

A contribuição de fatores genéticos e ambientais para a ocorrência das fissuras lábio-palatinas não-sindrômicas é a mesma em diferentes regiões do país?

Is the contribution of genetics and environmental factors to the occurrence of non syndromic cleft lip with or without cleft palate the same in different regions of the country?

LUCIANO BRITO¹, DANIELA F. BUENO², DÉBORA BERTOLA³, BEATRIZ BURIN¹, NIVALDO ALONSO⁴, MARIA RITA PASSOS-BUENO⁵

RESUMO

Introdução: Fissura labial com ou sem fissura de palato (FL/P) não-sindrômica, uma das malformações congênitas mais prevalentes, é determinada por um modelo de herança multifatorial e, portanto, fatores genéticos e ambientais contribuem para a ocorrência desta malformação. **Método:** O presente estudo avaliou se os fatores de predisposição às FL/Ps são semelhantes em três regiões do Brasil (Santarém- PA; Fortaleza e Barbalha- CE), por meio de estimativas das proporções de casos familiares, bem como da taxa de consangüinidade entre os pais de afetados por FL/P. Ainda, avaliamos se a distribuição dos tipos de FL/Ps difere nestas 3 regiões. Um total de 460 casos foi avaliado durante missões da *Operação Sorriso* realizadas em 2007-2008. **Resultados:** Não observamos diferenças nos subtipos de fissuras nas 3 regiões. Contudo, verificamos que a proporção de casos familiares e da taxa de consangüinidade é menor em Santarém do que nas outras duas localidades. Ainda, a taxa de consangüinidade foi significativamente maior entre os pais dos fissurados averiguados em Santarém e Fortaleza do que na população geral. **Conclusão:** Estes resultados corroboram que a consangüinidade é um fator de risco para a ocorrência das FL/Ps e sugerem que os fatores de predisposição, ambientais ou genéticos para as FL/P são diferentes na população de Santarém. A confirmação destes resultados em uma amostra maior poderá fornecer subsídios para o estabelecimento de futuras políticas de prevenção das FL/Ps nas diferentes regiões do Brasil.

Descritores: Fenda labial. Fissura palatina. Herança multifatorial. Consangüinidade. Predisposição genética para doença. Meio ambiente.

SUMMARY

Introduction: Non syndromic cleft lip with or without cleft palate (NSCL/P), one of the most prevalent congenital malformations, presents a multifactorial model of inheritance, in which genetics and environment play a role. **Methods:** In order to evaluate if predisposing factors for NSCL/P vary in different regions of Brazil, we have estimated the proportion of familial cases and the rate of consanguinity among parents of NSCL/P patients in 460 families ascertained in three regions of Brazil, Santarém, PA; Fortaleza and Barbalha, CE. These families were ascertained during Operation Smile missions in 2007-2008. **Results:** We also tested if the distribution of subtypes of orofacial clefts vary according to geographical region. We did not observe any prevalence of a specific subtype of NSCL/P in these three regions. However, interestingly, we observed that the proportion of familial cases and the rate of consanguineous marriage were lower in Santarém as compared to the other two regions. In addition, the consanguinity rate was higher among parents of NSCL/P cases ascertained in Fortaleza and Santarém than in the general population. **Conclusion:** These preliminary findings support the hypothesis that consanguinity is a risk factor for NSCL/P in these regions and that different etiological factors play a role in the occurrence of NSCL/P in Santarém/PA as compared to the other regions. The confirmation of these results in a larger sample will be important to establish health priorities in order to decrease the birth rate of children with NSCL/P.

Descriptors: Cleft lip. Cleft palate. Multifactorial inheritance. Consanguinity. Genetic predisposition to disease. Environment.

