

UFBA

Universidade Federal da Bahia
Instituto de Ciências da Saúde

ALINE DO NASCIMENTO ANDRADE

PROCESSOS INTERATIVOS
DOS ÓRGÃOS E SISTEMAS
PROGRAMA DE PÓS GRADUAÇÃO • ICS • UFBA



**ESTUDO DE ALTERAÇÕES CONGÊNITAS
EM UMA FAMÍLIA CONSANGUÍNEA:
O PAPEL DO GENE NOTCH**

Salvador
2019



**UNIVERSIDADE FEDERAL DA BAHIA
INSTITUTO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM PROCESSOS
INTERATIVOS DE ÓRGÃOS E SISTEMAS**

ALINE DO NASCIMENTO ANDRADE

**ESTUDO DE ALTERAÇÕES CONGÊNITAS EM UMA
FAMÍLIA CONSANGUÍNEA: O PAPEL DO GENE NOTCH**

Salvador
2019

ALINE DO NASCIMENTO ANDRADE

**ESTUDO DE ALTERAÇÕES CONGÊNITAS EM UMA
FAMÍLIA CONSANGUÍNEA: O PAPEL DO GENE NOTCH**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Processos Interativos dos Órgãos e Sistemas, do Instituto de Ciências da Saúde, da Universidade Federal da Bahia, como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre em Processos Interativos dos Órgãos e Sistemas.

Orientadora: Profa. Dra. Maria Betânia Pereira Toralles.

Coorientadora: Profa. Dra. Rita Maria Alves.

Salvador
2019

Dados internacionais de catalogação-na-publicação (CIP) Brasil

Andrade, Aline do Nascimento

Estudo de alterações congênitas em uma família consanguínea: o papel do gene Noch / Aline do Nascimento Andrade -- Salvador, 2019.

116 f. il.

Dissertação (Mestrado - Programa de Pós-graduação em Processos Interativos dos Órgãos e Sistemas) -- Instituto de Ciências da Saúde – Universidade Federal da Bahia, Salvador (BA), 2019.

Orientador: Profa. Dra. Maria Betânia Pereira Toralles.

1. Alterações congênitas. 2. Caridopatias congênitas. 3. Consanguindade. 4. Gene Noch. I. Toralles, Maria Betânia Pereira. II. Universidade Federal da Bahia. III. Título.

ALINE DO NASCIMENTO ANDRADE

**ESTUDO DE ALTERAÇÕES CONGÊNITAS EM UMA
FAMÍLIA CONSANGUÍNEA: O PAPEL DO GENE NOTCH**

Dissertação apresentada como requisito parcial para
obtenção do grau de Mestre em Processos Interativos
dos Órgãos e Sistemas, Instituto de Ciências da Saúde
da Universidade Federal da Bahia.

Salvador, 17 de dezembro de 2019.

Banca Examinadora

Maria Betânia Pereira Toralles - Orientadora _____

Doutora em Medicina e Saúde Humana pela Universidade Federal da Bahia
Universidade Federal da Bahia

Roque Aras Júnior Brasil _____

Doutor em Medicina e Saúde pela Universidade Federal da Bahia
Universidade Federal da Bahia

Mariana Toledo Biscaia Raposo Mourão e Lima Brasil _____

Doutorado em Educação pela Universidade Americana, Paraguai
União Metropolitana de Educação e Cultura

*Para Rita Alves, “Ritinha”,
com amor e gratidão.*

AGRADECIMENTOS

A Deus, por sua misericórdia infinita, por me sustentar e permitir chegar à tão sonhada academia.

A minha família, em especial meus pais, Sergio e Raema, minhas maiores referências de amor e apoio; aos meus irmãos, Andrea, Sergio e Juliana, parceiros de construção de vida.

Aos meus sobrinhos amados, Felipe, João e Pedro, minhas alegrias diárias e motivo de sorriso constante. Amo vocês!

Ao meu noivo, Gabriel Villas-Bôas, pelo empenho, pela compreensão e pelo companheirismo nessa fase tão complexa e interminável.

A minha segunda família, Roquelina, Dalto, Dantas e Deise, pelo cuidado e carinho.

A Maria Anita, pelas orações direcionadas a este momento pessoal.

A Ingrid Argôlo, minha primeira ouvinte e primeira promessa de escrever essas sonhadas páginas.

