

Fatores genéticos têm maior contribuição na etiologia das fissuras lábio-palatinas no interior do Ceará (Região Metropolitana do Cariri), Brasil

Genetic factors have major contribution in etiology of cleft lip with or without cleft palate in the Southern region of Ceará (Metropolitan region of Cariri), Brazil

LUCIANO ABREU BRITO¹, LUCAS ALVIZI CRUZ², DANIELA FRANCO BUENO³, DÉBORA BERTOLA⁴, MEIRE AGUENA⁵, M. RITA PASSOS-BUENO⁶

RESUMO

Introdução: As formas não sindrômicas de fissuras labiais com ou sem envolvimento do palato (FL/Ps NS) apresentam padrão de herança multifatorial, para o qual participam tanto componentes genéticos como ambientais. Diante disto, o objetivo do presente trabalho foi verificar se o índice de contribuição genética varia na etiologia das FL/Ps em pacientes averiguados em 4 diferentes regiões do nosso país. **Método:** Foram analisadas 644 famílias brasileiras com pelo menos um portador de FL/Ps NS: 100 de Santarém (PA), 89 de Barbalha, região do Cariri (CE), 266 de Fortaleza (CE) e 189 de Maceió (AL). **Resultados:** A proporção de casos familiares foi semelhante em 3 regiões (Santarém: 0,350; Barbalha: 0,372; Fortaleza: 0,372) e menor em Maceió (0,229). Observamos o maior valor de recorrência de FL/Ps NS em parentes de primeiro grau do propósito afetado nas famílias averiguadas em Barbalha (0,0338), enquanto o menor valor foi observado em Maceió (0,0084). O maior valor de determinação genética foi encontrado na amostra de Barbalha (85%), seguido por Santarém (65%), Fortaleza (61%) e Maceió (45%). Portanto, esses resultados sugerem que a população averiguada em Barbalha é a que está sob maior influência de fatores genéticos na determinação das FL/Ps NS. **Conclusão:** Esses resultados poderão ter implicações importantes no desenvolvimento de estratégias preventivas para as FL/Ps NS nessas diferentes regiões do país.

Descritores: Fenda labial/genética. Fissura palatina/genética. Fenda labial/etiologia. Fissura palatina/etiologia.

1. Mestrando em Ciências Biológicas - USP; Graduação em Ciências Biológicas - USP. 2. Graduando de Ciências Biológicas - USP. 3. DDs, PhD, Centro de Estudos do Genoma Humano, Instituto de Biociências, USP. 4. MD, PhD, Instituto da Criança, HCFMUSP. 5. PhD, Centro de Estudos do Genoma Humano, Instituto de Biociências, USP. 6. PhD, Professora Titular, Centro de Estudos do Genoma Humano, Instituto de Biociências, USP.

SUMMARY

Introduction: Non syndromic cleft lip with or without cleft palate (NS CL/P) presents multifactorial inheritance, in which genetics and environment are involved. Thus, the objective of this study was to verify whether the degree of genetic determination of NS CL/P varies among 4 different regions of Brazil. **Methods:** We have analyzed 644 Brazilian families having at least one member with NS CL/P: 100 in Santarém (PA), 89 in Barbalha, Cariri Region (CE), 266 in Fortaleza (CE) and 189 in Maceió (AL). **Results:** Proportions of familial cases were similar in 3 regions (Santarém: 0.350; Barbalha: 0.372; Fortaleza 0.372) and lower in Maceió (0.229). The highest recurrence cases of NS CL/P in first-degree relatives of probands was observed among families ascertained in Barbalha (0.0338), whereas the lowest value was observed in those from Maceió (0.0084). The highest degree of genetic determination was found in Barbalha sample (85%), followed by Santarém (65%), Fortaleza (61%) and Maceió (45%). Therefore, these results suggest a higher influence of genetic factors on NS CL/P determination in Barbalha, while the population assessed in Maceió appears under higher environmental influences. **Conclusion:** The information obtained may have an important role on the development of preventive strategies for NS CL/P within the ascertained regions.

Descriptors: Cleft lip/genetics. Cleft palate/genetics. Cleft lip/etiologia. Cleft palate/etiologia.

Correspondência: Maria Rita Passos-Bueno
Rua do Matão, 277 - Depto. Genética e Biologia Evolutiva - Universidade de São Paulo - São Paulo, SP, Brasil - CEP 05508-900
E-mail: passos@ib.usp.br

INTRODUÇÃO

Fissuras labiais com ou sem envolvimento no palato (FL/P) não sindrômicas (NS), isto é, não associadas a nenhuma outra malformação, constituem o grupo de malformações congênitas faciais mais comum ao nascimento, com prevalência mundial média estimada em 1:1000, mas variando entre diferentes etnias (africanas: 0,3:1000; européias: 1:1000; chinesas: 1,4:1000; japonesas: 2,1:1000; ameríndias: 3,6:100) e níveis socioeconômicos¹⁻³. No Brasil, a prevalência das FL/P NS é também elevada, tendo sido estimada em 0,65:1000 e 0,85:1000⁴⁻⁶.

