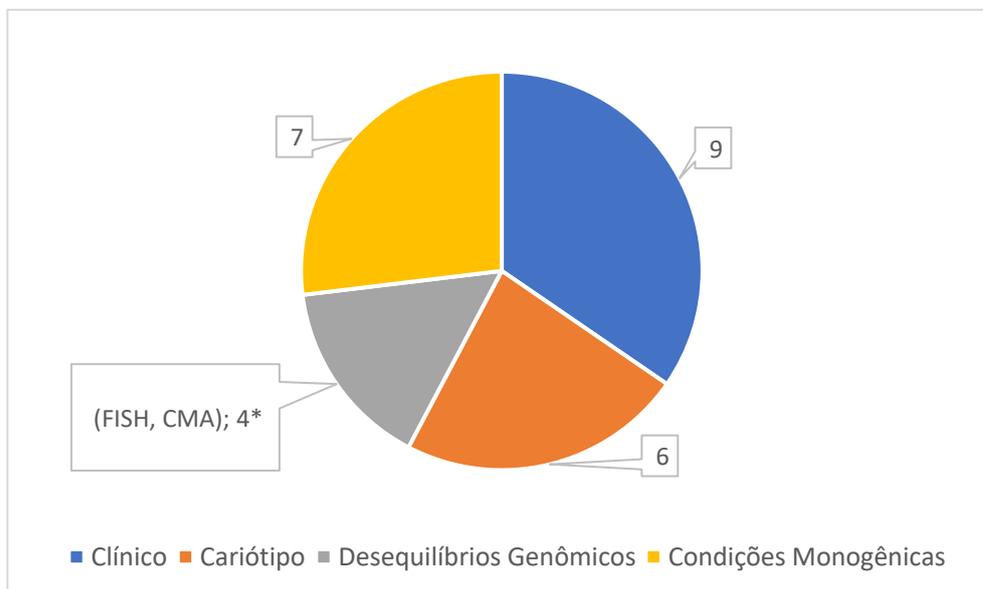
Segmento Corporal	Defeito Major	Número de indivíduos	Frequência (%)
Craniofacial	Microcefalia (4) Catarata congênita (3) Blefarofimose (2) Nariz bífido (2) Microftalmia olho esquerdo Persistência hiperplásica de vítreo primário Hipertelorismo	11	16,17
Sistema cardiovascular	Defeito no septo ventricular (6) Defeito no septo atrial (6) Forame oval pérvio (4) Persistência de canal arterial (4) Tetralogia de Fallot (3) Duplo arco aórtico <i>Truncus arteriosus</i> Estenose pulmonar Coarctação de aorta Insuficiência de valva aórtica	19	27,94
Trato geniturinário	Hipospadia fora da glândula Cistos renais múltiplos Agenesia renal	3	4,41
Trato gastrointestinal	Estenose/atresia anal	1	1,47
Sistema reprodutor	Criptorquidia persistente (4) Micropenis mensurado	5	7,35
Sistema musculoesquelético	Luxação congênita de quadril (3) Ausência completa ou parcial de membros Espinha bífida oculta Ausência de membros	6	8,82
Sistema nervoso central	Anomalia de Dandy Walker	1	1,47
Mãos e pés	Polidactilia pré-axial (2) Pé torto (3) Pé equinovaro Sindactilia cutânea Camptodactilia Unhas ausentes/duplicada/largas/hipoplásicas	9	13,23

Até o momento, foi possível conclusão diagnóstica de 64/103 casos (62,1%). Destes, 27/103 (26,21%) possuem FONS, com diagnóstico a partir apenas de avaliação clínica.

Quanto aos 50 casos avaliados com suspeita de FOS, em que não havia suspeita de SD22q11.2, 25/50 (50%) possuem diagnóstico. O diagnóstico foi clínico em 9/25 (36%) e 16/25 (64%) por meio de testes genéticos: 6 casos foram baseados

em exame de cariótipo e os 9 casos restantes dependeram de projetos de pesquisa com utilização de diferentes técnicas laboratoriais para conclusão. Em um indivíduo (105), houve concomitância de alterações que justificam o quadro clínico (duplicação 17p12, variantes de significado incerto em heterozigose composta no gene *PRX* e uma variante provavelmente patogênica em heterozigose no gene *MECP2*). O Gráfico 3 mostra a distribuição dos grupos diagnósticos nesses casos.

Gráfico 3: Distribuição dos grupos diagnósticos em indivíduos com FOS sem suspeita de SD22q11.2 (n=50).



Legenda: *Em um indivíduo houve concomitância de alterações, sendo um desequilíbrio genômico e uma condição monogênica.

Quanto aos quatro indivíduos diagnosticados com desequilíbrios genômicos, um foi realizado por meio da técnica de FISH e três por meio da técnica de CMA. Os resultados destes desequilíbrios genômicos podem ser observados na Tabela 2.

Tabela 2: Desequilíbrios genômicos detectados por FISH e CMA em indivíduos com suspeita FOS sem suspeita de SD22q11.2 (n=50).

Indivíduo	Desequilíbrio genômico	Idade ao Diagnóstico (em anos)
092	arr[GRCh37] 2q21.2q24.1(132613883-158465121)x3	1
105	arr[GRCh37] 17p12(14087933_15436894)x3 - Síndrome de Charcot-Marie-Tooth tipo 1A	3
157	arr[GRCh37] 17p13.3(525_2,101,504)x1 - Síndrome - Miller-Dieker	9
159	46,XY,ish del(4)(p16.3) - Síndrome - Wolf-Hirschhorn	2

Ainda entre os 50 casos de FOS sem suspeita de SD22q11.2 foi realizado WES em 13 indivíduos, tendo diagnóstico concluído em 7. Os resultados destas condições monogênicas podem ser observados na Tabela 3.

Tabela 3: Descrição dos resultados de WES com variantes relacionadas ao fenótipo nos casos de FOS sem suspeita de SD22q11.2.

Indivíduo	Variante	Heterozigose	Herança	Diagnóstico	Idade ao Diagnóstico (em anos)
085	<i>TP63</i> :c.1813C>T:p.(Arg605Trp)	sim	n.i.	Síndrome de ADULT	28
087	<i>MYO18B</i> :c.7597C>T:p.(Arg2533*)	sim	paterna	Fenótipo não completamente explicado	29
	<i>MYO18B</i> :c.510_511del;p.(His171fs)		materna		
095	<i>CDH1</i> :c.760 G > A p.(Asp254Asn)	sim	materna	Síndrome Blefaroqueilo-dôntica	15
105*	<i>MECP2</i> :c.763C>T:p.(Arg255Ter) PRX:c.892C>T p.(Pro298Ser)/ PRX:c.133C>G p.Arg45Gly	sim	De novo	S. de Rett associado à Doença de Charcot Marie-Tooth 1A	3
123	<i>NHS</i> :c.2731G>T:p.(Glu911Ter)	sim	De novo	Fenótipo depende de reavaliação	13
	<i>SHH</i> :c.437G>A:p.(Trp146Ter)	sim	paterna		
158	<i>SOX9</i> :c.508C>G:p.(Pro170Ala)	sim	n.i.	Variante não justifica o fenótipo	17
162	<i>SOX11</i> :c.251G>A:p.(Gly84Asp)	sim	De novo	Variante provavelmente patogênica no gene <i>SOX11</i>	22

Legenda: n.i.=não investigado; * concomitância com desequilíbrio genômico: arr[GRCh37] 17p12(14087933_15436894)x3

Neste grupo de FOS, a idade ao diagnóstico variou de 0 a 46 anos (média = 8,2 e mediana = 3).

Os 25/50 casos restantes (50%) não foram concluídos, apesar da realização de cariótipo em 20 indivíduos, FISH em 1, MLPA em 4, CMA em 15 e WES em 6 indivíduos. Alguns aguardam a evolução do quadro clínico e outros a possibilidade de realização de novos exames.

A Tabela 4 resume a nosologia dos indivíduos investigados por suspeita de FOS.

Tabela 4: Nosologia dos indivíduos investigados por suspeita de FOS (n=103)

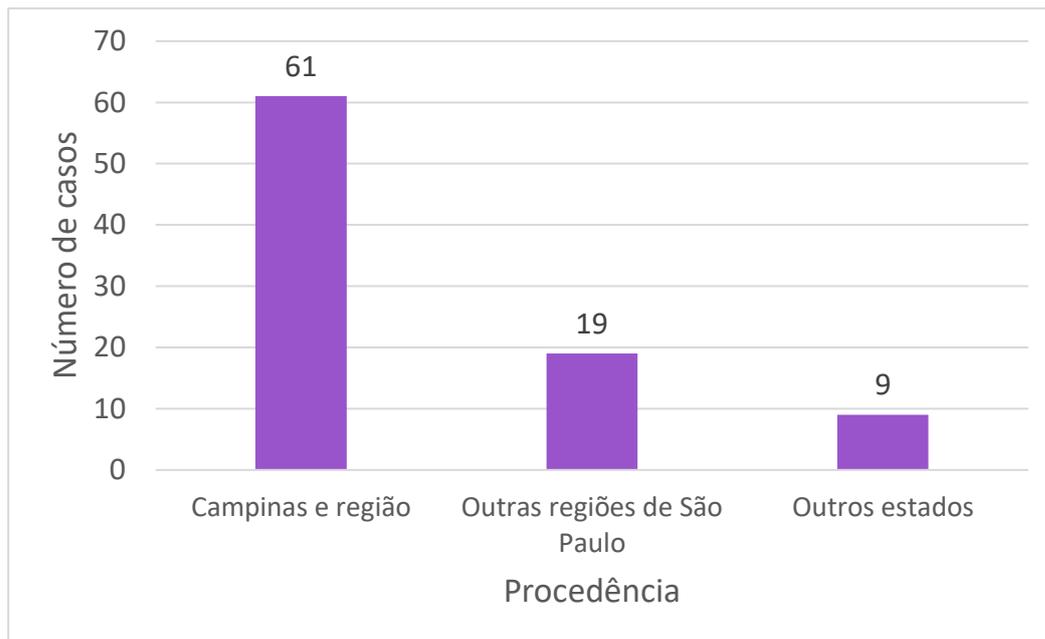
<u>Diagnóstico</u>	<u>OMIM</u>	<u>n de casos</u>	
Clínico	Van der Woude Syndrome - (2)	#119300	9
	Treacher Collins Syndrome	#154500	
	Gorlin Syndrome	#109400	
	Moebius – Poland		
	Waardenburg Syndrome	#148820	
	Apert Syndrome	#101200	
	Aarskog Syndrome	#305400	
	Stickler Syndrome	#108300	
Anomalias cromossômicas / Desequilíbrios Genômicos	47,XX,+13[]/46,XX[]		10
	46,XX,del(18)(q21)		
	45,XX,der(15;18)(q10;q10)		
	46,XY,rec(18)dup(18q)inv(18)(p11.2q21.3)mat		
	46,XY,add(10)(q26)		
	47,XXY(Klinefelter Syndrome)		
	arr[GRCh37] 2q21.2q24.1(132613883_158465121)x3		
	arr[GRCh37] 17p13.3(525_2101504)x1 (Miller-Dieker Syndrome)	#247200	
	46,XY,ish del(4)(p16.3) (Wolf-Hirschhorn Syndrome)	#194190	
	arr[GRCh37] 17p12(14087933_15436894)x3 (Charcot -Marie -Tooth tipo 1A)**	#118220	
Condições Monogênicas	<i>TP63</i> :c.1813C>T:p.(Arg605Trp) (ADULT Syndrome)	#103285	7
	<i>SOX9</i> :c.508C>G:p.(Pro170Ala) (Campomelic Dysplasia)	#114290	
	<i>NHS</i> :c.2731G>T:p.(Glu911Ter) / <i>SHH</i> :c.437G>A:p.(Trp146Ter)		
	<i>CDH1</i> : c.760 G > A p.(Asp254Asn) (Blepharocheilodontic Syndrome)	#119580	
	<i>SOX11</i> :c.251G>A:p.(Gly84Asp)		
	<i>MYO18B</i> :c.7597C>T:p.(Arg2533*) / <i>MYO18B</i> :c.510_511del: p.(His171Serfs*3)		
	<i>MECP2</i> :c.763C>T:p.(Arg255Ter)** (S. de Rett) / <i>PRX</i> :c.892C>T p.(Pro298Ser)/ <i>PRX</i> :c.133C>G p.Arg45Gly** (S. de Charcot-Marie-Tooth 4F)	#312750 / #61489	
Sem diagnóstico		25	
TOTAL		50	

** o desequilíbrio genômico deste indivíduo não explicaria completamente o quadro clínico, pelo que a investigação prosseguiu com WES. Neste foi encontrada uma variante provavelmente patogênica de novo no gene *MECP2* e VUS em heterozigose composta no gene *PRX*.

6.2 Casos avaliados por suspeita de SD22q11.2

Das 89 suspeitas de SD22q11.2, 40 indivíduos eram masculinos e 49 femininos, sendo procedentes de Campinas e região 61/89 (68%), 20/89 (22%) de outras regiões do estado de São Paulo e 9/89 (10%) de outros estados (Gráfico 4).

Gráfico 4: Procedência dos indivíduos investigados por suspeita de SD22q11.2 (n=89)



Neste grupo, a idade ao primeiro atendimento variou de 0 a 48 anos (média = 11, mediana = 8) e 26/89 (29%) apresentavam FO. A Tabela 5 mostra os principais achados clínicos deste grupo.

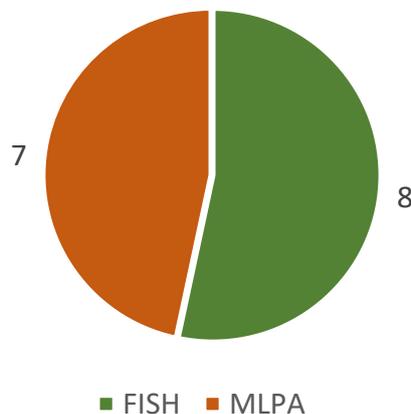
Tabela 5: Principais achados clínicos presentes nos casos investigados por suspeita de SD22q11.2 apresentados em sentido craniocaudal (n=89)

Sinal clínico	Número de indivíduos	Frequência (%)
Craniofacial	11	12,35
Microcefalia (5)		
Microftalmia /Anaftalmia (2)		
Coloboma		
Malformação nas orelhas		
Atresia de coanas		
Blefarofimose		
Nariz bífido		
Cardíaco *	30	33,7
Defeito no septo ventricular (15)		
Defeito no septo atrial (12)		
Tetralogia de Fallot (7)		
Forame oval pérvio (5)		
Persistência de canal arterial (4)		
Arco aórtico à direita (2)		
Coarctação de aorta (2)		
Estenose da valva aórtica		
Estenose pulmonar		
<i>Truncus arteriosus</i>		
Anomalias Labiopalatais	26	29,2
Fenda não especificada (9)		
Fenda de palato (5)		
Úvula bífida (5)		
Fenda submucosa (3)		
Fenda de lábio e palato (2)		
Insuficiência velofaríngea (2)		
Déficit Intelectual	21	23,59
Outros achados	8	8,89

Legenda: *10 pacientes apresentaram 2 defeitos cardíacos, 2 pacientes apresentaram 3 defeitos cardíacos e 1 paciente apresentou 6 defeitos cardíacos.