Aos “RESTRITOS”, Flaviane, Seres, Renata, Cristiane, Balbino e Mariana, meus confidentes e maior torcida durante dois anos. Uma amizade que levarei comigo eternamente!

Ao Grupo “EPI-GENÉTICA”, grandes companheiros há 4 anos na pesquisa em genética.

Ao “GEPIHON”, minha iniciação científica, em especial a Tessia Ferrari e Monique Ornellas, por todo apoio, pela amizade e solidariedade nesse momento profissional.

Ao Dr. Luiz Magalhães, pela constante disponibilidade e pelo auxílio na coleta.

À Dra. Aline Varanda, minha amiga e irmã, por sua preciosa contribuição ao meu trabalho.

À Universidade Federal da Bahia, pela oportunidade de imersão ao mestrado e à pesquisa.

À Secretaria de Saúde de Barrocas, pelo apoio durante as avaliações em campo.

Aos meus pacientes do povoado de Ladeira, por permitir que a pesquisa ganhasse força através dos relatos de todos vocês.

Finalmente, à minha orientadora, Maria Betânia Toralles, e à minha coorientadora, Rita Maria Alves, pelos ensinamentos e por acreditarem na viabilidade desta pesquisa.

*“O médico que só sabe de medicina, nem de
medicina sabe.”*

(Abel Salazar)

ANDRADE, Aline do Nascimento. **Estudo de alterações congênitas em uma família consanguínea: o papel do gene Notch.** Orientador: Maria Betânia Pereira Toralles. 2019. 116 f. il. Dissertação (Mestrado em Processos Interativos dos Órgãos e Sistemas) - Instituto de Ciências da Saúde, Universidade Federal da Bahia, 2019.

RESUMO

A cardiopatia congênita é caracterizada por um conjunto de defeitos estruturais e funcionais surgidos durante a embriogênese cardíaca. É o tipo mais comum de defeito congênito, representando um terço de todas as anomalias congênitas. Diversos estudos foram desenvolvidos, objetivando a identificação de genes estruturais que estão intimamente envolvidos com a morfogênese cardíaca fisiológica. Algumas variações dos números de cópias têm sido associadas à patogênese dessa cardiopatia, por englobarem genes previamente conhecidos por participar do desenvolvimento do coração. Fatores de transcrição que participam da via de sinalização Notch regulam interações entre células fisicamente adjacentes, via essencial no controle do padrão espacial, da morfogênese e da homeostase em tecidos embrionários e adultos. A expressão do gene Notch revela defeitos esqueléticos axiais, desordens nos sistemas musculoesqueléticos, distúrbios e degeneração neurológica, surdez, fenômenos de mutação somáticos que levam a diferentes tipos de câncer e anomalias cardíacas congênitas. Este estudo avaliou três famílias consanguíneas com indivíduos que apresentavam genotipagem prévia, evidenciando alterações nos cromossomos 9, 15 e 16. Os resultados apontaram para 23 indivíduos portadores de alterações cardiovasculares e diversos casos de desordens musculoesqueléticas, além de casos de dismorfismos craniofaciais, abortos no primeiro trimestre e mortes neonatais precoces. A análise sugeriu a possibilidade de participação de outros genes além do Notch nas patogenias cardiovasculares e osteomioarticulares evidenciadas nessas famílias.

Palavras-chave: Cardiopatias congênitas. Consanguinidade. Receptores Notch.

ABSTRACT

Congenital heart disease (CHD) is characterized by a set of structural and functional defects that arise during cardiac embryogenesis. It is the most common type of congenital defect, representing one third of all congenital anomalies. Several studies have been developed aiming to identify structural genes that are closely involved with physiological cardiac morphogenesis. Some copy number variations have been associated with the pathogenesis of CHD, as they include genes previously known to participate in heart development. Transcription factors participating in the Notch signaling pathway regulate interactions between physically adjacent cells, essential pathway for controlling spatial pattern, morphogenesis and homeostasis in embryonic and adult tissues. Notch gene expression reveals axial skeletal defects, disorders of the musculoskeletal systems, neurological disorders and degeneration, deafness, somatic mutation phenomena that lead to different cancers and congenital heart anomalies. This study evaluated 3 consanguineous families with individuals with previous genotyping showing alterations in chromosomes 9, 15 and 16. The results point to 23 patients with cardiovascular disorders and several cases of musculoskeletal disorders, as well as cases of craniofacial disorders, first trimester abortions and early neonatal deaths. An analysis suggested the possibility of participation of genes other than Notch in the cardiovascular and osteomioarticular pathogenesis evidenced in these families.