1. Acadêmicos de Biologia. 2. DDs, PhD, Centro de Estudos do Genoma Humano, Depto. Genética e Biologia Evolutiva, Instituto de Biociências, USP. 3. MD, PhD, Instituto da Criança, Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo (HCFMUSP). 4. Professor Livre-docente da Disciplina de Cirurgia Plástica e Queimaduras do HCFMUSP. 5. PhD, Prof^o Titular, Centro de Estudos do Genoma Humano, Depto. Genética e Biologia Evolutiva, Instituto de Biociências, Universidade de São Paulo.

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

INTRODUÇÃO

Fissuras labiais e/ou de palato (FL/Ps) constituem o defeito facial mais comum ao nascimento¹, cuja incidência pode variar de acordo com a origem geográfica, étnica e mesmo socioeconômica². Estima-se que, em média, um em 1000 recém-nascidos vivos apresenta alguma forma de fissura³⁻⁵, frequência que é maior em populações descendentes de ameríndios e asiáticos e menor entre as descendentes de africanos^{3,4}. No Brasil, estudos apontaram uma prevalência de um em 650 nascidos⁶⁻⁸.

Pode-se classificar clinicamente as FL/Ps em sindrômicas e não-sindrômicas. Nas formas sindrômicas, FL/Ps aparecem associadas a outros fenótipos, tais como cardiopatias e atraso de desenvolvimento neuropsicomotor, enquanto as formas não-sindrômicas não apresentam outros sintomas associados^{3,9,10}. Por volta de 200 síndromes, mendelianas ou cromossômicas, têm fissura labial ou de palato como um dos fenótipos³ e aproximadamente 30 genes já foram identificados em estudos moleculares de FL/P sindrômicas¹⁰⁻¹².

Em 70% dos afetados, FL/P aparece na forma não-sindrômica¹⁰, que se caracteriza pela separação incompleta entre as cavidades oral e nasal sem outras anomalias associadas³. Em geral, FL/Ps não-sindrômicas são consideradas entidades clínicas distintas das fissuras de palato somente (FP), pois a formação do palato primário e da parte central do lábio superior e nariz (semanas 4 a 7) ocorre anteriormente à formação do palato (nas semanas 8 a 12) durante o desenvolvimento embrionário^{3,13,14}.

As FL/Ps não-sindrômicas podem apresentar um grande espectro de variabilidade clínica, desde uma pequena cicatriz no lábio até formas mais graves, nas quais a fenda labial é bilateral e envolve os palatos mole e duro. Tem-se observado que a proporção de casos FL/P unilateral é três vezes mais freqüente (75%) do que as formas bilaterais (25%)³. Estes dados são desconhecidos para as populações de fissurados não-sindrômicos averiguadas no norte e nordeste do país.

FL/P não-sindrômica tem etiologia complexa, podendo envolver fatores genéticos e ambientais. Estimativas em várias populações revelam que cerca de 20% dos casos totais de FL/P são familiares^{15,16}. Nestes casos em que há recorrência familiar, prevê-se que a contribuição genética para a ocorrência das FL/Ps seja mais predominante. Assim sendo, a comparação da proporção de casos familiares e isolados em diferentes regiões geográficas pode apontar para as localidades onde os fatores de predisposição às FL/Ps sejam diferentes. Por exemplo, em um local com poucos casos não-familiares em relação aos familiares, poderíamos esperar que os fatores ambientais fossem mais determinantes que os genéticos; ao contrário, em um local apresentando muitos casos familiares em relação aos não-familiares, seria de se esperar uma ação menos determinante dos fatores ambientais. Por outro lado, se não houver variação destas freqüências, implica que possivelmente os mecanismos responsáveis pelas fissuras sejam universais. Dado o modelo multifatorial proposto para as FL/Ps não-sindrômicas, espera-se que a consangüinidade aumente o risco de nascer crianças com FL/P. Dessa forma, é possível que haja uma freqüência aumentada de casamentos consangüíneos entre os pais de afetados por FL/Ps não-sindrômicas e, por isso,

é importante verificarmos se esta freqüência está aumentada em relação à população geral. Ainda, se houver maior prevalência de formas mais graves em uma dada população, pode-se postular que há fatores genéticos ou ambientais que estão aumentando a predisposição da FLP nesta localidade. Estes resultados poderão trazer importantes direcionamentos para o estabelecimento de políticas de prevenção das FL/Ps nas diferentes regiões de um país como o Brasil, que é bastante heterogêneo, tanto ao nível social como etnicamente.