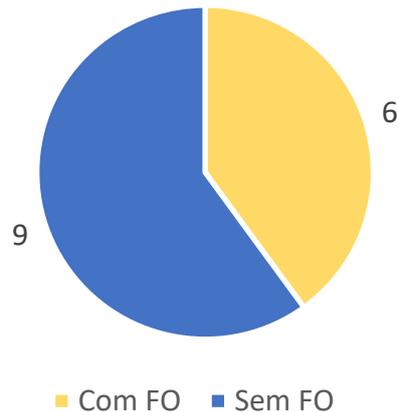
Dos casos com suspeita de SD22q11.2, 15/89 (16,8%) tiveram o diagnóstico confirmado. O Gráfico 5 mostra a distribuição dos diagnósticos positivos para SD22q11.2 de acordo com a técnica laboratorial.

Gráfico 5: Diagnósticos de SD22Q11.2 confirmados por FISH e MLPA (n=15).



A presença de FO nos casos confirmados de SD22q11.2 está representada no Gráfico 6. A idade ao diagnóstico variou de 0 a 23 (média = 8,4 e mediana = 8).

Gráfico 6: Ocorrência de FO em indivíduos com SD22q11.2 confirmada (n=15).



Ainda em relação aos indivíduos que beneficiaram nas técnicas de FISH e MLPA, foi possível a conclusão diagnóstica em outros 2, sendo um indivíduo diagnosticado com Síndrome de deleção do cromossomo 22q11.2 distal (MIM #611867), detectado pelo MLPA e um indivíduo (com FO) diagnosticado com microdeleção 7q11.23 (Síndrome - Williams) (MIM #194050) detectado por FISH.

Nos 72 casos deste grupo em que não possível a conclusão diagnóstica por meio de FISH e MLPA, em 44 indivíduos a investigação prosseguiu por CMA. Nestes, foram detectados 9 desequilíbrios genômicos patogênicos. Dentre esses indivíduos, 1 apresentava FO. A tabela 6 mostra os desequilíbrios genômicos detectados por CMA em indivíduos com suspeita não confirmada de SD22q11.2.

Tabela 6: Desequilíbrios genômicos detectados por CMA em indivíduos com suspeita não confirmada de SD22q11.2.

Indivíduo	Desequilíbrio genômico	Idade ao Diagnóstico (em anos)
005	arr[GRCh37] 22q11.21q11.22(21465661_22998610)x1 - fora da região de del 22q11.2 - considera outro des. Genômico - Síndrome de deleção do cromossomo 22q11.2 distal (MIM #611867)	6
031	arr[GRCh38] 17p11.2(16751517_20501516)x3	50
046	arr[GRCh37] 22q11.21(20716876_21800471)x1 (fora da região del22, considera outro des. Genômico - Síndrome de deleção do cromossomo 22q11.2 distal (MIM #611867)	2
076	arr[GRCh37] 2p25.3p24.3(12770_14852093)x3, 4q35.1q35.2(186464011_190957473)x1	46
088	arr[GRCh37] 3q26.2(168485398_170468489)x3	6
104	arr[GRCh37] 17p11.2(916,822,683-20,193,169)x1	5
106	arr[GRCh38] 17q12(36375365_37925364)x3	46
109	arr[GRCh38] 1q42.13q43(227134588_237234587)x1	40
149	arr[GRCh37] 15q11.2(22770421_23277436)x1, 19p13.3(3793904_4816330)x1	8

Em 22/63 indivíduos com suspeita de SD22q11.2 não confirmadas e sem desequilíbrios genômicos patogênicos a investigação prosseguiu com exame de WES. Desses, 7/22 (31,8%) tiveram conclusão diagnóstica. Destes, 4 apresentavam FO. A Tabela 7 mostra os resultados de WES neste grupo.

Tabela 7: Resultados de WES em casos de suspeita de SD22q11.2 não confirmadas

Indivíduo	Variante	Heterozigose	De novo	Diagnóstico	Idade ao Diagnóstico (em anos)
009	<i>JAG1</i> :c.550C>T p.(Arg184Cys)	sim	Sim	Síndrome de Alagille. MIM # 118450	11
027	<i>SETX</i> :c.6996_7002del p.(Asp2332Glnfs*11)	sim	Não	Variante provavelmente patogênica no gene <i>SETX</i>	16
041	<i>ANKRD11</i> : c.4395_4396del p.(His1465 Glnfs*88)	sim	Sim	Variante patogênica no gene <i>ANKRD11</i> . Síndrome de KBG MIM # 148050	24
059	<i>CHD7</i> : c.6199C>T p.(Gln2067Ter)	sim	Sem análise de segregação	Síndrome de CHARGE MIM *608892	14
091	<i>KMT2A</i> :c.3241C>T: p.(Arg1081*) patogênica	sim	De novo	Síndrome Wiedemann-Steiner	25
119	<i>SATB2</i> :c.715C>T p.(Arg239*)	sim	Sim	SATB2-associated syndrome/ GLASS Syndrome MIM # 612313	26
126	<i>TGFBR1</i> :c.1025A>G p.(Asn342Ser)	sim	Sim	Síndrome de Loyes-Dietz MIM # 609192	16

Dentre os 22 WES, 12 haviam sido realizados em outros estudos (BBAC) e 10 foram realizados neste estudo, tendo, neste último, 1 resultado conclusivo; nos outros 9 indivíduos não foi possível conclusão diagnóstica. O resultado conclusivo pode ser observado na Tabela 8.

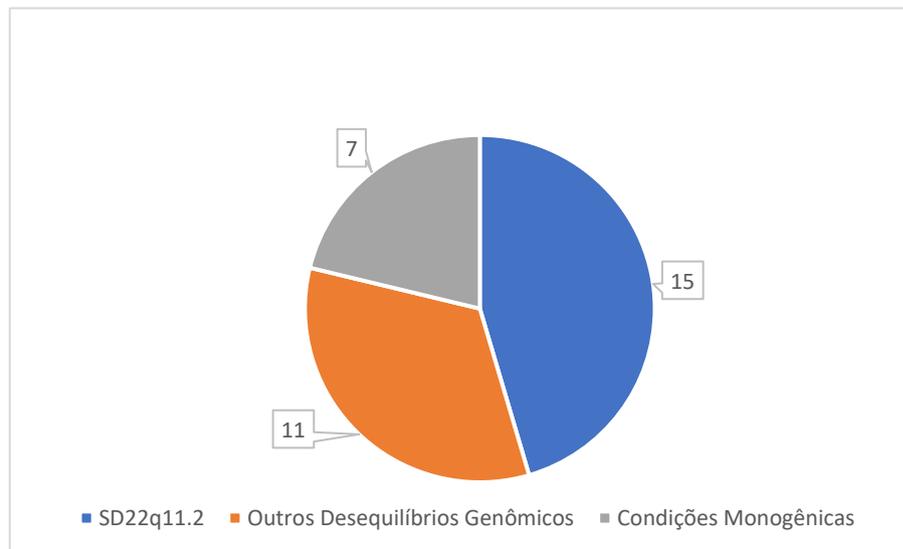
Tabela 8: Resultado conclusivo de WES realizado neste estudo

ID	WES	Classificação ACMG	Crítérios ACMG	HGVS	OMIM
59	<i>CHD7</i> :c.6199C>T:p.(Gln2067Ter) Het.	Provavelmente Patogênica	<i>PVS1</i> <i>PM2</i>	NM_017780.4:exon31:c.6199C>T:p.(Gln2067Ter)	Síndrome CHARGE (MIM # 214800)

No total, neste grupo de 89 indivíduos com suspeita de SD22q11.2, foi possível a conclusão diagnóstica em 33 indivíduos: A distribuição por grupo de diagnósticos

encontra-se no Gráfico 7. A FO estava presente em 12 destes indivíduos. A idade ao diagnóstico variou de 1 a 50 anos (média = 14,03 e mediana = 11).

Gráfico 7: Distribuição dos indivíduos investigados por suspeita de SD22q11.2 por grupos diagnósticos(n=33)



Dentre os 56 indivíduos em que a conclusão diagnóstica não foi possível houve realização de testes genéticos, sendo cariótipo em 27 indivíduos, FISH em 15, MLPA em 50, CMA em 28 e WES em 15. Desses, 42 não apresentavam FO e 14 sim. Estes aguardam evolução clínica, exames complementares e(ou) resultados de exames genéticos, os quais não estão disponíveis pela rede pública de saúde e dependem de projetos de pesquisa complementares.

A Tabela 9 resume a nosologia dos indivíduos investigados por suspeita de SD22q11.2.

Tabela 9: Nosologia dos indivíduos investigados por suspeita de SD22q11.2 (n=89)

Diagnóstico	OMIM	Número de casos
SD22q11.2	22q11.2 proximal deletion - DS22q11.2	# 188400
	rsa 22q11(HIC2,PPIL2, TOP3B)x1 - 22q11.2 distal deletion syndrome (3 individuals)	# 611867
	ish del(7)(q11.23q11.23)(ELN-) (Williams Syndrome)	# 194050
	arr[GRCh38] 17p11.2(16751517_20501516)x3	
	arr[GRCh37] 2p25.3p24.3(12770_14852093)x3, 4q35.1q35.2(186464011_190957473)x1	
Desequilíbrios Genômicos	arr[GRCh37] 3q26.2(168485398_170468489)x3	11
	arr[GRCh37] 17p11.2(916822683-20193169)x1 (Smith Magenis Syndrome)	# 182290
	arr[GRCh37] 15q11.2(22770421_23277436)x1, 19p13.3(3793904_4816330)x1	
	arr[GRCh38] 17q12(36375365_37925364)x3	
	arr[GRCh38] 1q42.13q43(227134588_237234587)x1	
	Likely pathogenic variant: <i>CHD7</i> : c.6199C>T: p.(Gln2067Ter) (Charge Syndrome)	# 608892
	Pathogenic variant: <i>SATB2</i> :c.715C>T - p.(Arg239*) (SATB2 Syndrome)	# 612313
	Likely pathogenic variant: <i>TGFBR1</i> :c.1025A>G; p.(Asn342Ser) (Loyes-Dietz Syndrome)	# 609192
Condições Monogênicas	Pathogenic variant: <i>KMT2A</i> :c.3241C>T: p.(Arg1081*) (Wiedemann-Steiner Syndrome)	# 605130
	Pathogenic variant: <i>JAG1</i> :c.550C>T: p.(Arg184Cys) (Alagille Syndrome)	# 118450
	Pathogenic variant: <i>ANKRD11</i> :c.4395_4396del: p.(His1465fs) (KBG Syndrome)	# 148050
	Likely pathogenic variant: <i>SETX</i> :c.6996_7002del: p.(Asp2332Glufs*11)	
Sem diagnóstico		56
TOTAL		89

6.3 Nosologia completa dos indivíduos avaliados no ADCF/BBBAC

Dos 27 casos diagnosticados com FONS, a idade média na primeira consulta foi 5,7 (mínima = 0, máxima = 39 e moda = 0) e de diagnóstico variou de 0 a 39 (média = 6,5 e moda = 1). Dessas, 18 fizeram exame de cariótipo. A evidência utilizada para conclusão diagnóstica foi a avaliação clínica.

Para os casos de FOS e SD22q11.2, a Tabela 10 mostra a trajetória laboratorial para conclusão diagnóstica. Neste grupo, a evidência diagnóstica mais frequente foi

WES (14/35 – 40%), seguido de FISH (10/38 -26,3%), CMA (12/63 – 20,6%), MLPA (8/80 – 10%) e cariótipo (6/77- 7,8%).

Tabela 10: Trajetória diagnóstica dos indivíduos atendidos do ADCF e registrados na BBAC.

Paciente (FOS sem susp. 22q11.2)	Idade na primeira consulta #	Idade ao diagnóstico#	Diagnóstico	Evidência diagnóstica	Outros testes realizados					Número de testes
					Cariótipo	FISH	MLPA	CMA	WES	
004	2	2	Anomalia Cromossômica	Cariótipo	47,XX,+13/46,XX	NR	NL	NR	NR	2
010	0	0	Anomalia Cromossômica	Cariótipo	46,XX,16qh+,del(18)(q21) [50]	NR	NR	NR	NR	1
024	1	1	Anomalia Cromossômica	Cariótipo	45,XX,del(18)(p10;p1 3), t(15;18)(q10;q10)	NR	NR	NL	NR	2
029	8	9	Anomalia Cromossômica	Cariótipo	46, XY,rec(18)dup(18q)in v(18)(p11.2q21.3).mat [20]	NR	NL	NR	NR	2
061	0	0	Síndrome - Treacher Collins	Clínica	NR	NR	NR	NR	NR	0
067	1	3	Síndrome - Gorlin	Clínica	46,XX	NR	NR	NR	NR	1
071	0	1	Moebius - Poland	Clínica	46,XY	NR	NR	NR	NR	1
073	1	1	Anomalia Cromossômica	Cariótipo	46, XY, add(10)(q26)[20]	NR	NR	NR	NR	1
085	20	28	Síndrome de ADULT	WES	46,XX	NR	NR	NL	Conclusivo	3

087	17	29	Duas variantes patogênicas no gene <i>MYO18B</i>	WES	46,XX	NL	NL	NL	Conclusivo	5
092	2	1	Desequilíbrio Genômico	CMA	46,XX, dup(2)(q22)	NR	NR	Conclusivo	NR	2
095	14	15	Síndrome Blefaro-queilo-dôntica	WES	NR	NR	NR	NR	Conclusivo	1
097	3	3	Sd. Waardenburg	Clínica	NR	NR	NR	NR	NR	0
101	1	1	Síndrome - Van der Woude	Clínica	46,XY	NR	NR	NL	NR	2
102	0	1	Síndrome - Klinefelter	Cariótipo	47,XXY, 21ps+[30]	NL	NL	NR	NR	3
103	1	5	Síndrome - Apert	Clínica	46,XY	NR	NR	NR	NR	1
105	2	3	Desequilíbrio Genômico – CNV, VUS em heterozigose no gene <i>PRX</i> e variante provavelmente patogênica no gene <i>MECP2</i>	CMA e WES	46,XX	NL	NR	Conclusivo	Conclusivo	4
117	3	4	Síndrome - Aaskog	Clínica	46,XY	NR	NR	NR	NR	1

123	0	13	Duas variantes provavelmente patogênicas nos genes <i>NHS</i> e <i>SHH</i>	WES	46,XY	NR	NR	NL	Conclusivo	3
132	10	0	Síndrome - Van der Woude	Clínica	NR	NR	NR	NR	NR	0
140	0	0	Síndrome - Stickler	Clínica	NR	NR	NR	NR	NR	0
157	3	9	Síndrome - Miller-Dieker	CMA	46,XY	NR	NR	Conclusivo	NR	2
158	10	17	Displasia camptomélica ou campomélica	WES	NR	NR	NR	NL	Conclusivo	2
159	1	2	Síndrome - Wolf-Hirschhorn	FISH	46,XY	Conclusivo	NR	NR	NR	2
162	9	22	Variante provavelmente patogênica no gene <i>SOX11</i>	WES	46,XX	NR	NR	NL	Conclusivo	3
Paciente (Susp. SD22q11 .2)	Idade na primeira consulta #	Idade ao diagnóstico#	Diagnóstico	Evidência diagnóstica	Outros testes realizados					Número de testes
					Cariótipo	FISH	MLPA	CMA	WES	
003	1	1	SD22q11.2	FISH	46, XY	Conclusivo	NR	NR	NR	2