As FL/Ps compreendem um amplo espectro de variabilidade clínica, podendo se apresentar apenas pela presença de uma cicatriz labial, ou uma fissura labial com ou sem comprometimento da região dente-alveolar, e podendo ainda envolver o palato. O comprometimento pode ser unilateral ou bilateral³.

Por volta de 20-30% dos pacientes com FL/P NS apresentam histórico familiar positivo, indicando um forte componente genético na etiologia desta malformação^{3,7}. De fato, o risco de recorrência para parentes de 1º grau dos afetados por FL/P é 30 a 40 vezes maior que o risco na população geral³. A presença de fatores ambientais e genéticos na determinação das FL/P NS é também evidenciada pelos cálculos de herdabilidade, que é uma estimativa da fração da contribuição genética e ambiental a um dado fenótipo. Os valores de herdabilidade estimados para as FL/Ps NS têm variado entre 53% e 84%, respectivamente, em Taiwan⁸ e em alguns países europeus^{9,10}. Em países sul-americanos, Menegotto & Salzano¹¹ estimaram o grau de contribuição genética para as FL/Ps NS em aproximadamente 70%. Baseando-se nesses vários estudos, tem-se proposto, portanto, que o mecanismo de herança das FL/Ps NS é multifatorial, ou seja, essa malformação é resultante de efeitos aditivos de fatores genéticos e ambientais. Há um esforço mundial na tentativa de elucidar quais são estes fatores, pois a compreensão dos mecanismos etiológicos associados às FL/Ps poderá contribuir na elaboração de estratégias preventivas de novos casos.

Inúmeros genes candidatos para as FL/Ps NS têm sido identificados por diversas estratégias metodológicas⁷, contudo, dentre estes o único que tem sido corroborado em diferentes populações é o IRF6 (*Interferon Regulatory Factor 6*)¹²⁻¹⁶.

Há vários possíveis fatores para explicar a dificuldade de se replicar os resultados de associação entre a maioria dos genes candidatos encontrados e FL/P NS. Um destes fatores pode ser variação da contribuição genética para a malformação na população estudada, a qual pode variar significativamente a depender da origem étnica e geográfica⁸⁻¹¹.

Assim sendo, o presente trabalho pretende comparar a importância de fatores genéticos para a predisposição às FL/Ps NS em grupos populacionais de quatro regiões brasileiras, informação esta que nunca foi obtida. Para tal, temos tido apoio da Operação Sorriso, uma entidade filantrópica que atua na reabilitação de pacientes fissurados em missões realizadas em diversas cidades brasileiras e internacionais.

MÉTODO

Entrevistamos todas as famílias com pacientes fissurados atendidos pela equipe de profissionais das missões realizadas

Operation Smile International e Operação Sorriso Brasil, entre os anos de 2007 e 2009, nas cidades de Santarém (PA), Maceió (AL), Fortaleza (CE) e Barbalha, região metropolitana de Cariri (CE), com a colaboração dos Hospitais São Camilo, Santa Casa de Misericórdia, Albert Sabin e São Vicente de Paulo, respectivamente.

Para cada família, levantou-se um heredograma com ao menos duas gerações ascendentes do propósito. A coleta de dados envolveu a identificação de outros casos de fissura na família, classificação da fissura do propósito em unilateral, bilateral com ou sem envolvimento do palato, sexo, idade, informações acerca da gestação e desenvolvimento fetal.

Foram excluídas deste estudo as famílias nas quais se verificou que o propósito era portador somente de fissura palatina, ou que fosse portador de outra anomalia além da fissura, caracterizando uma possível forma sindrômica ou ainda que fosse portador de uma fissura mediana. Foi obtida uma amostra final composta por 644 famílias: 100 provenientes de Santarém, 189 de Maceió, 266 de Fortaleza e 89 de Barbalha. Um caso foi considerado como familiar quando havia um segundo parente afetado distante no máximo 4 gerações.

As proporções de casos familiares e frequências de parentes em primeiro grau (pais ou irmãos) afetados do propósito foram estimadas para cada região, e suas distribuições analisadas por teste de significância (qui-quadrado) ao nível de significância de 0,05. O grau de determinação genética para as FL/Ps NS foi calculado para cada região por meio de um gráfico de herdabilidade construído por C. A. B. Smith e reproduzido em Emery¹⁷, que correlaciona a frequência da malformação na população em geral com a frequência entre os parentes de afetados.