Keywords: Heart defects. Congenital consanguinity. Notch receptors.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1	Imagem ilustrativa de forame oval patente (FOP)	21
Figura 2	Imagem ilustrativa da tetralogia de Fallot	21
Figura 3	Imagem ilustrativa da hipoplasia do ventrículo esquerdo	22
Figura 4	Representação do bandeamento do cromossomo	32
Figura 5	Imagem esquematizando a ligação existente entre o ligante Delta e o receptor Notch	32
Figura 6	Mapa geográfico do povoado de Ladeira	41
Figura 7	CNVs encontradas na população	43
Figura 8	Genes envolvidos nas zonas de microduplicação	44
Figura 9	Heredograma do agrupamento familiar 1	46
Figura 10	Heredograma do agrupamento familiar 2	48
Figura 11	Indivíduo II-10 do heredograma 2	49
Figura 12	Heredograma do agrupamento familiar 3	51
Figura 13	Indivíduo “IV-28” do heredograma 3	52
Figura 14	Indivíduo V-5 do heredograma 3	53
Figura 15	Alterações musculoesqueléticas em pés encontradas na população (n.1)	55
Figura 16	Alterações musculoesqueléticas em pés encontradas na população (n.2)	56
Figura 17	Alterações musculoesqueléticas em membros inferiores e pés	58
Figura 18	Alterações envolvendo demais segmentos na população	58

LISTA DE TABELAS

Tabela 1	Frequência das cardiopatias congênitas	23
Tabela 2	Fenótipos cardiovasculares e sua relação com as microduplicações presentes nos indivíduos geneticamente diagnosticados	42
Tabela 3	Incidência de fenótipos cardiovasculares e óbitos registrados na população	42
Tabela 4	Dados sociodemográficos dos indivíduos triados para avaliação física	54
Tabela 5	Segregação das alterações genéticas na população em estudo	54
Tabela 6	Alterações osteomioarticulares presentes na amostra investigada	57

LISTA DE SIGLAS

AD	Átrio direito
AT	Atresia tricúspide
AVC	Acidente vascular cerebral
CC	Cardiopatía congênita
CGH	Hibridização genômica comparativa
CIA	Comunicação interatrial
CIV	Comunicação interventricular
CNV	Variação do número de cópias
CNVs	Variações do número de cópias
CoAo	Coarctação da aorta
DAC	Doença da artéria coronariana
DATASUS	Departamento de Informática do SUS
DAVP	Drenagem anômala de veias pulmonares
DNA	Ácido desoxirribonucleico
DSAVP	Defeito no septo atrioventricular parcial
DSAVT	Defeito no septo atrioventricular total
EA	Estenose aórtica
ECG	Eletrocardiograma
EPV	Estenose pulmonar valvar
EVA	Estenose valvar aórtica
FOP	Forame oval patente
GWAS	Estudos de associação ampla do genoma
HAS	Hipertensão arterial sistêmica
HUPES	Hospital Universitário Professor Edgar Santos
IAM	Infarto agudo do miocárdio
ICS	Instituto de Ciências da Saúde
IM	Infarto do miocárdio
LS-CHD	Left-Sided Congenital Heart Disease Cardiopatía congênita do lado esquerdo
MIBI	Bomba mental 1

MMII	Membros inferiores
MMSS	Membros superiores
nAChRs	Receptores nicotínicos de acetilcolina
PCA	Persistência do canal arterial
SA	Síndrome Alagille
SAO	Síndrome de Adams Oliver
SCEH	Síndrome do coração esquerdo hipoplásico
SpO2	Saturação periférica de oxigênio
T4F	Tetralogia de Fallot
TCLE	Termo de Consentimento Livre e Esclarecido
TEA	Transtorno do espectro autista
TEM	Transição endotélio-mesenquimal
TGA	Transposição das grandes artérias
VAB	Valva aórtica bicúspide
VD	Ventrículo direito
VE	Ventrículo esquerdo
VEGFA	Fator de crescimento endotelial vascular
VWFCP	Protease de clivagem do fator von Willebrand