Atualmente, a entidade Operação Sorriso, que é uma entidade filantrópica que atua na reabilitação de pacientes fissurados, realiza diversas missões em diferentes regiões do país, o que oferece uma oportunidade única para o estudo das questões acima levantadas. Sendo assim, os principais objetivos deste trabalho são comparar a proporção de casos familiares de FL/Ps não-sindrômicas averiguadas em três áreas no norte e nordeste do Brasil e verificar se há variação da proporção de consangüinidade parental em função da região geográfica e da presença de história familiar. Também verificamos a distribuição dos tipos de fissura nos pacientes averiguados nestas três regiões.

MÉTODO

Um total de 512 crianças com FL/P ou FP foi amostrado em três cidades brasileiras: 253 em Fortaleza (CE), 70 em Barbalha (CE) e 189 em Santarém (PA). A coleta de informações dos pacientes e genitores foi feita em missões organizadas pela Operation Smile International e Brasileira. Contamos, também, com a colaboração do Hospital Albert Sabin, em Fortaleza, Hospital São Vicente de Paulo, em Barbalha, e Hospital São Camilo, em Santarém.

A coleta de informações incluiu sexo, idade, tipo e lado da fissura e dados sobre a gestação e desenvolvimento do bebê. Ainda, para cada paciente, foram levantados heredogramas das famílias por pelo menos 2 gerações, para investigar a existência de outros fissurados na mesma e seus graus de parentesco, assim como a existência de consangüinidade entre os pais do propósito.

Os casos classificados como sindrômicos, sejam eles reconhecidamente de uma síndrome específica ou por possuírem outras malformações e/ou atraso de desenvolvimento neuropsicomotor além da fissura, foram excluídos da amostra, de modo que, para as análises feitas neste trabalho, utilizou-se apenas os casos não-sindrômicos. Excluindo os casos sindrômicos, o número de casos para cada região ficou sendo de 229 em Fortaleza, 51 em Barbalha e 179 em Santarém, totalizando 460 casos.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Em Fortaleza (CE), dos 229 casos de fissuras (FL/P ou FP) amostrados, 84 (36,68%) corresponderam a casos familiares (além do propósito, pelo menos um outro afetado na família). Em Barbalha (CE), dos 51 casos atendidos, 16 (31,37%) eram familiares e, em Santarém (PA), 33 dos 179 casos atendidos eram familiares (18,44%). A diferença entre

número de casos familiares e não-familiares nas três regiões mostrou-se significativa ($p=0,0003$). Essa diferença significativa deve-se à menor ocorrência de casos familiares em Santarém, uma vez que o par de amostras de Fortaleza e Barbalha, quando comparado, não apresentou diferença significativa ($p=0,52$). Na literatura mundial, tem-se que a frequência de casos familiares é de, aproximadamente, 20%¹⁶, o que não difere dos dados obtidos no Ceará. A menor ocorrência de casos familiares em Santarém pode sugerir um efeito maior de fatores ambientais na ocorrência de fissuras nessa região e/ou que outros fatores estão atuando na etiologia das FL/Ps nesta região.