RESULTADOS

Frequências absolutas e relativas de casos familiares e de parentes em primeiro grau do propósito afetado, bem como os graus de determinação genética estimados para cada região, estão discriminados na Tabela 1.

Observamos que a proporção de casos familiares variou de 22,9 a 37,2%, havendo uma diferença estatisticamente significativa para as 4 regiões ($p=0,024$). A população de Maceió foi a que apresentou menor proporção de casos familiares (22,9%) e que mais contribuiu para essa diferença. As populações das outras três regiões não diferiram significativamente entre si.

O número averiguado de parentes em primeiro grau do propósito que eram também afetados por FL/P NS revelou uma diferença estatisticamente significativa entre as populações dessas 4 regiões ($p=0,007$). A amostra de Barbalha, onde observamos o maior número de parentes afetados em primeiro grau do propósito acometidos por FL/Ps NS, foi a que mais contribuiu para esse resultado. A amostra de Maceió, por sua vez, também contribuiu de forma determinante para o resultado do teste, porém devido à menor proporção de parentes afetados em primeiro grau (Tabela 1).

Baseado nas proporções de parentes do propósito afetados em primeiro grau e na prevalência de FL/Ps não-sindrômicas no Brasil, considerada para este estudo como sendo 0,85:1000, foi possível avaliar o grau de contribuição genética para a determinação da malformação para cada região. A menor

Tabela 1 – Frequências relativas e absolutas de casos familiares e parentes de primeiro grau afetados e graus de determinação genética das regiões estudadas.

	Santarém	Maceió	Fortaleza	Barbalha
Casos familiares	21	42	97	32
Casos Isolados	39	141	164	54
Proporção de casos familiares	0,350	0,229	0,372	0,372
Parentes em 1º grau afetados	5	8	16	14
Parentes em 1º grau normais	282	940	1052	400
Proporção de parentes em 1º grau afetados	0,0174	0,0084	0,0150	0,0338
Grau de determinação genética	65%	45%	61%	85%

contribuição genética foi verificada na população estudada em Maceió, 45%, seguida por Fortaleza (61%) e Santarém (65%). A amostra proveniente de Barbalha apresentou o maior grau de determinação genética, estimado em 85%.

DISCUSSÃO

A teoria do modelo multifatorial de herança permite prever que grupos populacionais com menores proporções de casos familiares para uma dada doença estejam sob menor influência de componentes genéticos do que grupos populacionais com maiores proporções de casos nos quais há recorrência na família^{11,18}.

Observamos que em Maceió foi averiguado o menor índice de casos familiares, bem como onde se observou menor proporção de afetados entre os parentes de primeiro grau do propósito, sugerindo que neste grupo populacional os fatores ambientais são mais predominantes do que os genéticos. O grau de determinação genética nesta população, estimado em 45%, de fato, caracteriza essa região dentre as 4 analisadas como a menos influenciada por fatores genéticos. Esses resultados implicam que a população em Maceió parece ideal para futuras pesquisas com o intuito de esclarecer fatores ambientais que agem na etiologia das FL/Ps NS.

Embora a incidência de casos familiares não tenha revelado diferença estatisticamente significativa entre as amostras averiguadas em Fortaleza, Santarém e Barbalha, a análise dos familiares em primeiro grau do propósito mostrou que, nesta última, há maior recorrência da malformação, sugerindo que os fatores genéticos são mais preponderantes neste grupo populacional. De fato, o grau de determinação genética, estimado em 85%, caracteriza o grupo populacional de Barbalha como o mais suscetível à ação de componentes genéticos. Ainda, esta parece ser a população que poderá ser

mais informativa para futuros estudos, visando à identificação de fatores genéticos de predisposição a essas malformações. Cumpre ressaltar que a grande maioria das famílias averiguadas em Barbalha são principalmente provenientes da região metropolitana do Cariri.

Os resultados das análises obtidos em famílias averiguadas em Fortaleza e Santarém revelaram que esses grupos populacionais não diferiram significativamente entre si em nenhuma análise, e apresentaram graus intermediários de determinação genética, estimados, respectivamente, em de 61% e 65%. Esses valores são, inclusive, os mais próximos ao de 70% obtido por Menegotto & Salzano¹¹, em uma amostra de 741 crianças com FL/Ps NS na América do Sul.

Sabe-se que as FL/Ps NS estão fortemente associadas a diferenças étnicas e que as subpopulações brasileiras, desde o período da colonização, não foram expostas a graus iguais de miscigenação entre populações européias, africanas e indígenas¹⁹. Portanto, não se pode descartar a possibilidade dessas diferenças desempenharem um papel importante na estrutura dessas populações e, conseqüentemente, nas diferentes incidências de casos familiares e graus de determinação genética encontrados nesse estudo.