005	4	6	Deleção do cromossomo 22q11.2 distal	CMA	46, XX	NL	NL	Conclusivo	NR	4
009	5	11	Variante patogênica no gene <i>JAG1</i>	WES	46, XX	NR	NL	NL	Conclusivo	4
019	22	23	SD22q11.2	MLPA	46,XX	NR	Conclusivo	NR	NR	2
020	11	11	SD22q11.2	MLPA	46,XX	NR	Conclusivo	NL	NR	3
027	5	16	Variante provavelmente patogênica no gene <i>SETX</i>	WES	46,XY	NR	NL	NL	Conclusivo	4
030	0	0	SD22q11.2	MLPA	NR	NR	Conclusivo	NR	NR	1
031	37	50	Desequilíbrio Genômico	CMA	46,XX	NL	NL	Conclusivo	NR	4
039	11	13	SD22q11.2	FISH	NR	Conclusivo	NR	NR	NR	1
041	12	12	Variante patogênica no gene <i>ANKRD11</i>	WES	46,XY	NL	NL	NL	Conclusivo	5
042	9	11	SD22q11.2	FISH	46,XY	Conclusivo	Conclusivo	NR	NR	3
045	0	1	SD22q11.2	FISH	46,XX	Conclusivo	Conclusivo	Conclusivo	NR	4

046	1	2	Deleção do cromossomo 22q11.2 distal	CMA	NR	NL	NL	Conclusivo	NR	3
052	0	1	SD22q11.2	MLPA	46,XY	Conclusivo	Conclusivo	Conclusivo	NR	4
059	3	14	Síndrome de Charge	WES	46,XX	NR	NR	NL	Conclusivo	3
076	41	46	Desequilíbrio Genômico	CMA	46,XX	NL	NR	Conclusivo	NR	3
079	10	15	SD22q11.2	MLPA	46,XX	NR	Conclusivo	NR	NR	2
088	1	6	Desequilíbrio Genômico	CMA	46,XX	NR	NL	Conclusivo	NR	3
091	2	25	Variante patogênica no gene <i>KMT2A</i>	WES	46,XX	NL	NL	NL	Conclusivo	5
094	2	2	SD22q11.2	MLPA	NR	NR	Conclusivo	NR	NR	1
099	11	7	SD22q11.2	FISH	46,XY	Conclusivo	Conclusivo	NR	NR	3
100	20	20	SD22q11.2	FISH	NR	Conclusivo	NR	NR	NR	1
104	1	5	Síndrome Smith Magenis	CMA	46,XX	NR	NL	Conclusivo	NR	3
106	34	46	Desequilíbrio Genômico	CMA	NR	NR	NR	Conclusivo	NR	1

109	7	20	Desequilíbrio Genômico	CMA	46,XX	NR	NL	Conclusivo	NR	3
110	2	2	SD22q11.2	FISH	46,XX,t(3;16)(q23;p12)[20]	Conclusivo	NR	Conclusivo	NR	3
119	6	26	SATB2 syndrome	WES	46,XY	NL	NR	NL	Conclusivo	4
126	9	16	Síndrome de Loyes-Dietz	WES	NR	NR	NL	NR	Conclusivo	2
130	17	17	Síndrome - Williams	FISH	46,XX	Conclusivo	NL	NR	NR	3
137	8	8	SD22q11.2	FISH	46,XY	Conclusivo	Conclusivo	Conclusivo	NR	4
148	9	12	SD22q11.2	MLPA	46,XX	NR	Conclusivo	Conclusivo	NR	3
149	1	8	Desequilíbrio Genômico	CMA	46,XX	NL	NL	Conclusivo	NR	4
161	10	10	Deleção do cromossomo 22q11.2 distal	MLPA	NR	NR	Conclusivo	NR	NR	1

Legenda: # idade em anos; NL: normal; NR: não realizado; conclusivo: obteve resultado positivo.

7 DISCUSSÃO

Considerando os prejuízos ocasionados pelas FO aos indivíduos acometidos, é importante sua identificação, bem como seu acesso a investigação etiológica, diagnóstico precoce e aconselhamento genético. Essas medidas são fundamentais para minimizar os impactos e avaliar os riscos para as futuras gerações dos genitores e dos indivíduos afetados (48,52,53).

O fato de não haver médico geneticista na equipe mínima e dos indivíduos com ACF nem sempre serem encaminhadas para serviço de genética, que possuem conhecimentos específicos para avaliação clínica e solicitação de exames apropriados, resulta em atraso ou ausência de diagnóstico (23).

Neste trabalho, o objetivo foi analisar o acesso à avaliação genético-clínica e ao diagnóstico, com base em amostra de indivíduos com FO e/ou suspeita de SD22q11.2, atendidos no SGC/ADCF, por meio de dados primários obtidos na BBAC. Foi também realizado o WES, em parte dos indivíduos sem diagnóstico definido por avaliação clínica ou outras técnicas.

Foi identificado que nesta amostra houve um predomínio de indivíduos da região de Campinas, sendo 60%, enquanto 34% de outras regiões do estado de São Paulo e 6% de outros estados.

No presente estudo, foi observada uma inversão significativa nas proporções de indivíduos com FONS, sendo 26,2% e FOS com 73,8%, divergindo da proporção encontrada na literatura, as quais demonstraram uma predominância de 70% de FONS em relação a 30% de FOS (53,54,3). Essa discrepância pode estar relacionada a uma possível falta de encaminhamento

de indivíduos com FONS ao SGC/ADCF e por uma maior atenção para avaliação especializada apenas de indivíduos com anomalias congênicas múltiplas.

No entanto, existem estudos que também relatam uma inversão semelhante de proporções em outras populações. Em um estudo realizado com 1000 pacientes com FO realizado no *Center for Craniofacial Disorders, Montefiore Medical Center, Bronx, New York*, 63,4% dos casos possuíam outras anomalias associadas (55). Adicionalmente, em outros dois estudos brasileiros também foi possível observar a inversão na proporção dos casos, sendo um com 59,6% e outro com 68,6% dos indivíduos classificados como sindrômicos (51, 56).

Dentre os indivíduos do presente estudo, 10 casos classificados previamente como FONS foram reclassificados para FOS. Não é uma situação rara, visto que após uma investigação mais aprofundada ou evolução clínica, podem sugerir outros defeitos congênicos ou atraso de desenvolvimento, ou mesmo déficit intelectual. Este aspecto reforça a necessidade de seguimento longitudinal para reavaliação do fenótipo e ressalta a complexidade na diferenciação entre os dois grupos, para garantir um diagnóstico preciso, aconselhamento genético e tratamento apropriados (57,33).

A frequência de defeitos associados à FO é um aspecto importante, ajudando a compreender a abrangência e complexidade das ACF. Neste estudo, os principais defeitos associados observados estavam relacionados ao sistema cardiovascular e ao segmento craniofacial, sendo similar ao resultado apresentado em um estudo anterior realizado com indivíduos com FO atendidos

no Serviço de Genética Clínica do Hospital Universitário Professor Alberto Antunes da Universidade Federal de Alagoas (51).

Em um outro estudo, conduzido no Paraná, foi observado que os principais defeitos associados englobavam sistema nervoso central, membros, sistema cardiovascular e sistema musculoesquelético (58).

Em alguns casos, a avaliação clínica pode ser suficiente para estabelecer o diagnóstico, especialmente quando os sintomas são característicos e não levantam suspeitas de outras condições genéticas, como o caso das FONS. Dentre os indivíduos desta casuística, foi possível a conclusão diagnóstica com base em avaliação clínica em 27 FONS e 9 FOS.

As microformas de FO, que podem incluir descontinuidade de músculo *orbicularis oris*, hipoplasia e agenesia dentária foram reconhecidas ao longo do tempo. Com isso, é possível que indivíduos com microforma não tenham sido detectados nesta amostra. Da mesma maneira, é possível que a evidência clínica utilizada tenha sido suficiente para poder indicar o diagnóstico, mas talvez não completamente apropriada para aconselhamento genético (59).

Estudos mais recentes mostram que em famílias com transmissão vertical é possível encontrar genes causativos segregando de maneira autossômica dominante (7). Portanto, esses novos conhecimentos poderiam modificar a proporção de afetados nas famílias e, em algumas situações, indicar a necessidade de investigação por WES.

Sendo o único exame disponível pelo Sistema Único de Saúde (SUS), o cariótipo foi suficiente para conclusão e aconselhamento genético em 6/76 (7,8%) dos casos. Proporção similar foi identificada em um outro estudo

envolvendo 115 indivíduos com FO que realizaram cariótipo, em que anormalidades cromossômicas ocorreram em 7 casos (6,0%) (51).

Ao analisarmos a amostra completa deste estudo, com extensa heterogeneidade clínica, considerando os demais casos com diagnóstico etiológico, em que 15/85 (17,6%) apresentavam desequilíbrio genômico e 14/85 (16,4%) condições monogênicas detectadas por WES, fica evidente a importância e os benefícios da inclusão da aplicação de CMA e WES (60).

No caso 105, foi identificada uma alteração por CMA, que levou ao diagnóstico de Síndrome de Charcot-Marie-Tooth tipo 1A, no entanto, como não justificava todo o quadro clínico, foi realizado o WES. Foram detectadas VUS em heterozigose no gene *PRX*, responsável pela S. de Charcot-Marie-Tooth 4F. A presença destas variantes levou a aventar a possibilidade de que pudesse haver alguma influência no fenótipo. Entretanto, foi identificada também uma variante provavelmente patogênica no gene *MECP2* (*MECP2*: c.763C>T(p.Arg255Ter)), associada a Síndrome de Rett, na qual estava de acordo com o quadro clínico apresentado pelo paciente. A literatura tem relatado casos semelhantes, nos quais mais de uma variante estão presentes, influenciando no quadro clínico dos indivíduos (61,62).

Considerando os 35 indivíduos desta casuística que realizaram WES, em 14 foi possível a conclusão diagnóstica, o que corresponde a 40%. Apesar de não haver dados na literatura referente a taxa diagnóstica de WES em FOS, outros estudos destacam a importância do WES no diagnóstico de outras condições genéticas, como transtornos do neurodesenvolvimento, apresentando uma taxa diagnóstica entre 30-57% (63,64). Os resultados apresentados no

presente estudo, associados aos da literatura reforçam a necessidade de ampliar o acesso a exames genômicos para este grupo populacional.

Apesar de ser uma etiologia comum para FOS, não houve diagnóstico de causas teratogênicas neste trabalho (2). Dentre os 103 indivíduos classificados com FOS, em 39 não foi possível estabelecer diagnóstico conclusivo. A falta de exames disponíveis para todos os casos também impacta diretamente na quantidade de indivíduos sem diagnóstico, visto que dependem de projetos de pesquisa em que há critérios de inclusão específicos. Por outro lado, o acompanhamento clínico longitudinal não é incomum para reavaliação do fenótipo, ou mesmo, rever a literatura em busca de novos conhecimentos (57,65).

Em relação a confirmação diagnóstica de SD22q11.1, um estudo que incluiu 295 pacientes com suspeita de SD22q11.1, foram confirmados 50 casos de deleção típica, representando 17%. Em outro estudo com 115 pacientes suspeitos, houve confirmação em 16 que equivale a 14% dos casos (66,67). No presente estudo, dos 90 casos com suspeita de SD22q11.2, houve confirmação diagnóstica em 15 casos, o que corresponde a 17%, estando de acordo com os valores observados na literatura.

A SD22q11.2 possui apresentação clínica heterogênea, com sinais que também estão presentes em outras condições monogênicas, tais como Síndrome CHARGE e Síndrome de Smith-Lemli-Opitz, desequilíbrios genômicos, como Síndrome da deleção 8p23.1 e outras Variações de Cópias do DNA (*Copy Number Variations* – CNVs), como 10p12-p15, 4q21-q35, 8p21-p23, 17p13 e 18q21. É importante considerar os diagnósticos diferenciais em casos suspeitos de SD22q11.2 para prosseguir investigação quando a suspeita não foi

concluída e garantir um tratamento adequado e específico para cada paciente (68,69,70,48,44)

Apesar da heterogeneidade clínica apresentada pela SD22q11.2, as características mais frequentemente associadas incluem defeitos cardíacos, imunológicos, neurológicos, anormalidades palatais, características faciais e atraso no desenvolvimento (48,44,42). Os achados clínicos mais frequentes nos casos investigados neste trabalho englobam defeitos cardíacos, anomalias labiopalatais e craniofaciais, estando parcialmente compatível com a frequência de achados na literatura. A diferença pode ser reflexo do tipo de caso clínico encaminhado ao SGC/ADCF pelos serviços de saúde e, também, apenas pelo tamanho amostral.

Em relação ao diagnóstico laboratorial, tanto a técnica FISH quanto MLPA são usados no diagnóstico de SD22q11.2. Embora o FISH seja uma técnica bem difundida, apresenta a limitação de não conseguir detectar deleções menores ou atípicas na região 22q11.2. Por outro lado, a técnica de MLPA tem a capacidade de detectar tanto microduplicações e microdeleções na região e outras relacionadas a alguns diagnósticos diferenciais conhecidos. Adicionalmente, o CMA é uma técnica genômica que também é frequentemente usada para o diagnóstico da SD22q11.2. Além de identificar deleções, duplicações nesta região, pode também detectar outras anormalidades no genoma simultaneamente, podendo aumentar a taxa diagnóstica (11).

A casuística aqui apresentada evidencia a importância dos desequilíbrios genômicos como etiologia das FOS e nos casos de suspeita não confirmada de SD22q11.2. Os projetos de pesquisa que permitiram a investigação diagnóstica

por meio das diferentes técnicas moleculares ocorreram ao longo do tempo e acompanharam a evolução tecnológica, o que justifica o acesso de um indivíduo aos diferentes testes no SGC/ADCF, que é público. Por exemplo, inicialmente, foram realizadas as técnicas de FISH ou MLPA nos casos com suspeita de SD22q11.2. Dos 72 casos não confirmados, 44 indivíduos seguiram para CMA em busca de desequilíbrios em outras regiões do genoma, que resultou em mais 10 diagnósticos.

O incremento tecnológico trazido pelo WES, onde se pode analisar também CNVs, aponta para uma abordagem interessante do ponto de vista de custo-efetividade. Estudos têm demonstrado bons resultados no WES em diagnóstico de condições geneticamente heterogêneas, reforçando a importância dessa abordagem na investigação de defeitos congênitos múltiplos. No entanto, mesmo com a realização do WES, ainda é possível que o caso permaneça sem diagnóstico, pois o conhecimento científico relacionado a muitas variantes, ainda é limitado (71,13).