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO GERAL	16
2 REVISÃO DA LITERATURA	18
2.1 CARDIOPATIAS CONGÊNITAS	18
2.1.1 Classificação das doenças cardíacas congênitas	20
2.1.2 Diagnóstico das doenças cardíacas congênitas	22
2.2 GENÉTICAS E GENÔMICAS DAS CARDIOPATIAS CONGÊNITAS	25
2.3 VIA DE SINALIZAÇÃO NOTCH E ALTERAÇÕES CARDÍACAS E OSTEOMIOARTICULARES	31
2.3.1 Aspectos gerais	31
2.3.2 Achados clínicos	33
3 OBJETIVOS	37
3.1 OBJETIVO GERAL	37
3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	37
4 MATERIAIS E MÉTODOS	38
4.1 DESENHO DO ESTUDO	38
4.2 CASUÍSTICA	38
4.3 METODOLOGIA	38
4.4 TRIAGEM DE PACIENTES	39
4.5 ENCAMINHAMENTO PARA CONSULTA COM ESPECIALISTA	39
4.6 ANÁLISE DOS DADOS	39
4.7 ASPECTOS ÉTICOS	40
5 RESULTADOS	41
5.1 RELATOS DOS CASOS POR NÚCLEO FAMILIAR	44
Agrupamento familiar 1	44
Agrupamento familiar 2	47
Agrupamento familiar 3	50
5.2 ACHADOS OSTEOMIOARTICULARES DA AMOSTRA AVALIADA	53
6 DISCUSSÃO	60
7 CONCLUSÕES	64
8 LIMITAÇÕES	65
9 CONSIDERAÇÕES FINAIS	66
REFERÊNCIAS	67
APÊNDICE A - TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO	82
APÊNDICE B - TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO	88

DECLARAÇÃO CONSENTIMENTO.....	92
APÊNDICE C - TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO.....	94
APÊNDICE D - FICHA DESCRITIVA INDIVIDUAL	96
APÊNDICE e – Tabela 7	97
ANEXO A – APROVAÇÃO DO COMITÊ DE ÉTICA, DO INSTITUTO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE, DA UNIVERSIDADE FEDERAL DA BAHIA (ICS/UFBA)	103
ANEXO B – APROVAÇÃO DO COMITÊ DE ÉTICA DO HOSPITAL UNIVERSITÁRIO PROFESSOR EDGARD SANTOS (HUPES)	109

1 INTRODUÇÃO GERAL

A cardiopatia congênita (CC) é caracterizada por um conjunto de defeitos estruturais e funcionais, surgidos durante a embriogênese cardíaca (Van Der Bom et al., 2001). É o tipo mais comum de defeito congênito, representando um terço de todas as anomalias congênitas, com uma prevalência estimada entre 5-10/1.000 dos nativos (0,8%) (Hoffman, Kaplan, 2002; Van Der Linde et al., 2011). Tem incidência anual global de 1,35 milhões de crianças nascidas vivas a cada ano, e é identificada em aproximadamente 10% dos natimortos, sendo também uma importante causa de morte fetal precoce (Carey et al., 2013; Gilboa et al., 2010), além de causa de morbidades cardíacas em adultos (Brickner; Hillis; Lange, 2000). Estudos epidemiológicos, clínicos e moleculares demonstraram que os fatores genéticos têm uma elevada importância na patogênese das CCs (Kathiresan, Srivastava, 2012; Lalani, Belmont, 2014). Relatos demonstraram que a diferença na prevalência desse defeito no mundo é atribuída, em parte, às maiores taxas de consanguinidade dos pais (Fahed, Gelb, Seidman, 2013).

O coração é o primeiro órgão a se desenvolver durante o processo de desenvolvimento do embrião, e essa ação é mediada através de diferenciações celulares que podem ser instrumentadas por parâmetros genéticos. Muitos estudos foram desenvolvidos objetivando a identificação de genes estruturais que estão intimamente envolvidos com a morfogênese cardíaca fisiológica, assim todos esses esforços colaboram para a identificação da etiologia genética das CCs (Pogue et al., 2015).