Observamos que a taxa de consangüinidade não diferiu significativamente entre os casos de FL/P averiguados em Barbalha (3/42; 7,14%) e em Fortaleza (23/189; 12,17%; $p=0,43$). A proporção de pais consangüíneos de fissurados com FL/P foi maior em casos familiares (CF, Barbalha: 2/16, 12,5%; Fortaleza: 10/74, 13,51%) do que entre os casos não-familiares (CI, Barbalha, 1/35, 2,85%; Fortaleza: 13/115, 11,30%; $p=0,65$), porém esta diferença não foi estatisticamente significativa, o que pode ser decorrente do pequeno tamanho amostral, particularmente em Barbalha. Em Santarém, apenas incluímos a análise dos dados dos casos familiares, pois não foi possível a coleta de informação adequada dos casos isolados. Observamos que apenas um (3,23%) entre os 31 casos de FL/P familiares informou a ocorrência de consangüinidade. A diferença entre as regiões, contudo, também não se mostrou significativa ($p=0,29$), o que pode ser devido ao tamanho amostral. A consangüinidade no Brasil, segundo Freire-Maia (1957 e 1990), apresenta os maiores índices na região nordeste, sendo estes mais altos no interior, diminuindo em direção ao litoral: em Barbalha/Crato a frequência foi de 8,42%, enquanto em Fortaleza, a frequência observada de casamentos entre primos de 1º grau foi de 4,82%. Em Santarém, a consangüinidade relatada é muito baixa, com frequência de 0,30%. Estes resultados sugerem que, em Santarém ($p=0,011$) e Fortaleza ($p=0,015$), a taxa de consangüinidade está aumentada entre os pais de afetados por FL/P e corrobora, portanto, o modelo de doença multifatorial. Em Barbalha, não encontramos diferença significativa ($p=1$), possivelmente devido ao pequeno tamanho amostral.

Com o intuito de avaliar fenotipicamente a “gravidade” das fissuras em cada região, os pacientes com FL/P foram agrupados em três categorias, com base no tipo de fissura. Consideramos a FLU (fissura labial unilateral) como sendo a forma menos “grave”, uma vez que afeta apenas um lado do lábio e não há comprometimento do palato primário ou secundário; a FLBP (fissura labial bilateral e no palato), por outro lado, foi considerada como a forma mais

“grave”, por envolver os palatos primários e secundários, além dos dois lados do lábio; a FLUP (fissura labial unilateral e no palato) foi considerada como a forma de gravidade intermediária, por envolver palato e apenas um lado do lábio. Entre os pacientes com FLP, FLUP ou FLBP, não houve diferença na prevalência de cada uma nas três regiões ($p=0,478$; Tabela 1). Agrupando-se os dados das três regiões, dos 271 pacientes com FL/P que tinham todos os dados disponíveis, 12,18% eram FLU; 59,41% eram FLUP; 28,41% eram FLBP. A proporção descrita por Gorlin et al.³ entre casos FLP bilaterais (25%) e unilaterais (75%), assim como a proporção de casos envolvendo palato dentre as fissuras labiais unilaterais (70%), é compatível à encontrada neste estudo.

Em conclusão, o presente estudo sugere que o espectro de variabilidade clínica das FL/P nestas 3 regiões brasileiras não difere dos dados da literatura e, portanto, não parece haver nenhum fator de predisposição genético ou ambiental que favoreça a ocorrência de casos mais graves de FL/P. Verificamos, por outro lado, que há um aumento da taxa de consangüinidade entre os pais de afetados por FLP, favorecendo o modelo multifatorial para a FL/P não-sindrômica. Finalmente, a menor prevalência de casos familiares em Santarém aponta que os mecanismos que determinam as FL/Ps nesta região são diferentes daqueles da população do CE. É possível que fatores ambientais sejam os mais prevalentes na determinação desta malformação nesta região, contudo, não podemos descartar a possibilidade de que outros fatores, até mesmo genéticos relacionados a diferenças étnicas, possam explicar a maior proporção de casos isolados nesta região. Estes resultados precisam ser replicados em uma amostra maior, o que poderá ter importantes implicações no desenvolvimento de pesquisas para a identificação dos fatores de risco para as FL/Ps e mesmo para o estabelecimento de medidas preventivas deste grupo de malformações congênitas.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem a colaboração das famílias, ao apoio recebido pela Operação Sorriso do Brasil e Internacional, a Secretaria da Saúde dos Estados do Ceará e do Pará, e ao grande suporte da diretoria e funcionários dos hospitais que abrigam as missões da Operação Sorriso. Gostaríamos de agradecer Clóvis A. Brito Filho, Flávia Franco e Dra. Evelin Gondim, por todo apoio recebido nestes últimos 2 anos durante as missões da Operação Sorriso. O presente projeto foi realizado com apoio da FAPESP/CEPID e CNPq.