No presente estudo, o WES foi a principal evidência diagnóstica (35,89%), seguido de FISH (10/38 -26,3%), CMA (12/63 – 20,6%), MLPA (8/80 – 10%) e cariótipo (6/77- 7,8%). Considerando as aplicações do WES, que permite também a análise de CNVs, existe suporte científico para considerá-lo como teste diagnóstico de primeira escolha para FOS e SD22q11.2. Entretanto, esta estratégia poderia não ser mais adequada para aconselhamento genético dos genitores, a depender o diagnóstico do propósito. Uma parte dos 15/22 indivíduos que tiveram acesso ao WES e permaneceram sem diagnóstico depende de reanálise dos dados de sequenciamento, o que deve ocorrer pelo menos a cada dois anos, uma vez que a evolução do conhecimento pode levar

à reclassificação de variantes e impactar na conclusão diagnóstica (15, 64). Destaca-se aqui que, para que este fluxo seja seguido, é necessário manter o indivíduo e sua família em seguimento e prever recursos humanos para a reanálise dos dados. Em 62% dos indivíduos negativos para SD22q11.2 não foi possível a conclusão diagnóstica, e estes aguardam disponibilidade de outras técnicas diagnósticas e (ou) a evolução do fenótipo para reavaliação clínica.

A diversidade etiológica no grupo de indivíduos com FOS e SD22q11.2, bem como a importância da SD22q11.2 como diagnóstico, reforça a necessidade de avaliação clínico-dismorfológica prévia à indicação de testes genéticos, a necessidade de acesso a diferentes técnicas diagnósticas e de reavaliação quando exames negativos para conhecer história natural e prosseguir investigação.

A ampla variação na idade ao diagnóstico etiológico apresentada neste estudo (de 0 a 46), pode estar relacionada diretamente à disponibilidade de exames genéticos mais recentemente. Avanços tecnológicos e aumento ao acesso a exames complementares, como a CMA e o WES, realizados atualmente por meio de projetos de pesquisa, permitiu o diagnóstico precoce em casos que ficariam sem diagnóstico no SUS.

Por fim, avaliação clínica e a correlação genótipo fenótipo são fundamentais para caracterizar os casos em que pode haver mais de uma etiologia para o fenótipo observado. Essa abordagem é essencial para uma identificação precisa e um tratamento adequado dos pacientes com anomalias craniofaciais.

Este estudo mostra a realidade de um serviço público que, por meio de pesquisa, tem contribuído para diagnóstico e aconselhamento genético para indivíduos com FOS e suspeita de SD22q11.2. Este exemplo, reforçado pela literatura científica, evidencia a necessidade de construção de políticas públicas de saúde que visem melhorar o acesso de indivíduos com ACF à avaliação genético-clínica e aos testes genéticos. O acesso diagnóstico preciso, aconselhamento genético e seguimento clínico adequados certamente teriam impacto positivo na saúde e na qualidade de vida deste grupo populacional.

8 CONCLUSÃO

Observa-se que a população majoritariamente é proveniente da região de Campinas, sem distinção de proporção quanto ao sexo biológico, com intervalo de idade de acesso à avaliação genética amplo e predomínio de FOS.

A idade média de diagnóstico para FOS foi de 6,9 anos e de suspeita de SD22q11.2, de 13,7 anos.

De toda a amostra, apenas seis casos tiveram diagnóstico realizado por meio de exame de cariótipo, que era o único disponível no SUS no período estudado. Entretanto, 116 indivíduos se beneficiaram de testes genéticos por meio de pesquisa, dos quais 43 obtiveram conclusão diagnóstica.

Ao todo, dos 81 casos sem diagnóstico, 35 realizaram WES, que permitiu a conclusão em 14. Em 21 casos o exame foi negativo considerando os atuais conhecimentos. Esses dados reforçam a heterogeneidade clínico-etiológica, a necessidade de inclusão de testes genéticos e de acompanhamento clínico como parte da atenção ao grupo populacional estudado.

Portanto, observa-se acesso restrito à avaliação genética, pouco encaminhamento de FONS para avaliação, limitação de diagnóstico laboratorial pela diversidade etiológica e disponibilidade exclusiva de exame de cariótipo como técnica diagnóstica pelo SUS neste período estudado.

Esses resultados poderão contribuir para reflexão de formadores de opinião na construção de uma política pública mais atual e voltada para as necessidades da sociedade.

9 REFERÊNCIAS

1. World Health Organization (WHO). Global Registry and Database on Craniofacial Anomalies. Geneva, Switzerland: WHO; 2003.
2. World Health Organization (WHO). Global Strategies to Reduce the Health-Care Burden of Craniofacial Anomalies. Geneva, Switzerland: WHO; 2002.
3. Stanier P, Moore GE. Genetics of cleft lip and palate: syndromic genes contribute to the incidence of non-syndromic clefts. *Hum Mol Genet* [Internet]. 2004 Apr 1;13 Spec No 1(REV. ISS. 1).
4. Saleem K, Zaib T, Sun W, Fu S. Assessment of candidate genes and genetic heterogeneity in human non syndromic orofacial clefts specifically non syndromic cleft lip with or without palate. *Heliyon* [Internet]. 2019 Dec 1;5(12):e03019.
5. Marazita ML. Subclinical features in non-syndromic cleft lip with or without cleft palate (CL/P): review of the evidence that subepithelial orbicularis oris muscle defects are part of an expanded phenotype for CL/P. *Orthod Craniofac Res*. 2007 May;10(2):82-7. doi: 10.1111/j.1601-6343.2007.00386.x. PMID: 17552944.
6. Phan M, Conte F, Khandelwal KD, et al. Tooth agenesis and orofacial clefting: genetic brothers in arms?. *Hum Genet*. 2016;135(12):1299-1327. doi:10.1007/s00439-016-1733-z
7. Basha, Mirta et al. Whole exome sequencing identifies mutations in 10% of patients with familial non-syndromic cleft lip and/or palate in genes mutated in well-known syndromes. *Journal Of Medical Genetics*, [S.L.], v. 55, n. 7, p. 449-458, 2 mar. 2018. *BMJ*.
8. Demeer B, Revencu N, Helaers R, et al. Likely Pathogenic Variants in One Third of Non-Syndromic Discontinuous CleftLip and Palate Patients. *Genes (Basel)*, Oct 22;10(10):833, 2019.
9. Slavec L, Geršak K, Eberlinc A, Hovnik T, Lovrečić L, Mlinarič-Raščan I, Karas Kuželički N. A Comprehensive Genetic Analysis of Slovenian Families with Multiple Cases of Orofacial Clefts Reveals Novel Variants in the Genes IRF6, GRHL3, and TBX22. *Int J Mol Sci*. 2023 Feb 21;24(5):4262. doi: 10.3390/ijms24054262. PMID: 36901693; PMCID: PMC10002089.
10. Coutinho ALF, Lima MC, Kitamura MAP, Ferreira Neto J, Pereira RM. Perfil epidemiológico dos portadores de fissuras orofaciais atendidos em um Centro de Referência do Nordeste do Brasil. *Rev Bras Saúde Matern Infant*. 2009;9(2):149-56. DOI: <http://dx.doi.org/10.1590/S1519-38292009000200004>
11. Sgardoli, I. C., Paoli Monteiro, F., Fanti, P., Paiva Vieira, T., & Gil-da-Silva-Lopes, V. L. (2019). Testing criteria for 22q11.2 deletion syndrome: preliminary results of a low cost strategy for public health. *Orphanet J Rare Dis*, 14(1), 123. doi:10.1186/s13023-019-1098-1
12. Gil-Da-Silva-Lopes, VL; et al. Brazil's Craniofacial Project: different approaches on orofacial clefts and 22q11.2 deletion syndrome. *American Journal Of Medical Genetics Part C: Seminars in Medical Genetics*, [S.L.], v. 184, n. 4, p. 912-927, 9 nov. 2020. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1002/ajmg.c.31852>.
13. Srivastava S, Love-Nichols JA, Dies KA, Ledbetter DH, Martin CL, Chung WK, Firth HV, Frazier T, Hansen RL, Prock L, Brunner H, Hoang N, Scherer SW, Sahin M, Miller DT; NDD Exome Scoping Review Work Group. Meta-analysis and multidisciplinary consensus statement: exome sequencing is a first-tier clinical diagnostic test for individuals with neurodevelopmental disorders. *Genet*

- Med. 2019 Nov;21(11):2413-2421. doi: 10.1038/s41436-019-0554-6. Epub 2019 Jun 11. Erratum in: Genet Med. 2020 Oct;22(10):1731-1732. PMID: 31182824; PMCID: PMC6831729.
14. van der Sanden, B.P.G.H., Schobers, G., Corominas Galbany, J. *et al.* O desempenho do sequenciamento genômico como teste de primeira camada para transtornos do neurodesenvolvimento. *Eur J Hum Genet* **31**, 81–88 (2023).
 15. Sorelle JA, Thodeson DM, Arnold S, Gotway G, Park JY. Clinical Utility of Reinterpreting Previously Reported Genomic Epilepsy Test Results for Pediatric Patients. *JAMA Pediatr* . 2019 Jan 1, 173(1).
 16. World Health Organization (WHO). Addressing the global challenges of craniofacial Anomalies. Geneva, Switzerland: World Health Organization (WHO), 2006
 17. American Cleft Palate-Craniofacial Association (ACPA). Parameters For Evaluation and Treatment of Patients with Cleft Lip/Palate or Other Craniofacial Differences. Team Care, 2018.
 18. Strauss, RP. The American Cleft Palate-Craniofacial Association (ACPA) Team Standards Committee. Cleft palate and craniofacial teams in the United States and Canada: a national survey of team organization and standards of care. *Cleft Palate Craniofac J*. 1998;35:473–480.
 19. Portaria nº 62/SAS/MS, 19 de abril de 1994. Disponível em: http://bvsmms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/sas/1994/prt0062_19_04_1994.html (Acesso em setembro de 2023).
 20. Monlleó, Isabella Lopes. Anomalias craniofaciais, genética e saúde pública: contribuições para o reconhecimento da situação atual da assistência no Sistema Único de Saúde. 2004. f. Dissertação (Mestrado - Ciências Médicas) – Faculdade de Ciências Médicas, Universidade Estadual de Campinas, Campinas. 2004.
 21. Portaria nº 199/GM/MS, 30 de janeiro de 2014. Disponível em: http://bvsmms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/gm/2014/prt0199_30_01_2014.html (Acesso em setembro de 2023).
 22. Monlleó IL, Gil-da-Silva-Lopes VL. Brazil's Craniofacial Project: genetic evaluation and counseling in the Reference Network for Craniofacial Treatment. *Cleft Palate Craniofac J*. (2006a) Sep;43(5):577-9. doi: 10.1597/04-203. PMID: 16986979.
 23. Gil-Da-Silva-Lopes VL, Fontes MIB, dos Santos AP, Appenzeller S, Fett-Conte AC, Francisquetti MCC, et al. Syndromic Oral Clefts: Challenges of Genetic Assessment in Brazil and Suggestions to Improve Health Policies. *Public Health Genomics*. 2019 Sep 1;22(1–2):69–76.
 24. Classificação Internacional de Doenças – CID10.
 25. Botto, Lorenzo D. et al. Fostering International Collaboration in Birth Defects Research and Prevention: a perspective from the international clearinghouse for birth defects surveillance and research. *American Journal Of Public Health*, [S.L.], v. 96, n. 5, p. 774-780, maio 2006. American Public Health Association. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1470591/>. (Acesso em maio de 2021).
 26. CRANE. Craniofacial Anomalies Network: Report on the Register. Disponível em < <https://craniofacialsociety.co.uk/>> (Acesso em outubro, 2023)
 27. Pedersen DA, Wehby GL, Murray JC, Christensen K. Psychiatric Diagnoses in Individuals with Non-Syndromic Oral Clefts: A Danish Population-Based Cohort

- Study. PLoS One. 2016 May 25;11(5):e0156261. doi: 10.1371/journal.pone.0156261. PMID: 27223812; PMCID: PMC4880322.
28. Volpe-aquino, RM; et al. CranFlow: an application for record-taking and management through the Brazilian database on craniofacial anomalies. *Birth Defects Research, [S.L.]*, v. 110, n. 1, p. 72-80, 26 set. 2017. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1002/bdr2.1123>.
 29. Merritt, L. Understanding the embryology and genetics of CLEFT LIP and Palate. *Adv. Neonatal Care*, 5 (2005), pp. 64-71. Disponível em: https://journals.lww.com/advancesinneonatalcare/Abstract/2005/04000/Understanding_the_Embryology_and_Genetics_of_CLEFT.2.aspx
 30. Wyszynski, D. Cleft lip & palate: from origin to treatment. Oxford: Oxford University Press, 2002
 31. Dixon, MJ; et al. Cleft lip and palate: Understanding genetic and environmental influences. *Nat Rev Genet*. 2011 Mar;12(3):167–78.
 32. Bishop, MR; et al. Genome-wide Enrichment of De Novo Coding Mutations in Orofacial Cleft Trios. *Am J Hum Genet* . 2020 Jul 2,107(1):124–36. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32574564/>.
 33. Nasreddine G, el Hajj J, Ghassibe-Sabbagh M. Orofacial clefts embryology, classification, epidemiology, and genetics. *Mutat Res Rev Mutat Res* . 2021 .Jan 1; 787.
 34. Aylward A, Cai Y, Lee A, Blue E, Rabinowitz D, Haddad J. Using Whole Exome Sequencing to Identify Candidate Genes With Rare Variants In Nonsyndromic Cleft Lip and Palate. *Genet Epidemiol*. 2016 Jul 1;40(5):432–41.
 35. Bureau A, Parker MM, Ruczinski I, Taub MA, Marazita ML, Murray JC, et al. Whole Exome sequencing of distant relatives in multiplex families implicates rare variants in candidate genes for oral clefts. *Genetics*. 2014;197(3):1039–44.
 36. Marazita ML. The Evolution of Human Genetic Studies of Cleft Lip and Cleft Palate. *Annual Review Of Genomics And Human Genetics, [S.L.]*, v. 13, n. 1, p. 263-283, 22 set. 2012. Annual Reviews.
 37. Monleó, IL; et al. Diagnostic implications of associated defects in patients with typical orofacial clefts. *Jornal de Pediatria, [S.L.]*, v. 91, n. 5, p. 485-492, set. 2015.
 38. Omim. Human Genetics Knowledge for the World. Disponível em: <https://www.omim.org/>. (Acesso em outubro, 2023)
 39. N. Bernheim, M. Georges, C. Malevez, A.D. Mey, A. Mansbach, Embryology and epidemiology of cleft lip and palate, (n.d.) 9.
 40. Mazzola RF, Mazzola IC. Facial clefts and facial dysplasia: revisiting the classification. *J Craniofac Surg*. 2014 Jan;25(1):26-34. doi: 10.1097/SCS.0b013e3182a2ea94. PMID: 24406554.
 41. Monteiro, FP; et al. Defining new guidelines for screening the 22q11.2 deletion based on a clinical and dysmorphic evaluation of 194 individuals and review of the literature. *European Journal Of Pediatrics, [S.L.]*, v. 172, n. 7, p. 927-945, 26 fev. 2013. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1007/s00431-013-1964-0>.
 42. Vieira, Társis P et al. “Clinical Features in Patients With 22q11.2 Deletion Syndrome Ascertained by Palatal Abnormalities.” *The Cleft palate-craniofacial journal : official publication of the American Cleft Palate-Craniofacial Association* vol. 52,4 (2015): 411-6. doi:10.1597/13-233
 43. Fernández, L *et al.* Comparative study of three diagnostic approaches (FISH, STRs and MLPA) in 30 patients with 22q11.2 deletion syndrome. *Clinical*