A cardiopatia congênita do lado esquerdo (do inglês: *Left-sided Congenital Heart Disease* – LS-CHD) representa um subgrupo de CC altamente hereditário que abrange a coarctação da aorta (CoAo), a valva aórtica bicúspide (VAB), a estenose valvar aórtica (EVA) e a síndrome do coração esquerdo hipoplásico (SCEH) (D'Amours et al., 2012). Algumas síndromes genéticas apresentam, no seu quadro clínico, a LS-CHD (Gripp *et al.*, 2013; Mattina et al., 2009; Schrandt-Stumpel et al., 2005), porém ela, não raramente, ocorre em condição não sindrômica (Garg, 2006; Theis et al., 2015). Algumas variações dos números de cópias (CNVs) têm sido associadas à patogênese das CCs, inclusive nas LS-CHD (HITZ et al., 2012), isso porque tais CNVs englobam genes previamente conhecidos por participar do desenvolvimento do coração (Evans et al., 2010; Soemedi et al., 2012; Vincent, Buckingham, 2010).

Um exemplo disso é a CNV estrutural do segmento cromossômico 9q34.3 que carrega, entre outros genes importantes, fatores de transcrição que participam da via de sinalização Notch: uma via evolutivamente conservada que regula interações entre células fisicamente

adjacentes e que é essencial no controle do padrão espacial, da morfogênese e da homeostase em tecidos embrionários e adultos (Artavanis-Tsakonas, Rand; Lake, 1999; Gazave et al., 2009). A penetrância de um defeito cardíaco em portadores de mutação em Notch1 é alta (75%), sendo a sua expressividade, tanto no fenótipo cardíaco quanto na gravidade, bastante variável entre e dentro das famílias portadoras (Kerstjens-Frederikse et al., 2016).

O Notch é um gene que codifica um receptor de natureza intragênica, altamente conservado, presente em numerosos organismos multicelulares e que regula as decisões do destino celular durante o desenvolvimento, compondo uma família com quatro isoformas distintas, cada qual localizada em um cromossomo diferente (Kopan, Ilagan, 2009). O Notch1 foi mapeado no locus 9q34.3 (Ellisen et al., 1991; Louvi, Artavanis-Tsakonas, 2012). Sua alteração tem sido associada a distúrbios congênitos do nascimento, incluindo defeitos esqueléticos axiais, desordens nos sistemas musculoesqueléticos, acarretando em distúrbios e em degeneração neurológica, em surdez e em fenômenos de mutação somáticos que levam a diferentes tipos de câncer e anomalias cardíacas congênitas (Turnpenny, 2014).

O casamento consanguíneo vem sendo fruto de investigação em famílias com doenças recessivas (Aquino et al., 2011, Bittles, 2001). Além disso, a era pós-genômica vem permitindo uma melhor investigação e compreensão de como fatores genéticos podem exercer algum tipo de influência em diversas patologias, principalmente quando essas estão relacionadas a uniões consanguíneas. Partindo de tal princípio, os avanços tecnológicos permitem uma mudança nas perspectivas prognósticas de muitas doenças, refletindo em um aumento do nível de conhecimento sobre a fisiopatologia desses achados.

Identificar alterações cardíacas em famílias que segregam CNVs contendo o gene Notch1 e identificar alterações dele em pacientes com algum defeito congênito do coração é uma importante abordagem de via dupla, por permitir informar sobre o risco de recorrência de CC e, através do aconselhamento genético, antecipar os cuidados para prevenir complicações, identificar familiares em risco de evoluir com defeitos congênitos previamente desconhecidos, além de contribuir para a comunidade de saúde na aquisição de novos conhecimentos que possam impactar no manejo, na decisão terapêutica e, conseqüentemente, em ações que melhorem o prognóstico de pacientes afetados.

2 REVISÃO DA LITERATURA

2.1 CARDIOPATIAS CONGÊNITAS

A CC consiste em alterações estruturais e funcionais desde o nascimento no coração, podendo ocorrer por lapsos no processo de desenvolvimento cardíaco do feto imediatamente após a concepção ou entre a oitava e a décima semana de gestação. Sua prevalência é de 8 - 10:1.000 nascidos vivos, tendo tal número, no Brasil, uma variação entre 5 - 12:1.000 (Rosa et al., 2012). No entanto, pesquisadores acreditam que uma prevalência real das CCs no mundo seja difícil de ser alcançada pela falta de diagnóstico precoce (Marelli et al., 2014), o que se aplica ainda mais em países que têm políticas públicas de saúde precárias, como no caso brasileiro.