A reprodução desse estudo em uma amostra maior e abrangendo outras regiões do país será importante para desenvolver estudos de identificação tanto de fatores genéticos quanto ambientais de predisposição às FL/Ps NS. Esses resultados poderão ter importantes implicações para o desenvolvimento de medidas preventivas para o nascimento de novos casos de FL/Ps que sejam específicas para cada região.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem a colaboração dos familiares de pacientes com fissura lábio-palatina, ao Dr. Nivaldo Alonso,

à Operação Sorriso Brasil e Internacional e a todos os voluntários que participaram das missões da Operação Sorriso. O presente projeto foi desenvolvido com apoio financeiro da FAPESP/CEPID e do CNPq.

REFERÊNCIAS

1. Fraser FC. The genetics of cleft lip and cleft palate. *Am J Hum Genet.* 1970;22(3):336-52.
2. Tolarova MM, Cervenka J. Classification and birth prevalence of orofacial clefts. *Am J Med Genet.* 1998;75(2):126-37.
3. Gorlin RJ, Cohen Jr. MM, Hennekam RCM. *Syndromes of the head and neck.* 4th ed. New York: Oxford University Press Inc.;2001.
4. Nagem Filho H, Martins DR. Teamwork in the rehabilitation of patients with lesions of lip and palate. *Estomatol Cult.* 1968;2(1):127-32.
5. Loffredo LC, Souza JM, Freitas JA, Mossey PA. Oral clefts and vitamin supplementation. *Cleft Palate Craniofac J.* 2001;38(1):76-83.
6. Menegotto BG, Salzano FM. Epidemiology of oral clefts in a large South American sample. *Cleft Palate Craniofac J.* 1991;28(4):373-7.
7. Carinci F, Scapoli L, Palmieri A, Zollino I, Pezzetti F. Human genetic factors in nonsyndromic cleft lip and palate: an update. *Int J Pediatr Otorhinolaryngol.* 2007;71(10):1509-19.
8. Lin YC, Lo LJ, Noordhoff MS, Chen YR. Cleft of the lip and palate in twins. *Changcheng Yi Xue Za Zhi.* 1999;22(1):61-7.
9. Stoll C, Alembik Y, Dott B, Roth MP. Epidemiological and genetic study in 207 cases of oral clefts in Alsace, north-eastern France. *J Med Genet.* 1991;28(5):325-9.
10. Calzolari E, Milan M, Cavazzuti GB, Cocchi G, Gandini E, Magnani C, et al. Epidemiological and genetic study of 200 cases of oral cleft in the Emilia Romagna region of northern Italy. *Teratology.* 1988;38(6):559-64.
11. Menegotto BG, Salzano FM. Clustering of malformations in the families of South American oral cleft neonates. *J Med Genet.* 1991;28(2):110-3.
12. Kondo S, Schutte BC, Richardson RJ, Bjork BC, Knight AS, Watanabe Y, et al. Mutations in IRF6 cause Van der Woude and popliteal pterygium syndromes. *Nat Genet.* 2002;32(2):285-9.
13. Zuccherro TM, Cooper ME, Maher BS, Daack-Hirsch S, Nepomuceno B, Ribeiro L, et al. Interferon regulatory factor 6 (IRF6) gene variants and the risk of isolated cleft lip or palate. *N Engl J Med.* 2004;351(8):769-80.
14. Pegelow M, Peyrard-Janvid M, Zucchelli M, Fransson I, Larson O, Kere J, et al. Familial non-syndromic cleft lip and palate: analysis of the IRF6 gene and clinical phenotypes. *Eur J Orthod.* 2008;30(2):169-75.
15. Jugessur A, Rahimov F, Lie RT, Wilcox AJ, Gjessing HK, Nilsen RM, et al. Genetic variants in IRF6 and the risk of facial clefts: single-marker and haplotype-based analyses in a population-based case-control study of facial clefts in Norway. *Genet Epidemiol.* 2008;32(5):413-24.
16. Rahimov F, Marazita ML, Visel A, Cooper ME, Hitchler MJ, Rubini M, et al. Disruption of an A P-2alpha binding site in an IRF6 enhancer is associated with cleft lip. *Nat Genet.* 2008;40(11):1341-7.
17. Emery AEH. *Methodology in medical genetics.* 2nd ed. Edinburgh:Churchill Livingstone;1976.
18. Freire-Maia N. Some aspects of the problem of consanguineous marriages in Brazilian population. 1957.
19. Pena SD, Bastos-Rodrigues L, Pimenta JR, Bydlowski SP. DNA tests probe the genomic ancestry of Brazilians. *Braz J Med Biol Res.* 2009;42(10):870-6.

Trabalho realizado no Centro de Estudos do Genoma Humano, Depto. Genética e Biologia Evolutiva, Instituto de Biociências, Universidade de São Paulo, São Paulo, SP.

Artigo recebido: 15/10/2009

Artigo aceito: 12/12/2009