- Genetics, [S.L.], v. 68, n. 4, p. 373-378, 12 ago. 2005. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1111/j.1399-0004.2005.00493.x>.
44. McDonald-McGinn D.M. Sullivan K.E. Chromosome 22q11.2 deletion syndrome (DiGeorge syndrome/velocardiofacial syndrome). *Medicine (Baltimore)*. 2011; 90(1): 1–18.
 45. Orphanet. The portal for rare diseases and orphan drugs. Disponível em: <https://www.orpha.net/consor/cgi-bin/index.php?lng=EN> (Acesso em 02 de outubro de 2023).
 46. Wenger T, Miller D, Evans K. FGFR Craniosynostosis Syndromes Overview. 1998 Oct 20 [Updated 2020 Apr 30]. In: Adam MP, Mirzaa GM, Pagon RA, et al., editors. *GeneReviews®*. Seattle (WA): University of Washington, Seattle; 1993-2023.
 47. Tekendo-Ngongang C, Muenke M, Kruszka P. Holoprosencefalia Resumo. 2000 dez 27 [Atualizado 2020 mar 5]. In: Adam MP, Mirzaa GM, Pagon RA, et al., editores. *GeneReviews®*. Seattle (WA): Universidade de Washington, Seattle; 1993-2023.
 48. Palmer, LD; et al. Elucidating the diagnostic odyssey of 22q11.2 deletion syndrome. *Am J Med Genet A*, 176(4), 936–944. doi:10.1002/ajmg.a.38645
 49. Monlleó IL, Gil-da-Silva-Lopes VL. Anomalias craniofaciais: descrição e avaliação das características gerais da atenção no Sistema Unico de Saúde [Craniofacial anomalies: description and evaluation of treatment under the Brazilian Unified Health System]. *Cad Saude Publica*. 2006;22(5):913-922. doi:10.1590/s0102-311x2006000500004
 50. Monleó, IL; et al. Evaluation of Craniofacial Care outside the Brazilian Reference Network for Craniofacial Treatment. *The Cleft Palate-Craniofacial Journal*, [S.L.], v. 46, n. 2, p. 204-211, mar. 2009. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1597/07-153.1>.
 51. Monlleó IL, Barros AG, Fontes MI, et al. Diagnostic implications of associated defects in patients with typical orofacial clefts. *J Pediatr (Rio J)*. 2015;91(5):485-492. doi:10.1016/j.jpmed.2014.12.001
 - Watkins SE, Meyer RE, Strauss RP, Aylsworth AS. Classification, epidemiology, and genetics of orofacial clefts. *Clin Plast Surg*. 2014;41(2):149–63.
 52. Mossey, PA; et al. Global oral health inequalities: challenges in the prevention and management of orofacial clefts and potential solutions. *Adv Dent Res*. 2011 May; 23(2):247–58. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21490237/>.
 53. Mossey, PA; MODELL, B. Epidemiology of oral clefts 2012: An international perspective. *Cleft Lip and Palate: Epidemiology, Aetiology and Treatment*. 2012 Jun 27;16:1–18.
 54. Mossey, P.; Little, J. Epidemiology of oral clefts: an international perspective. In: Wyszynski, D.F. *Cleft lip and palate: from origin to treatment*. New York: Oxford University Press, 2002. p.127-158.
 55. Shprintzen RJ, Siegel-Sadewitz VL, Amato J, Goldberg RB. Anomalies associated with cleft lip, cleft palate, or both. *Am J Med Genet*. 1985;20:585-95.
 56. Francisquetti, Marina Cristine Cano *et al*. How are people with orofacial clefts attended in northwest region of São Paulo state, Brazil? *Genetics And Molecular Biology*, [S.L.], v. 46, n. 4, p. 1-9, 2023.
 57. Rittler M, Cosentino V, López-Camelo JS, Murray JC, Wehby G, Castilla EE. Associated anomalies among infants with oral clefts at birth and during a 1-year follow-up. *Am J Med Genet A*. 2011 Jul;155A(7):1588–96.

58. Souza, Josiane et al. Clinical and epidemiological study of orofacial clefts. *Jornal de Pediatria*, [S.L.], v. 89, n. 2, p. 137-144, mar. 2013. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jpmed.2013.03.010>.
59. Weinberg SM, Brandon CA, McHenry TH, Neiswanger K, Deleyiannis FW, de Salamanca JE, Castilla EE, Czeizel AE, Vieira AR, Marazita ML. *Sou J Med Genet A*. 2008 1 de julho; 146A(13):1670-5. DOI: 10.1002/ajmg.a.32291. PMID: 18536047.
60. Lustosa-Mendes, Elaine et al. Identification of genomic imbalances in oral clefts. *Jornal de Pediatria*, [S.L.], v. 97, n. 3, p. 321-328, maio 2021. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jpmed.2020.06.005>.
61. Capra, Anna Paola; LAROSA, Maria Angela; BRIGUORI, Sara; CIVA, Rosa; PASSARELLI, Chiara; AGOLINI, Emanuele; NOVELLI, Antonio; BRIUGLIA, Silvana. Coexistence of Genetic Diseases Is a New Clinical Challenge: three unrelated cases of dual diagnosis. *Genes*, [S.L.], v. 14, n. 2, p. 484, 14 fev. 2023. MDPI AG. <http://dx.doi.org/10.3390/genes14020484>.
62. Liu, Lian et al. Delineation of dual molecular diagnosis in patients with skeletal deformity. *Orphanet Journal Of Rare Diseases*, [S.L.], v. 17, n. 1, p. 1-9, 28 mar. 2022. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1186/s13023-022-02293-x>.
63. Srivastava S, Love-Nichols JA, Dies KA, Ledbetter DH, Martin CL, Chung WK, et al. Meta-analysis and multidisciplinary consensus statement: exome sequencing is a first-tier clinical diagnostic test for individuals with neurodevelopmental disorders. *Genet Med*. 2019; 21(11):2413–21.
64. Xiao B, Qiu W, Ji X, et al. Marked yield of re-evaluating phenotype and exome/target sequencing data in 33 individuals with intellectual disabilities. *Am J Med Genet A*. 2018;176:107–115.
65. Rozendaal AM, Luijsterburg AJM, Ongkosuwito EM, van den Boogaard MJH, de Vries E, Hovius SER, et al. Delayed diagnosis and underreporting of congenital anomalies associated with oral clefts in the Netherlands: a national validation study. *J Plast Reconstr Aesthet Surg*. 2012 Jun ;65(6):780–90.
66. Bartsch O, Nemecková M, Kocárek E, Wagner A, Puchmajerová A, Poppe M, Ounap K, Goetz P. DiGeorge/velocardiofacial syndrome: FISH studies of chromosomes 22q11 and 10p14, and clinical reports on the proximal 22q11 deletion. *Am J Med Genet A*. 2003; 117A(1): 1–5.
67. Oh A.K, Workman L.A, Wong G.B. Clinical correlation of chromosome 22q11.2 fluorescent in situ hybridization analysis and velocardiofacial syndrome. *Cleft Palate Craniofac J*. 2007; 44: 62–66.
68. Molck, Miriam C. Mestrado; Monteiro, Fabíola P. MD, MSc; Simioni, Dra. Milena; Dra. Gil-da-Silva-Lopes, Vera L.; 8p23.1 Deleção Intersticial em Paciente com Cardiopatia Congênita, Distúrbios Neurocomportamentais e Sinais Menores Sugerindo Síndrome de Deleção 22q11.2. *Journal of Developmental & Behavioral Pediatrics* 36(7):p 544-548, setembro de 2015. | DOI: 10.1097/DBP.000000000000197
69. Yatsenko SA, Yatsenko AN, Szigeti K, et al. Interstitial deletion of 10p and atrial septal defect in DiGeorge 2 syndrome. *Clin Genet*. 2004; 66:128–136.
70. Fernández L, Lapunzina P, Pajares IL, et al.. Unrelated chromosomal anomalies found in patients with suspected 22q11.2 deletion. *Am J Med Genet A*. 2008;146a:1134–1441.
71. Posey JE, Harel T, Liu P, Rosenfeld JA, James RA, Coban Akdemir ZH, Walkiewicz M, Bi W, Xiao R, Ding Y, Xia F, Beaudet AL, Muzny DM, Gibbs RA, Boerwinkle E, Eng CM, Sutton VR, Shaw CA, Plon SE, Yang Y, Lupski JR.

Resolution of Disease Phenotypes Resulting from Multilocus Genomic Variation. *N Engl J Med.* 2017 5 de janeiro; 376(1):21-31. DOI: 10.1056/NEJMoa1516767. EPub 2016 Dez 7. PMID: 27959697; PMCID: PMC5335876.

10 ANEXOS

Pareceres dos Comitês de Ética em Pesquisa – Unicamp

FACULDADE DE CIÊNCIAS
MÉDICAS - UNICAMP
(CAMPUS CAMPINAS)



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: PROPOSTA PARA INSERÇÃO DA GENÉTICA CLÍNICA NA ATENÇÃO DE PORTADORES DE ANOMALIAS CRANIOFACIAIS NO SISTEMA ÚNICO DE SAÚDE.

Pesquisador: Vera Lúcia Gil da Silva Lopes

Área Temática: Genética Humana:

(Trata-se de pesquisa envolvendo Genética Humana que não necessita de análise ética por parte da CONEP;);

Versão: 1

CAAE: 35316314.9.1001.5404

Instituição Proponente: Faculdade de Ciências Médicas - UNICAMP

Patrocinador Principal: CONS NAC DE DESENVOLVIMENTO CIENTIFICO E TECNOLÓGICO

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 797.502

Data da Relatoria: 19/09/2014

Apresentação do Projeto:

Projeto multicêntrico, para estabelecer a participação de genética clínica no tratamento de portadores de anomalias crânio faciais. O projeto consta de 3 fases: criação de um banco de dados, 2. Suporte clínico e laboratorial para os serviços de RRTDCF e (3) capacitação de profissionais envolvidos no tratamento de portadores de anomalias craniofaciais. O projeto foi submetido ao CNPQ, contando também com a participação de fomento de Fapesp, Fapeal e desenvolvido em conjunto com a Organização Mundial de Saúde. A primeira parte do projeto prevê o desenvolvimento de um banco de dados, inicialmente com inserção apenas das informações dos portadores de FOT (fissuras orofaciais típicas), incluindo todas as crianças, de qualquer idade e sob tratamento desenvolvido ou planejado pelas Unidades RRTDCF. Crianças com anomalias congênitas múltiplas serão excluídas desta fase. As informações serão coletadas caso a caso, e inseridas em protocolo computadorizado. Quando necessário, serão incluídas fotos. Todas as informações serão coletadas após a assinatura do TCLE. Os centros participantes assinarão um termo de compromisso com a coordenação do projeto. Inicialmente, será realizado um estudo piloto, com a participação de 6 centros, previamente contactados: 3 serviços de RRTDCF com geneticista clínico (CAIF-Curitiba, Centinho Prefeito Luiz Gomes-Joinville

Endereço: Rua Tessália Vieira de Camargo, 126

Bairro: Barão Geraldo

CEP: 13.083-887

UF: SP

Município: CAMPINAS

Telefone: (19)3521-8936

Fax: (19)3521-7187

E-mail: cep@fcm.unicamp.br

FACULDADE DE CIENCIAS
MEDICAS - UNICAMP
(CAMPUS CAMPINAS)



Continuação do Parecer: 797.502

e CADEFI-Recife) e quatro unidades de genética que regularmente avaliam portadores de fendas, mas não fazem parte do RRTDCF

(Serviço de Genética Médica do HC de Porto Alegre, Hospital Geral César Cals Fortaleza, HC Unicamp e Faculdade de Medicina de São José do Rio Preto). Após a validação do questionário, testado durante 6 meses (fevereiro a agosto de 2008), os demais centros de RRTDCF, com e sem geneticista, serão convidados a participar do projeto. Esta fase do projeto também prevê a criação de um Biobank (estudo opcional), para armazenamento de material biológico (sangue ou saliva dos sujeitos de pesquisa e de seus pais), para estudos colaborativos posteriores. A segunda parte do projeto prevê a ampliação do suporte clínico e laboratorial aos serviços de RRTDCF, com ampliação e/ou implementação dos laboratórios de citogenética das Universidades de Campinas e Alagoas, além da estruturação do Ambulatório de Genética da Uncisal. A terceira parte do projeto prevê a capacitação de profissionais ligados ao atendimento de portadores de anomalias craniofaciais, através de cursos presenciais ou de educação à distância. Sugere também a criação de um banco de dados para os profissionais envolvidos nesta área.

Objetivo da Pesquisa:

Estruturar e validar um registro de pacientes atendidos nos serviços integrantes da RRTDCF. Oferecer atendimento em genética clínica e aconselhamento genético nos serviços de genética clínica do Hospital Universitário (HU) UFAL e do Hospital de Clínicas (HC) - UNICAMP. Ampliar a capacidade de atendimento clínico e do laboratório de citogenética da UNICAMP. Estruturar laboratório de citogenética na UNCISAL. Oferecer capacitação em genética e em cuidados de saúde de portadores de ACF para profissionais da RRTDCF e para profissionais ligados a associações de pais e portadores de ACF nas cidades que dispõem de centros da RRTDCF.

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

O risco previsível da participação nesta etapa do estudo é apenas o tempo necessário para o preenchimento do formulário, que ocorre durante a consulta médica (cerca de 20 minutos). O questionário conterá perguntas sobre aspectos demográficos, história gestacional, do parto, neonatal e familiar, características clínicas, evolução, resultados de exames e plano de tratamento. Fotografias e radiografias serão realizadas de acordo com a padronização internacional vigente.

Endereço: Rua Tessália Vieira de Camargo, 126
Bairro: Barão Geraldo **CEP:** 13.083-887
UF: SP **Município:** CAMPINAS
Telefone: (19)3521-8936 **Fax:** (19)3521-7187 **E-mail:** cep@fcm.unicamp.br

FACULDADE DE CIÊNCIAS
MÉDICAS - UNICAMP
(CAMPUS CAMPINAS)



Continuação do Parecer: 797.502

Outros exames complementares

(invasivos ou não) não fazem parte deste protocolo, contudo, caso sejam realizados como rotina de atendimento do serviço, poderão ter seus resultados igualmente registrados. Em nenhum momento serão colhidas informações que permitam a identificação dos participantes. Esta pesquisa não trará benefícios diretos para o participante, mas o conhecimento acumulado sobre todas as famílias participantes, gestação, parto, uso de medicamentos, desenvolvimento físico e mental e aspectos genéticos, clínicos e cirúrgicos serão utilizadas para ajudar os pesquisadores a reconhecerem possíveis causas que levam a ocorrer este problema na população brasileira, e a desenvolver formas para ensinar a população como prevenir, quando possível, e como melhorar o tratamento.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

O projeto encontra-se adequado à Resolução CNS/MS 196/96 e complementares, bem como o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

O Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Ciências Médicas da UNICAMP, após acatar os pareceres dos membros-relatores previamente designados para o presente caso e atendendo todos os dispositivos das Resoluções 196/96 e complementares, resolve aprovar sem restrições o Protocolo de Pesquisa, bem como ter aprovado o Termo do Consentimento Livre e Esclarecido, assim como todos os anexos incluídos na Pesquisa supracitada. O conteúdo e as conclusões aqui apresentados são de responsabilidade exclusiva do CEP/FCM/UNICAMP e não representam a opinião da Universidade Estadual de Campinas nem a comprometem.