Dados indicam que as CC são as patologias congênitas mais predominantes, categorizando, em média, cerca de 40% de todos os defeitos que ocorrem ao nascimento. Nos Estados Unidos, há uma ocorrência de, aproximadamente, 1 em cada 110 nascimentos, e em torno de 25% dos casos integram um subgrupo de defeitos cardíacos congênitos considerados críticos. Cerca de 3-6 de cada 1.000 nascidos vivos recebem o diagnóstico de CC grave, requerendo cuidados mais intensivos e cirurgias complexas, e pode resultar em comorbidades neurológicas no pós-operatório. A não detecção precoce das cardiopatias mais complexas traz consigo desfechos ruins, sendo, portanto, um problema de saúde pública (Acharya et al., 2004, Hoffman, Kaplan, 2002, Winlaw, 2007).

Os primeiros relatos de identificação e diagnóstico de CC ocorreram no século XVII, através de estudos que correlacionavam os sintomas clínicos com as autópsias naquela ocasião (Behrman, Kliegman, 2004). Desde então, os estudos foram aprofundados a respeito do tema, permitindo melhor compreensão de suas causas.

A etiologia da CC não está totalmente esclarecida, mas, assim como as demais malformações congênitas, pode ter múltiplas causas, envolvendo fatores ambientais, genéticos e genômicos (Chaix, Andelfinger, Khair, 2016, Liu et al., 2009). Por muito tempo, pesquisadores buscaram entender a importância dos fatores ambientais na patogênese das CCs, algumas evidências foram confirmadas ao longo do tempo: a exposição de embriões a fatores teratogênicos, como alguns compostos químicos, a exemplo do ácido retinoico; a presença de agentes infecciosos, como o vírus da rubéola, bem como algumas doenças maternas, como a diabetes, e a deficiência de compostos necessários para o desenvolvimento do embrião, como o ácido fólico, que foi comprovado ter um claro efeito patogênico (Liu et al., 2009). No

entanto, é sabido também que, no geral, sozinhos, os fatores ambientais assumem um papel menor no desenvolvimento dessa alteração (Aragão, Mendonça, Silva, 2013).

Nas últimas décadas, diversos estudos experimentais trouxeram importantes contribuições para a compreensão da etiologia das CCs (Richards, Garg, 2010). A descoberta dos mecanismos e das vias moleculares que determinam o desenvolvimento cardíaco levou a novas descobertas e à identificação de genes e de produtos gênicos importantes para a morfogênese cardíaca no estado de normalidade. Esses estudos contribuem para uma melhor compreensão da importância dos fatores genéticos e genômicos nos defeitos cardíacos congênitos (Dodge-Khatami, 2016).

As manifestações das doenças dependerão do grau de repercussão hemodinâmica, tais achados definirão sobre as complicações possíveis que podem acompanhar o curso da doença e, em geral, são observados no primeiro ano de vida. Estudos com necropsia realizados desde a década de 1980 já traziam, em seus resultados, uma maior mortalidade ocorrendo naquela faixa etária (Hegerty, Anderson; Ho, 1985; Samánek et al., 1988; Vesterby et al., 1987).

Com a evolução tecnológica, as técnicas cirúrgicas para tratar as CCs foram otimizadas, possibilitando que mais de 90% dos pacientes pediátricos diagnosticados atingissem a idade adulta (Budts et al., 2016). Existem relatos que atestam 15% de sobrevida na década de 1960 e, atualmente, podendo chegar a mais de 85%. Esses dados reforçam um aumento da prevalência de adultos portadores de CC, uma estimativa de 1,1 milhão de indivíduos na América do Norte e de 1,2 milhão na Europa. As taxas de hospitalizações na última década sofreram um aumento considerável e, a despeito desses indivíduos realizarem acompanhamento apropriado, eles não necessariamente estarão completamente curados (Kantor, 2010). No Brasil, ainda não existem estatísticas que revelem esses números.