Tabela 1 – Distribuição dos casos de FL/Ps de acordo com a gravidade em três regiões do país. FLU= fissura labial unilateral; FLUP= fissura labial unilateral com comprometimento de palato; FLBP = fissura labial bilateral com comprometimento de palato

	Barbalha	Fortaleza	Santarém	Total
FLU	3	25	5	33 (12,18%)
FLUP	25	115	21	161 (59,41%)
FLBP	14	48	15	77 (28,41%)
Total	42 (15,50%)	188 (69,37%)	41 (15,13%)	271 (100%)

REFERÊNCIAS

1. Marazita ML, Mooney MP. Current concepts in the embryology and genetics of cleft lip and cleft palate. *Clin Plast Surg*. 2004;31(2):125-40.
2. Murray JC, Daack-Hirsch S, Buetow KH, Munger R, Espina L, Paglinawan N, et al. Clinical and epidemiologic studies of cleft lip and palate in the Philippines. *Cleft Palate Craniofac J*. 1997;34(1):7-10.
3. Gorlin RJ, Cohen MM, Hennekam RCM. Orofacial clefting syndromes: general aspects. In: *Syndromes of the head and neck*. 4^{ed}. New York:Oxford University Press;2001.
4. Mossey PA, Little J. Epidemiology of oral clefts: an international perspective. In: Wyszynski DF, ed. *Cleft lip and palate: from origin to treatment*. Oxford:Oxford University Press;2002. p.127-58.
5. Lidral AC, Murray JC. Genetic approaches to identify disease genes for birth defects with cleft lip/palate as a model. *Birth Defects Res A Clin Mol Teratol*. 2004;70(12):893-901.
6. Nagem Filho H, Martins DR. Teamwork in the rehabilitation of patients with lesions of lip and palate. *Estomatol Cult*. 1968;2(1):127-32.
7. Souza JMP, Buchalia CM, Laurenti R. Estudo da morbidade e da mortalidade perinatal em maternidades. III-anomalias congênitas em nascidos vivos. *Rev Saúde Pública*. 1987;21:5-12.
8. Loffredo LC, Souza JM, Freitas JA, Mossey PA. Oral clefts and vitamin supplementation. *Cleft Palate Craniofac J*. 2001;38(1):76-83.
9. Murray JC. Face facts: genes, environment, and clefts. *Am J Hum Genet*. 1995;57(2):227-32.
10. Schutte BC, Murray JC. The many faces and factors of orofacial clefts. *Hum Mol Genet*. 1999;8(10):1853-9.
11. Cobourne MT. The complex genetics of cleft lip and palate. *Eur J Orthod*. 2004;26(1):7-16.
12. Jugessur A, Murray JC. Orofacial clefting: recent insights into a complex trait. *Curr Opin Genet Dev*. 2005;15(3):270-8.
13. Meikle C. *Craniofacial development, growth and evaluation*. Norfolk:Bateson Publishing;2002.
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. Freire-Maia. Some aspects of the problem of consanguineous marriages in Brazilian populations (manuscrito). 1957.
16. Menegotto BG, Salzano FM. Epidemiology of oral clefts in a large South American sample. *Cleft Palate Craniofac J*. 1991;28(4):373-7.
17. 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.

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

Artigo recebido: 21/6/2008

Artigo aceito: 28/8/2008