Recomendações:

-O sujeito da pesquisa tem a liberdade de recusar-se a participar ou de retirar seu consentimento em qualquer fase da pesquisa, sem penalização alguma e sem prejuízo ao seu cuidado (Res. CNS 196/96 – Item IV.1.f) e deve receber uma cópia do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido, na íntegra, por ele assinado (Item IV.2.d).

-Pesquisador deve desenvolver a pesquisa conforme delineada no protocolo aprovado e descontinuar o estudo somente após análise das razões da descontinuidade pelo CEP que o aprovou (Res. CNS Item III.1.z), exceto quando perceber risco ou dano não previsto ao sujeito participante ou quando constatar a superioridade do regime oferecido a um dos grupos de

Endereço: Rua Tessália Vieira de Camargo, 126
Bairro: Barão Geraldo **CEP:** 13.083-887
UF: SP **Município:** CAMPINAS
Telefone: (19)3521-8936 **Fax:** (19)3521-7187 **E-mail:** cep@fcm.unicamp.br

FACULDADE DE CIÊNCIAS
MÉDICAS - UNICAMP
(CAMPUS CAMPINAS)



Continuação do Parecer: 797.502

pesquisa (Item V.3.).

-O CEP deve ser informado de todos os efeitos adversos ou fatos relevantes que alterem o curso normal do estudo (Res. CNS Item V.4.). É papel do pesquisador assegurar medidas imediatas adequadas frente a evento adverso grave ocorrido (mesmo que tenha sido em outro centro) e enviar notificação ao CEP e à Agência Nacional de Vigilância Sanitária – ANVISA – junto com seu posicionamento. Eventuais modificações ou emendas ao protocolo devem ser apresentadas ao CEP de forma clara e sucinta, identificando a parte do protocolo a ser modificada e suas justificativas. Em caso de projeto do Grupo I ou II apresentados anteriormente à ANVISA, o pesquisador ou patrocinador deve enviá-las também à mesma junto com o parecer aprovatório do CEP, para serem juntadas ao protocolo inicial (Res. 251/97, Item III.2.e)

-Relatórios parciais e final devem ser apresentados ao CEP, de acordo com os prazos estabelecidos na Resolução CNS-MS 196/96.

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

-Projeto aprovado CAAE: 0047.1.146.000-08 (13/03/08):O projeto "PROPOSTA PARA INSERÇÃO DA GENÉTICA CLÍNICA NA ATENÇÃO DE PORTADORES DE ANOMALIAS CRANIOFACIAIS NO SISTEMA ÚNICO DE SAÚDE" Homologado na II Reunião Ordinária do CEP/FCM, em 26 de fevereiro de 2008.

-Adendo aprovado (28/07/09):O Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Ciências Médicas da UNICAMP tomou ciência e aprovou o Adendo que inclui o questionário com finalidade de colher informações sobre as características e necessidades dos profissionais de saúde da rede SUS ao atendimento de pessoas com fendas labiopalatinas, referente ao protocolo de pesquisa supracitado

-Adendo aprovado (27/04/10): O Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Ciências Médicas da UNICAMP tomou ciência e aprovou a exclusão do Centrinho Prefeito Luiz Gomes (Joinville/SC), referente ao protocolo de pesquisa supracitado.

-Adendo aprovado (25/02/14):O Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Ciências Médicas da UNICAMP tomou ciência e aprovou a inclusão do centro CADEFI (Centro de Atenção aos Defeitos da Face/IMIP, Pernambuco), referente ao protocolo de pesquisa supracitado. O conteúdo e as conclusões aqui apresentados são de responsabilidade exclusiva do CEP/FCM/UNICAMP e não

Endereço: Rua Tessália Vieira de Camargo, 126
Bairro: Barão Geraldo **CEP:** 13.083-887
UF: SP **Município:** CAMPINAS
Telefone: (19)3521-8936 **Fax:** (19)3521-7187 **E-mail:** cep@fcm.unicamp.br

FACULDADE DE CIÊNCIAS
MÉDICAS - UNICAMP
(CAMPUS CAMPINAS)



Continuação do Parecer: 797.502

representam a opinião da Universidade Estadual de Campinas nem a comprometem.

-Adendo aprovado (25/02/14): O Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Ciências Médicas da UNICAMP tomou ciência e aprovou o adendo que inclui o subprojeto "CONSOLIDAÇÃO DA ESTRATÉGIA MULTICÊNTRICA EM GENÉTICO PARA BASE DE DADOS CLÍNICOS E INVESTIGAÇÃO DIAGNÓSTICA DE FENDAS OROFACIAIS" e a nova versão do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido, referente ao protocolo de pesquisa supracitado.

-Adendo aprovado (24/06/08): O Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Ciências Médicas da UNICAMP tomou ciência e aprovou o Adendo que acrescenta o projeto intitulado "ESTUDO MULTICÊNTRICO PARA VALIDAÇÃO DE BASE DE DADOS E DE ESTRATÉGIA PARA INVESTIGAÇÃO DIAGNÓSTICA DE FENDAS OROFACIAIS NO BRASIL", referente ao protocolo de pesquisa supracitado.

-Emenda aprovada (27/09/11): O Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Ciências Médicas da UNICAMP tomou ciência e aprovou a aplicação das novas técnicas Open array e SNP array, referente ao protocolo de pesquisa supracitado. O conteúdo e as conclusões aqui apresentados são de responsabilidade exclusiva do CEP/FCM/UNICAMP e não representam a opinião da Universidade Estadual de Campinas nem a comprometem.

-Emenda aprovada (17/02/09): O Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Ciências Médicas da UNICAMP tomou ciência e aprovou a inserção do levantamento dos dados do acesso ao Ambulatório de Dismorfologia Craniofacial/HC/UNICAMP, no período de 1998 a 2008, referente ao protocolo de pesquisa supracitado.

-Regulamento do Biorrepositório aprovado (26/06/12): O Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Ciências Médicas da UNICAMP tomou ciência e aprova o Regulamento do Biorrepositório de Indivíduos e Familiares Registrados no Banco de Dados de fendas Orofaciais do Brasil, às diretrizes da Resolução CNS/MS 441/11 de 12 de maio de 2011 e que regulamenta o armazenamento e utilização de material biológico humano no âmbito de Projetos de Pesquisa e a nova versão do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (datado de 23/05/12), referente ao protocolo de pesquisa supracitado.

Endereço: Rua Tessália Vieira de Camargo, 126
Bairro: Barão Geraldo **CEP:** 13.083-887
UF: SP **Município:** CAMPINAS
Telefone: (19)3521-8936 **Fax:** (19)3521-7187 **E-mail:** cep@fcm.unicamp.br

FACULDADE DE CIÊNCIAS
MÉDICAS - UNICAMP
(CAMPUS CAMPINAS)



Continuação do Parecer: 797.502

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

Considerações Finais a critério do CEP:

-O sujeito da pesquisa tem a liberdade de recusar-se a participar ou de retirar seu consentimento em qualquer fase da pesquisa, sem penalização alguma e sem prejuízo ao seu cuidado (Res. CNS 196/96 – Item IV.1.f) e deve receber uma cópia do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido, na íntegra, por ele assinado (Item IV.2.d).

-Pesquisador deve desenvolver a pesquisa conforme delineada no protocolo aprovado e descontinuar o estudo somente após análise das razões da descontinuidade pelo CEP que o aprovou (Res. CNS Item III.1.z), exceto quando perceber risco ou dano não previsto ao sujeito participante ou quando constatar a superioridade do regime oferecido a um dos grupos de pesquisa (Item V.3.).

-O CEP deve ser informado de todos os efeitos adversos ou fatos relevantes que alterem o curso normal do estudo (Res. CNS Item V.4.). É papel do pesquisador assegurar medidas imediatas adequadas frente a evento adverso grave ocorrido (mesmo que tenha sido em outro centro) e enviar notificação ao CEP e à Agência Nacional de Vigilância Sanitária – ANVISA – junto com seu posicionamento.

-Eventuais modificações ou emendas ao protocolo devem ser apresentadas ao CEP de forma clara e sucinta, identificando a parte do protocolo a ser modificada e suas justificativas. Em caso de projeto do Grupo I ou II apresentados anteriormente à ANVISA, o pesquisador ou patrocinador deve enviá-las também à mesma junto com o parecer aprovatório do CEP, para serem juntadas ao protocolo inicial (Res. 251/97, Item III.2.e)

-Relatórios parciais e final devem ser apresentados ao CEP, de acordo com os prazos estabelecidos na Resolução CNS-MS 196/96.

Endereço: Rua Tessália Vieira de Camargo, 126
Bairro: Barão Geraldo **CEP:** 13.083-887
UF: SP **Município:** CAMPINAS
Telefone: (19)3521-8936 **Fax:** (19)3521-7187 **E-mail:** cep@fcm.unicamp.br

FACULDADE DE CIENCIAS
MEDICAS - UNICAMP
(CAMPUS CAMPINAS)



Continuação do Parecer: 797.502

CAMPINAS, 19 de Setembro de 2014

Assinado por:
Monica Jacques de Moraes
(Coordenador)

Endereço: Rua Tessália Vieira de Camargo, 126
Bairro: Barão Geraldo **CEP:** 13.083-887
UF: SP **Município:** CAMPINAS
Telefone: (19)3521-8936 **Fax:** (19)3521-7187 **E-mail:** cep@fcm.unicamp.br



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: Base Brasileira de Anomalias Craniofaciais

Pesquisador: Vera Lúcia Gil da Silva Lopes

Área Temática: Genética Humana:

(Trata-se de pesquisa envolvendo Genética Humana que não necessita de análise ética por parte da CONEP;);

Versão: 3

CAAE: 85020018.8.0000.5404

Instituição Proponente: Faculdade de Ciências Médicas - UNICAMP

Patrocinador Principal: FUNDAÇÃO DE AMPARO A PESQUISA DO ESTADO DE ALAGOAS
MINISTERIO DA CIENCIA, TECNOLOGIA E INOVACAO
FUNDAÇÃO DE AMPARO A PESQUISA DO ESTADO DE SAO PAULO
Universidade Estadual de Campinas - UNICAMP

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 2.630.458

Apresentação do Projeto:

Este projeto visa reconhecer características da população brasileira com anomalias craniofaciais (ACF) por meio da coleta padronizada de informações sociodemográficas, clínicas e genéticas de indivíduos com ACF. Este será desenvolvido por meio de entrevista com pais (ou responsáveis) ou o próprio indivíduo com ACF (pessoalmente ou por telefone), realização de exames subsidiários e testes genéticos para esclarecimento diagnóstico individual, comparação entre resultados de exames anônimos para definição de características etiológicas populacionais, registro do seguimento clínico padronizado, armazenamento de fotos, gravações de áudio e vídeos para o reconhecimento da história natural das diferentes condições clínicas com ACF. O instrumento de coleta de dados on line (CranFlow) foi desenvolvido e implantado anteriormente por este grupo de pesquisa; as informações são armazenadas em ambiente digital seguro. Haverá armazenamento de amostras em biorrepositório regulamentado já existente. Como benefício individual, este projeto poderá realizar testes genéticos ainda não disponíveis no serviço em que o paciente é atendido, esclarecer o diagnóstico e permitir aconselhamento genético. Como benefício coletivo, a caracterização de fatores de risco populacionais para ACF específicas, o reconhecimento de obstáculos na atenção à saúde e elaboração de propostas para seu incremento, assim como de

Endereço: Rua Tessália Vieira de Camargo, 126
Bairro: Barão Geraldo **CEP:** 13.083-887
UF: SP **Município:** CAMPINAS
Telefone: (19)3521-8936 **Fax:** (19)3521-7187 **E-mail:** cep@fcm.unicamp.br



Continuação do Parecer: 2.630.458

educação. Ainda, é prevista a divulgação de dados anônimos em bases de dados nacionais e internacionais para permitir a comparação de características clínicas e genéticas de pessoas no Brasil e em outros países.

Objetivo da Pesquisa:

Objetivo Primário:

Realizar registro primário e seguimento longitudinal de indivíduos com Anomalias Craniofaciais (ACF) e Doenças raras com envolvimento craniofacial (DR) por meio da CranFlow..

Objetivo Secundário:

- Identificar fatores de risco e necessidades de saúde específicas de diferentes grupos populacionais com ACF e DR.
- Realizar investigação etiológica em genética utilizando diferentes métodos e técnicas laboratoriais.
- Desenvolver programas de educação em saúde para população e de educação continuada para profissionais da saúde.

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Segundo informações da pesquisadora responsável:

Riscos: A participação nesse estudo pode gerar dor durante a coleta de sangue periférico e formação de manchas roxas na região onde foi introduzida a agulha. Será garantida coleta por profissional habilitado. Não há risco previsível adicional relacionado ao procedimento cirúrgico. A coleta de informações socioeconômicas, médicas e familiares será realizada durante horário previamente agendado, no mesmo dia, período e local de consulta do paciente e após explicação sobre os objetivos do estudo aos indivíduos e (ou) seus responsáveis. Todo este processo tem duração de 40 a 50 minutos. A captura de imagens clínicas (fotos e /ou vídeos) e de voz podem gerar estranheza e timidez nos participantes do estudo. Para que estes se sintam mais confortáveis, serão tomadas medidas para garantir a privacidade durante os procedimentos. A obtenção de retalho cirúrgico ocorrerá exclusivamente em conformidade com o plano terapêutico estabelecido pelo cirurgião assistente. Os possíveis desconfortos são inerentes ao procedimento cirúrgico e independem da sua utilização em pesquisa.