Existem vários relatos na literatura sobre as comorbidades relacionadas às CCs em adultos. A doença hepática é um dos desfechos esperados por um aumento da pressão sistêmica venosa que resulta na rigidez hepática (Jalal et al., 2015) e na cirrose hepática cardíaca (Ford, Book, Spivey, 2015), e ela está principalmente relacionada a falhas nas anastomoses de Fontan (Lindsay et al., 2015). A função renal também parece estar relacionada: em média, 30-50% dos pacientes adultos com CC cursam com algum tipo de comprometimento renal, sendo mais comum nas doenças cianogênicas (Saiki et al., 2015). Distúrbios hematológicos também são relatados, em especial, nos casos de cianose sistêmica crônica. Há uma elevação do hematócrito, que resulta no aumento da viscosidade sanguínea, aumentando as chances de trombose (Jensen et al., 2013). Ao mesmo tempo, alterações da medula óssea reduzem o nível de plaquetas, resultando em sangramentos (Budts, 2005). Todos esses achados contribuem para

a melhor compreensão sobre as contribuições que os estudos relacionados a doenças cardíacas congênitas podem trazer para a melhora da qualidade de vida e a redução da morbimortalidade nesses indivíduos.

2.1.1 Classificação das doenças cardíacas congênitas

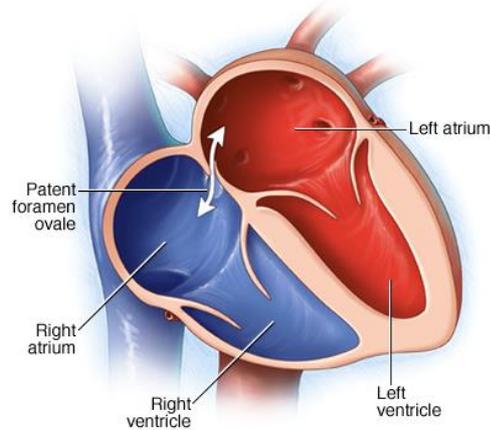
Dados da literatura informam que as malformações cardíacas congênitas podem seguir seu curso de forma assintomática ou evoluir com sintomas graves que incluem cianose, taquidispneia, sopro e arritmias cardíacas durante período neonatal. Sendo assim, podemos chamá-las de cardiopatias simples e complexas (Amorim Beltrão et al., 2011).

As CCs podem ser ainda classificadas em cardiopatias cianóticas (ou cianogênicas) e acianóticas (ou acianogênicas), através da identificação ou não de uma coloração azulada da pele e das mucosas por insuficiente aporte de oxigênio no sangue. As demais cardiopatias são identificadas com base em características de sua hemodinâmica, assim chamadas de cardiopatias de hiperfluxo pulmonar por aumento do fluxo de sangue aos pulmões ou de sua redução, como no caso das cardiopatias de hipofluxo, oriundas dessa obstrução pulmonar parcial ou total (Hockenberry, 2011).

As mais frequentes cardiopatias acianóticas são a comunicação interatrial (CIA), a comunicação interventricular (CIV), o defeito no septo atrioventricular total (DSAVT) ou parcial (DSAVP) – algumas vezes relacionados à síndrome de Down, à estenose aórtica (EA), à persistência do canal arterial (PCA) e à CoAo (Behrman, Kliegman, 2004). As cardiopatias do tipo cianóticas têm maior potencial de gravidade, levando a uma redução da concentração de hemoglobina no sangue arterial, com prejuízos relacionados ao aporte indevido de O₂ aos tecidos. A mais comum das CCs cianogênicas é a tetralogia de Fallot (T4F), com ocorrência de até 10% de casos entre todas as demais as cardiopatias (Belo, Oselame, Neves, 2016; Jatene, 2002).

Uma das características da fisiopatologia das cardiopatias acianogênicas está relacionada ao shunt (desvio de sangue) esquerda-direita, envolvendo defeitos septais – ventriculares, atriais, ou atrioventriculares – como a CIA, CIV e PCA (vide Figura 1). É importante salientar que a quantidade de shunt dependerá da resistência relativa das circulações; a circulação pulmonar apresenta menor resistência quando comparada à circulação sistêmica, gerando uma elevação do fluxo para a artéria pulmonar.

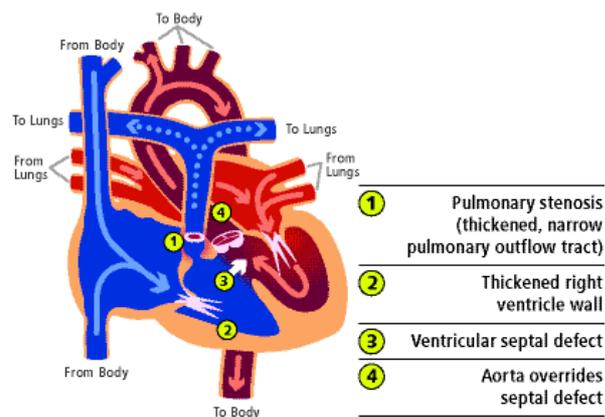
Figura 1- Imagem ilustrativa de forame oval patente (FOP). Note que este orifício pode gerar um fluxo sanguíneo interseptal atrial, que terá seu direcionamento dependente da resistência dos sistemas.