Benefícios: Do ponto de vista individual, não haverá qualquer forma de pagamento ou remuneração aos indivíduos que participarem deste estudo. Entretanto, este permitirá a investigação diagnóstica de indivíduos e famílias com ACF e DR. Nos casos com conclusão

Endereço: Rua Tessália Vieira de Camargo, 126
Bairro: Barão Geraldo **CEP:** 13.083-887
UF: SP **Município:** CAMPINAS
Telefone: (19)3521-8936 **Fax:** (19)3521-7187 **E-mail:** cep@fcm.unicamp.br



Continuação do Parecer: 2.630.458

etiológica, esta permitirá acompanhamento clínico apropriado e aconselhamento genético individualizado para os interessados. Este último é garantido pelos médicos geneticistas envolvidos no estudo. Do ponto de vista populacional, os conhecimentos obtidos ao longo da pesquisa poderão ajudar a reconhecer fatores e risco e compreender a etiopatogenia e a história natural de ACF e DR. Este conhecimento é útil para embasar propostas de educação em saúde e de educação continuada para profissionais da saúde. Os dados gerais também poderão contribuir para subsidiar políticas públicas na área. A disponibilização de resultados genéticos anônimos em plataformas de uso público permite, a longo prazo, o reconhecimento de características da população e a identificação de estratégias custo-efetivas para investigação diagnóstica.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

Trata-se de projeto de pesquisa envolvendo, além da proponente (docente titular do Depto. de Genética Médica-Faculdade de Ciências Médicas (FCM)-Unicamp); 2 outros docentes desse mesmo Depto.; 1 aluna de doutorado, Departamento de Genética Médica, FCM-Unicamp; 1 médica Geneticista Assistente do Programa de Genética Perinatal do Hospital Prof. Dr. José Aristodemo Pinotti (CAISM-Unicamp); 1 docente, Faculdade de Medicina de São José do Rio Preto, Departamento de Biologia Molecular, Laboratório de Genética; 1 médica Geneticista, Hospital de Clínicas de Porto Alegre, Serviço de Genética Médica; 1 Fonoaudióloga, Centrinho Prefeito Luiz Gomes, Prefeitura Municipal de Joinville-SC; 1 médica Geneticista, Associação Reabilitação e Promoção Social Fissura do Lábio Palatal-Curitiba-PR; 1 médica Geneticista, Hospital Infantil Albert Sabin, Genética Médica-Fortaleza-CE; 1 docente, Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Centro de Ciências da Saúde, Departamento de Análises Clínicas e Toxicológicas-Natal-RN; 1 médico Cirurgião, Instituto de Medicina Integral Professor Fernando Figueira-Recife-PE; 1 enfermeira, Instituto de Medicina Integral Professor Fernando Figueira-Recife-PE; 1 docente, Universidade Federal de Alagoas, Hospital Universitário, Serviço de Genética Clínica-Maceió-AL. Este projeto conta com apoio financeiro das Fundações de Amparo à Pesquisa dos estados de São Paulo e de Alagoas, do Ministério da Ciência, Tecnologia e Inovação e da Unicamp e o mesmo envolverá 4000 participantes. Local da Pesquisa: Faculdade de Ciências Médicas- Unicamp. Trata-se de projeto de longo prazo, em que será proposto de maneira parcial para diferentes agências e editais para fomento. A estratégia aqui proposta é continuação do projeto "Proposta para a Inserção da Genética Clínica na atenção à saúde de portadores de anomalias craniofaciais aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Ciências Médicas/UNICAMP (059/2008) e Conselho Nacional de Ética em Pesquisa - CONEP (7016) e nos demais centros

Endereço: Rua Tessália Vieira de Camargo, 126
Bairro: Barão Geraldo **CEP:** 13.083-887
UF: SP **Município:** CAMPINAS
Telefone: (19)3521-8936 **Fax:** (19)3521-7187 **E-mail:** cep@fcm.unicamp.br



Continuação do Parecer: 2.630.458

participantes. (CAAE 35316314.9.1001.5404). Assim, já existem na BBAC 2000 indivíduos registrados. Solicita -se: a) Para os 2000 casos anteriormente registrados, dispensa de novo Termo de Consentimento, visto que este já assinaram o anterior com o mesmo objetivo. b) A transferência de amostras o biorrepositório do projeto anterior para este projeto, a fim de que sejam utilizadas para os mesmos fins propostos. Em conformidade com recomendações internacionais, os sujeitos de pesquisa serão convidados a disponibilizar dados genético-clínicos de maneira anônima em bases de dados acessíveis à consulta pública. Metodologia Proposta: Este projeto utiliza coleta de informações on line de acesso seguro, por meio da aplicação do questionário CranFlow. Esta será utilizada conforme método já estabelecido (Volpe-Aquino et al., 2017) para realizar o registro primário das informações socioeconômicas, médicas e familiares, assim como o seguimento longitudinal de indivíduos com ACF e DR, colhidos em consulta ambulatorial e completados, quando necessário, por entrevista telefônica. Imagens clínicas, sob forma de fotografias e/ou vídeos e registro de voz, serão colhidas para permitir análise comparativa e evolutiva do fenótipo, para utilização em publicações e reuniões científicas e em atividades de educação em saúde e educação continuada. Serão coletadas amostras biológicas para testes genéticos de acordo com a necessidade de cada caso: sangue, saliva, urina e fragmentos de tecido (pele, mucosa, músculo) resultantes de descarte de procedimento cirurgico previsto no plano de tratamento. Haverá extração de DNA e realização de cultura celular. As amostras serão armazenadas em biorrepositório já constituído em projeto anterior do mesmo grupo de pesquisa. Os testes genéticos poderão incluir diferentes técnicas: cariótipo, MLPÂ, FISH, Hibridação genômica em arrays, sequenciamento de Sanger e de Nova Geração; outras técnicas mais modernas que tenham objetivos similares poderão ser incorporadas. É previsto serviços de terceiros para testes laboratoriais.

Critério de Inclusão:

Famílias ou indivíduos em qualquer idade, com ou sem tratamento prévio, que apresentem Fendas Orais Típicas, Fendas Orais Atípicas, S. deleção 22q11.2, Sequência de Pierre-Robin, Microssomia Craniofacial, Holoprosencefalia, Craniossinostoses, Displasias ectodérmicas, Outras doenças genéticas raras com envolvimento craniofacial.

Critério de Exclusão:

Famílias ou indivíduos sem anomalias craniofaciais ou com doenças genéticas raras sem envolvimento craniofacial.

Metodologia de Análise de Dados:

As variáveis relacionadas às informações socioeconômicas, médicas e familiares serão extraídas

Endereço: Rua Tessália Vieira de Camargo, 126
Bairro: Barão Geraldo **CEP:** 13.083-887
UF: SP **Município:** CAMPINAS
Telefone: (19)3521-8936 **Fax:** (19)3521-7187 **E-mail:** cep@fcm.unicamp.br



Continuação do Parecer: 2.630.458

diretamente da CranFlow. Os dados serão tabulados utilizando o programa Excel. A análise será realizada com auxílio de programas estatísticos como EpiInfo, SPSS e STATA dentre outros, em suas versões atualizadas. Inicialmente será feita análise descritiva das variáveis; métodos complementares serão utilizados de acordo com o recorte do estudo, das ACF e DR selecionadas. Em todas as análises será adotado nível de significância de 5% ($p < 0,05$). Quando necessário, ferramentas de bioinformática serão empregadas. Para interpretação de variantes de significado incerto será utilizado dados do grupo controle da população brasileira, conforme já descrito.

Número de participantes da pesquisa: Microssomia Craniofacial: 150 participantes.

Avaliação e seguimento clínicos; coleta e armazenagem de amostra biológica; investigação etiológica, genética e laboratorial; aconselhamento genético Outras anomalias craniofaciais e doenças raras: 400 participantes. Avaliação e seguimento clínicos; coleta e armazenagem de amostra biológica; investigação etiológica, genética e laboratorial; aconselhamento genético. fendas orais típicas: 2.800 participantes. Avaliação e seguimento clínicos; coleta e armazenagem de amostra biológica; investigação etiológica, genética e laboratorial; aconselhamento genético. Sequencia de Pierre-Robin: 150 participantes. Avaliação e seguimento clínicos; coleta e armazenagem de amostra biológica; investigação etiológica, genética e laboratorial; aconselhamento genético. S. deleção 22q11.2: 400 participantes. Avaliação e seguimento clínicos; coleta e armazenagem de amostra biológica; investigação etiológica, genética e laboratorial; aconselhamento genético. fendas orais atípicas: 100 participantes. Avaliação e seguimento clínicos; coleta e armazenagem de amostra biológica; investigação etiológica, genética e laboratorial; aconselhamento genético.

O Cronograma apresentado revela que este projeto terá duração de 10 anos com início, em todos os centros participantes, em Junho 2018. O orçamento é de R\$1.100.000,00, com recursos das fontes mencionadas.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Foram apresentadas a Folha de Rosto, assinada pelo Diretor Associado da Faculdade de Ciências Médicas-Unicamp, o documento com Informações Básicas do Projeto, o projeto detalhado, o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido, o Regulamento do Biorrepositório de Indivíduos e Famílias Registrados no Banco de Dados de Fendas Orofaciais do Brasil, o Regulamento de Biorrepositório vinculado a projeto de pesquisa (Base Brasileira de Anomalias Craniofaciais)-Departamento de Genética Médica-Laboratório de Citogenética Humana e Citogenômica- Faculdade de Ciências Médicas-Unicamp, o Termo de Assentimento Livre e Esclarecido (TALE,

Endereço: Rua Tessália Vieira de Camargo, 126	
Bairro: Barão Geraldo	CEP: 13.083-887
UF: SP	Município: CAMPINAS
Telefone: (19)3521-8936	Fax: (19)3521-7187
	E-mail: cep@fcm.unicamp.br



Continuação do Parecer: 2.630.458

relativo ao PROJETO CRÂNIO FACE BRASIL, Título do Projeto: "BASE DE DADOS BRASILEIRA DE ANOMALIAS CRANIOFACIAIS") e o Parecer anterior CONEP_7092008.pdf. A estratégia aqui proposta é continuação do projeto "Proposta para a Inserção da Genética Clínica na atenção à saúde de portadores de anomalias craniofaciais aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Ciências Médicas/UNICAMP (059/2008) e Conselho Nacional de Ética em Pesquisa - CONEP (7016) e nos demais centros participantes. (CAAE 35316314.9.1001.5404). Assim, já existem na BBAC 2.000 indivíduos registrados. Por isso, solicita-se: a) Para os casos anteriormente registrados, dispensa de no Termo de Consentimento, com a justificativa de que todos participantes e (ou) seus responsáveis autorizaram a participação no estudo, através da assinatura do TCLE vigente na época. b) A transferência de amostras do biorrepositório do projeto anterior para este projeto, a fim de que sejam utilizadas para os mesmos fins propostos.

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Lista de pendências e inadequações emitidas no parecer CEP N°2.609.963:

1- Quanto ao documento anexado "Projeto_BBAC_Final_2018.pdf 09/03/2018 17:32:10" item resumo, pag7, Lê-se: "Haverá armazenamento de amostras em biorrepositório regulamentado já existente." e no item Coleta e armazenamento de material biológico , página 12: "Todo material biológico coletado será armazenado em biorrepositório sediado na FCM-Unicamp (CAAE: 0047.1.146.000.08)". De acordo com a Resolução 441/11, o material biológico coletado deve ficar armazenado no biorrepositório vinculado a pesquisa em questão e não ao biorrepositório de outra pesquisa. Além do mais, a pesquisadora solicita no documento anexado "PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_PROJETO_1030540.pdf 09/03/ 2018 1 8:18:32", item "Outras informações, justificativas ou considerações a critério do pesquisador": "A transferência de amostras o biorrepositório do projeto anterior para este projeto, a fim de que sejam utilizadas para os mesmos fins propostos.". Solicita-se adequações em relação a estas informações e que seja encaminhado o relatório (via papel) referente ao protocolo de pesquisa CAAE: 0047.1.146.000.08, informando se o protocolo continuará em andamento ou será finalizado com a transferência das amostras para este projeto. Resposta (1): Segundo informações da pesquisadora contemplada na carta resposta anexada: " O resumo e o corpo do texto (página 12) foram alterados conforme solicitação. Este projeto é continuidade do estudo anterior, que será finalizado, com respectivo encaminhamento de relatório final e a transferência de material para este novo biorrepositório, após o presente estudo estar regularizado. Isto é necessário para garantir aos participantes atuais a possibilidade de realizarem

Endereço: Rua Tessália Vieira de Camargo, 126
Bairro: Barão Geraldo **CEP:** 13.083-887
UF: SP **Município:** CAMPINAS
Telefone: (19)3521-8936 **Fax:** (19)3521-7187 **E-mail:** cep@fcm.unicamp.br



Continuação do Parecer: 2.630.458

coleta de material biológico em qualquer momento, na perspectiva de que a investigação diagnóstica ocorrerá na vigência do projeto agora em tramitação”. Análise (1): A pesquisadora deverá inserir o novo regulamento do biorrepositório vinculado a este protocolo de pesquisa. **PENDÊNCIA PARCIALMENTE ATENDIDA.**

Resposta (2): O regulamento foi inserido.

Análise (2): **PENDÊNCIA ATENDIDA.**

2- De acordo com a Resolução 466/12, IX.4, item 1.2, o projeto configura área temática especial, genética humana, quando envolver o armazenamento de material biológico ou dados genéticos humanos no exterior e no País, quando de forma conveniada com instituições estrangeiras ou em instituições comerciais. Na etapa dois do cadastro do projeto junto a Plataforma Brasil a área temática especial deverá ser selecionada, uma vez que a pesquisa prevê a divulgação de dados anônimos em bases de dados nacionais e internacionais para permitir a comparação de características clínicas e genéticas de pessoas no Brasil e em outros países. Solicitamos adequações e que sejam inseridas além das versões dos documentos em pdf as versões em doc, pois assim que o protocolo de pesquisa for aprovado no CEP local ele será automaticamente direcionado para apreciação ética da CONEP.

Resposta (1): Segundo informações da pesquisadora contemplada na carta resposta anexada: “A área temática especial será selecionada por ocasião do envio desta nova versão do projeto. Esclarece-se que não haverá depósito de amostras biológicas em laboratórios estrangeiros. Entretanto, é possível que, em benefício do sujeito de pesquisa, havendo oportunidade de investigação laboratorial diagnóstica de doença rara em outro país, prevê-se o envio de amostra com este fim. Prevê-se o depósito de dados anonimizados em bases de dados nacionais e internacionais, o que permite a divulgação de informações genéticas e história natural de anomalias craniofaciais raras, favorecendo a investigação e o seguimento clínico de novos casos”.

Análise (1): A pesquisadora deverá informar a instituição estrangeira que as amostras biológicas serão enviadas, e neste caso, deverá inserir o Termo de Transferência de Material Biológico (TMB). Em relação ao depósito de dados em bases de dados internacionais, a pesquisadora deverá informar em que país, local e o responsável pela base de dados internacional. Caso a pesquisadora não tenha, neste momento, as parcerias estabelecidas com os pesquisadores/instituições que deverão receber as amostras e os dados, estas informações poderão ser excluídas deste protocolo e propor inicialmente uma pesquisa em território nacional, neste caso não será necessário habilitar a área temática especial. Caso no futuro surja a intenção (e as parcerias já esteja estabelecidas)

Endereço: Rua Tessália Vieira de Camargo, 126
Bairro: Barão Geraldo **CEP:** 13.083-887
UF: SP **Município:** CAMPINAS
Telefone: (19)3521-8936 **Fax:** (19)3521-7187 **E-mail:** cep@fcm.unicamp.br



Continuação do Parecer: 2.630.458

para o envio das amostras e dos dados para o exterior, a pesquisadora poderá inserir uma emenda com estas solicitações e habilitar a área temática especial. Neste caso a emenda será avaliada pelo CEP local e pela CONEP. **PENDÊNCIA NÃO ATENDIDA.**

Resposta (2): Segundo informações da pesquisadora contempladas em carta resposta anexada "Resposta_pendencias2.pdf 24/04/2018 16:29:03": "Foi retirada a informação sobre envio de amostras biológicas. Com relação às bases de dados, informo que já é prevista a divulgação de dados no BIPMed, plataforma brasileira sediada na Universidade Estadual de Campinas, sob a coordenação da Profa. Dra. Íscia Lopes Cendes, do Depto de Genética Médica, sem convênio com Instituição Estrangeira ou comercial (regulamento em anexo)"

Análise (2): **PENDÊNCIA ATENDIDA.**

Considerações Finais a critério do CEP:

- O participante da pesquisa deve receber uma via do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido, na íntegra, por ele assinado (quando aplicável).

- O participante da pesquisa tem a liberdade de recusar-se a participar ou de retirar seu consentimento em qualquer fase da pesquisa, sem penalização alguma e sem prejuízo ao seu cuidado (quando aplicável).

- O pesquisador deve desenvolver a pesquisa conforme delineada no protocolo aprovado. Se o pesquisador considerar a descontinuação do estudo, esta deve ser justificada e somente ser realizada após análise das razões da descontinuidade pelo CEP que o aprovou. O pesquisador deve aguardar o parecer do CEP quanto à descontinuação, exceto quando perceber risco ou dano não previsto ao participante ou quando constatar a superioridade de uma estratégia diagnóstica ou terapêutica oferecida a um dos grupos da pesquisa, isto é, somente em caso de necessidade de ação imediata com intuito de proteger os participantes.

- O CEP deve ser informado de todos os efeitos adversos ou fatos relevantes que alterem o curso normal do estudo. É papel do pesquisador assegurar medidas imediatas adequadas frente a evento adverso grave ocorrido (mesmo que tenha sido em outro centro) e enviar notificação ao CEP e à Agência Nacional de Vigilância Sanitária – ANVISA – junto com seu posicionamento.

Endereço: Rua Tessália Vieira de Camargo, 126
Bairro: Barão Geraldo **CEP:** 13.083-887
UF: SP **Município:** CAMPINAS
Telefone: (19)3521-8936 **Fax:** (19)3521-7187 **E-mail:** cep@fcm.unicamp.br



Continuação do Parecer: 2.630.458

- Eventuais modificações ou emendas ao protocolo devem ser apresentadas ao CEP de forma clara e sucinta, identificando a parte do protocolo a ser modificada e suas justificativas e aguardando a aprovação do CEP para continuidade da pesquisa. Em caso de projetos do Grupo I ou II apresentados anteriormente à ANVISA, o pesquisador ou patrocinador deve enviá-las também à mesma, junto com o parecer aprovatório do CEP, para serem juntadas ao protocolo inicial.

- Relatórios parciais e final devem ser apresentados ao CEP, inicialmente seis meses após a data deste parecer de aprovação e ao término do estudo.

- Lembramos que segundo a Resolução 466/2012, item XI.2 letra e, "cabe ao pesquisador apresentar dados solicitados pelo CEP ou pela CONEP a qualquer momento".

- O pesquisador deve manter os dados da pesquisa em arquivo, físico ou digital, sob sua guarda e responsabilidade, por um período de 5 anos após o término da pesquisa.

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_PROJETO_1030540.pdf	24/04/2018 16:32:56		Aceito
Outros	carta_CEP_BIPMed.pdf	24/04/2018 16:29:27	Vera Lúcia Gil da Silva Lopes	Aceito
Outros	Resposta_pendencias2.pdf	24/04/2018 16:29:03	Vera Lúcia Gil da Silva Lopes	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	Projeto_BBAC_2018_v3.pdf	24/04/2018 16:27:45	Vera Lúcia Gil da Silva Lopes	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TALE2_projeto_BD_ACF_2018_v2.pdf	14/04/2018 08:25:47	Vera Lúcia Gil da Silva Lopes	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TALE1_projeto_BD_ACF_2018.pdf	14/04/2018 08:24:13	Vera Lúcia Gil da Silva Lopes	Aceito
TCLE / Termos de	TCLE_BD_ACF_2018_v2.pdf	14/04/2018	Vera Lúcia Gil da	Aceito

Endereço: Rua Tessália Vieira de Camargo, 126
Bairro: Barão Geraldo **CEP:** 13.083-887
UF: SP **Município:** CAMPINAS
Telefone: (19)3521-8936 **Fax:** (19)3521-7187 **E-mail:** cep@fcm.unicamp.br



Continuação do Parecer: 2.630.458

Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLE_BD_ACF_2018_v2.pdf	08:23:27	Silva Lopes	Aceito
Outros	Comprovante_vinculo.jpg	09/03/2018 18:16:06	Vera Lúcia Gil da Silva Lopes	Aceito
Outros	Regulamento_Biorrepositorio_BBAC_no vo.pdf	09/03/2018 17:36:09	Vera Lúcia Gil da Silva Lopes	Aceito
Outros	Regulamento_biorrepositorio_2012.pdf	09/03/2018 17:35:35	Vera Lúcia Gil da Silva Lopes	Aceito
Parecer Anterior	CONEP_7092008.pdf	09/03/2018 17:34:03	Vera Lúcia Gil da Silva Lopes	Aceito
Folha de Rosto	Folha_de_rosto.pdf	09/03/2018 17:31:51	Vera Lúcia Gil da Silva Lopes	Aceito

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

CAMPINAS, 02 de Maio de 2018

Assinado por:
Renata Maria dos Santos Celeghini
(Coordenador)

Endereço: Rua Tessália Vieira de Camargo, 126
Bairro: Barão Geraldo **CEP:** 13.083-887
UF: SP **Município:** CAMPINAS
Telefone: (19)3521-8936 **Fax:** (19)3521-7187 **E-mail:** cep@fcm.unicamp.br



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DA EMENDA

Título da Pesquisa: Base Brasileira de Anomalias Craniofaciais

Pesquisador: Vera Lúcia Gil da Silva Lopes

Área Temática: Genética Humana:

(Trata-se de pesquisa envolvendo Genética Humana que não necessita de análise ética por parte da CONEP;);

Versão: 10

CAAE: 85020018.8.0000.5404

Instituição Proponente: Faculdade de Ciências Médicas - UNICAMP

Patrocinador Principal: FUNDAÇÃO DE AMPARO A PESQUISA DO ESTADO DE ALAGOAS
MINISTERIO DA CIENCIA, TECNOLOGIA E INOVACAO
FUNDAÇÃO DE AMPARO A PESQUISA DO ESTADO DE SAO PAULO
Universidade Estadual de Campinas - UNICAMP

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 5.793.369

Apresentação do Projeto:

Esta versão trata-se de uma emenda que visa inserir a aluna de mestrado do Programa de Pós Graduação em Ciências Médicas, área de Genética, Tamiris Nogueira Bezerra, intitulado: "CARACTERIZAÇÃO DO ACESSO AO DIAGNÓSTICO ETIOLÓGICO PARA INDIVÍDUOS COM ANOMALIAS EM AMOSTRA ATENDIDA NO HC-UNICAMP", que já está previsto como objetivos secundários do projeto principal.

Objetivo da Pesquisa:

Mantidos em relação ao projeto original.

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Mantidos em relação ao projeto original.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

De acordo com as informações do pesquisador responsável contempladas no documento anexado "Resposta_23nov2022.pdf 23/11/2022 07:26:32":

"Tem esta o objetivo de informar que o subprojeto da aluna de mestrado do Programa de Pós

Endereço: Rua Tessália Vieira de Camargo, 126, 1º andar do Prédio I da Faculdade de Ciências Médicas
Bairro: Barão Geraldo **CEP:** 13.083-887
UF: SP **Município:** CAMPINAS
Telefone: (19)3521-8936 **Fax:** (19)3521-7187 **E-mail:** cep@unicamp.br



Continuação do Parecer: 5.793.369

Graduação em Ciências Médicas, área de Genética, Tamiris Nogueira Bezerra, CPF 389618828-30, intitulado "CARACTERIZAÇÃO DO ACESSO AO DIAGNÓSTICO ETIOLÓGICO PARA INDIVÍDUOS COM ANOMALIAS EM AMOSTRA ATENDIDA NO HC-UNICAMP" está previsto como objetivos secundários no projeto "Base Brasileira de Anomalias Craniofaciais" (CAAE: 85020018.8.0000.5404).

Os objetivos e métodos diagnósticos, devidamente destacados em amarelo no texto do projeto utilizarão somente dados de indivíduos registrados na Base Brasileira de Anomalias Craniofaciais do Hospital de Clínicas da Unicamp e CAISM- Unicamp cujas amostras biológicas já se encontram no biorrepositório vinculado a este projeto."

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Vide campo abaixo "Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações"

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Emenda aprovada.

Considerações Finais a critério do CEP:

- O participante da pesquisa deve receber uma via do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido, na íntegra, por ele assinado (quando aplicável).

- O participante da pesquisa tem a liberdade de recusar-se a participar ou de retirar seu consentimento em qualquer fase da pesquisa, sem penalização alguma e sem prejuízo ao seu cuidado (quando aplicável).

- O pesquisador deve desenvolver a pesquisa conforme delineada no protocolo aprovado. Se o pesquisador considerar a descontinuação do estudo, esta deve ser justificada e somente ser realizada após análise das razões da descontinuidade pelo CEP que o aprovou. O pesquisador deve aguardar o parecer do CEP quanto à descontinuação, exceto quando perceber risco ou dano não previsto ao participante ou quando constatar a superioridade de uma estratégia diagnóstica ou terapêutica oferecida a um dos grupos da pesquisa, isto é, somente em caso de necessidade de ação imediata com intuito de proteger os participantes.

- O CEP deve ser informado de todos os efeitos adversos ou fatos relevantes que alterem o curso normal do estudo. É papel do pesquisador assegurar medidas imediatas adequadas frente a evento

Endereço: Rua Tessália Vieira de Camargo, 126, 1º andar do Prédio I da Faculdade de Ciências Médicas
Bairro: Barão Geraldo **CEP:** 13.083-887
UF: SP **Município:** CAMPINAS
Telefone: (19)3521-8936 **Fax:** (19)3521-7187 **E-mail:** cep@unicamp.br



Continuação do Parecer: 5.793.369

adverso grave ocorrido (mesmo que tenha sido em outro centro) e enviar notificação ao CEP e à Agência Nacional de Vigilância Sanitária – ANVISA – junto com seu posicionamento.

- Eventuais modificações ou emendas ao protocolo devem ser apresentadas ao CEP de forma clara e sucinta, identificando a parte do protocolo a ser modificada e suas justificativas e aguardando a aprovação do CEP para continuidade da pesquisa. Em caso de projetos do Grupo I ou II apresentados anteriormente à ANVISA, o pesquisador ou patrocinador deve enviá-las também à mesma, junto com o parecer aprovatório do CEP, para serem juntadas ao protocolo inicial.

- Relatórios parciais e final devem ser apresentados ao CEP, inicialmente seis meses após a data deste parecer de aprovação e ao término do estudo.

- Lembramos que segundo a Resolução 466/2012, item XI.2 letra e, "cabe ao pesquisador apresentar dados solicitados pelo CEP ou pela CONEP a qualquer momento".

- O pesquisador deve manter os dados da pesquisa em arquivo, físico ou digital, sob sua guarda e responsabilidade, por um período de 5 anos após o término da pesquisa.

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_2045246_E4.pdf	23/11/2022 07:28:09		Aceito
Outros	Resposta_23nov2022.pdf	23/11/2022 07:26:32	Vera Lúcia Gil da Silva Lopes	Aceito
Outros	Dados_TamirisProjeto_BD_2018_final.pdf	04/11/2022 10:20:14	Vera Lúcia Gil da Silva Lopes	Aceito
Solicitação Assinada pelo Pesquisador Responsável	Carta04nov2022.pdf	04/11/2022 10:13:56	Vera Lúcia Gil da Silva Lopes	Aceito
Outros	RetiradaprojetoUNICAMP05fev2020.pdf	05/02/2020 10:49:00	Vera Lúcia Gil da Silva Lopes	Aceito
Outros	Resposta25set2019.pdf	25/09/2019 11:41:30	Vera Lúcia Gil da Silva Lopes	Aceito

Endereço: Rua Tessália Vieira de Camargo, 126, 1º andar do Prédio I da Faculdade de Ciências Médicas
Bairro: Barão Geraldo **CEP:** 13.083-887
UF: SP **Município:** CAMPINAS
Telefone: (19)3521-8936 **Fax:** (19)3521-7187 **E-mail:** cep@unicamp.br



Continuação do Parecer: 5.793.369

Outros	Resposta06set2019.pdf	06/09/2019 11:31:40	Vera Lúcia Gil da Silva Lopes	Aceito
Outros	Emenda06ago2019.pdf	06/08/2019 17:03:39	Vera Lúcia Gil da Silva Lopes	Aceito
Outros	Emenda_1_BBAC.pdf	11/05/2018 11:59:42	Vera Lúcia Gil da Silva Lopes	Aceito
Outros	carta_CEP_BIPMed.pdf	24/04/2018 16:29:27	Vera Lúcia Gil da Silva Lopes	Aceito
Outros	Resposta_pendencias2.pdf	24/04/2018 16:29:03	Vera Lúcia Gil da Silva Lopes	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	Projeto_BBAC_2018_v3.pdf	24/04/2018 16:27:45	Vera Lúcia Gil da Silva Lopes	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TALE2_projeto_BD_ACF_2018_v2.pdf	14/04/2018 08:25:47	Vera Lúcia Gil da Silva Lopes	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TALE1_projeto_BD_ACF_2018.pdf	14/04/2018 08:24:13	Vera Lúcia Gil da Silva Lopes	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLE_BD_ACF_2018_v2.pdf	14/04/2018 08:23:27	Vera Lúcia Gil da Silva Lopes	Aceito
Outros	Comprovante_vinculo.jpg	09/03/2018 18:16:06	Vera Lúcia Gil da Silva Lopes	Aceito
Outros	Regulamento_Biorrepositorio_BBAC_no vo.pdf	09/03/2018 17:36:09	Vera Lúcia Gil da Silva Lopes	Aceito
Outros	Regulamento_biorrepositorio_2012.pdf	09/03/2018 17:35:35	Vera Lúcia Gil da Silva Lopes	Aceito
Parecer Anterior	CONEP_7092008.pdf	09/03/2018 17:34:03	Vera Lúcia Gil da Silva Lopes	Aceito
Folha de Rosto	Folha_de_rosto.pdf	09/03/2018 17:31:51	Vera Lúcia Gil da Silva Lopes	Aceito

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

Endereço: Rua Tessália Vieira de Camargo, 126, 1º andar do Prédio I da Faculdade de Ciências Médicas
Bairro: Barão Geraldo **CEP:** 13.083-887
UF: SP **Município:** CAMPINAS
Telefone: (19)3521-8936 **Fax:** (19)3521-7187 **E-mail:** cep@unicamp.br



Continuação do Parecer: 5.793.369

CAMPINAS, 05 de Dezembro de 2022

Assinado por:
Renata Maria dos Santos Celeghini
(Coordenador(a))

Endereço: Rua Tessália Vieira de Camargo, 126, 1º andar do Prédio I da Faculdade de Ciências Médicas
Bairro: Barão Geraldo **CEP:** 13.083-887
UF: SP **Município:** CAMPINAS
Telefone: (19)3521-8936 **Fax:** (19)3521-7187 **E-mail:** cep@unicamp.br