Fonte: Mayo Clinic (2019)

Para as cardiopatias cianogênicas, haverá uma inversão do shunt (quando comparado às acianogênicas) e este será direita-esquerda, podendo ocorrer em condições de obstrução do fluxo pulmonar, como ocorre, por exemplo, na T4F (Figura 2).

Figura 2 – Imagem ilustrativa da tetralogia de Fallot – Note em 3 o defeito septal ventricular que, com a obstrução do fluxo pulmonar, confere às câmaras esquerdas uma elevação da resistência, gerando um shunt direita-esquerda.

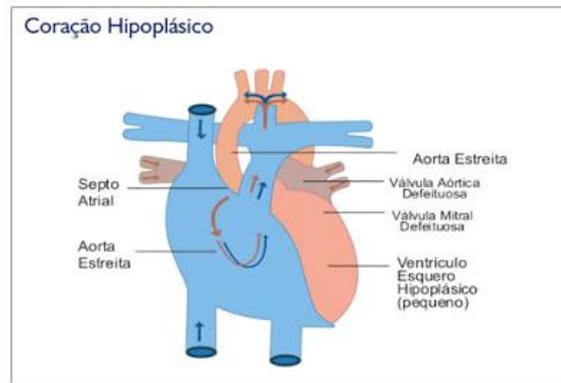


Fonte: Mott Children's Hospital (2019)

Além dessas, existem outras que envolvem lesões mistas (cianose e hiperfluxo pulmonar). Nesses casos, uma boa parcela das crianças diagnosticadas é submetida a cirurgias paliativas no período neonatal. Como exemplo disso tem-se a hipoplasia de ventrículo esquerdo (VE) descrita pela primeira vez por Noonan e Nadas, em 1958. Na ocasião, ela era definida por alterações morfológicas de atresia mitral e aórtica combinadas, mas seu conceito foi ampliado

também para os casos que tenham ambas as valvas, porém com o hipodesenvolvimento do VE incapacitando a manutenção da circulação sistêmica (Noonan, Nadas, 1958, Bharati, Lev, 1984).

Figura 3 – Imagem ilustrativa da hipoplasia do ventrículo esquerdo. Note a câmara ventricular esquerda em dimensão menor, levando à restrição do fluxo sistêmico, nesse caso, há cianose e hiperfluxo pulmonar.



Fonte: Filhos do coração (2009)

2.1.2 Diagnóstico das doenças cardíacas congênitas

As maiores taxas de incidência das CCs estão relacionadas às doenças acianogênicas. Estas, por sua vez, são as menos sintomáticas e, portanto, de diagnóstico mais difícil, a menos que ocorram em associação com outras malformações cardiovasculares (Tabela 1). Em geral, as comunicações interventriculares e interatriais e as estenoses de válvula aórtica ocorrem concomitantes a defeitos cardíacos maiores, o que pode colaborar com o diagnóstico desses defeitos quando não isolados (Kobinger, 2003).

Há destaque merecido para as doenças cardíacas adquiridas na infância: as suas ocorrências são variáveis de acordo com a população estudada, as de maior incidência são a febre reumática, as miocardites e as endocardites, à medida que a criança é mais exposta aos agentes infecciosos. Nos casos de cardiopatias adquiridas, a apresentação pode ser mais tardia. Um exemplo clássico de doença silenciosa é a doença de Kawasaki, pois ela pode causar infarto, levar a aneurismas coronarianos e sistêmicos, e a valvulopatias (Thangaratnam et al., 2012).

Tabela 1 - Frequência das cardiopatias congênitas

ACIANOGENICAS		CIANOGENICAS	
CARDIOPATIA	%	CARDIOPATIA	%
Comunicação interventricular – CIV	15 a 20% *	Tetralogia de Fallot – T4F	10%
Comunicação interatrial – CIA	5 a 10% *	Transposição de grandes artérias – TGA	5%
Persistência do canal arterial – PCA	5 a 10%		
Coarctação da aorta – CoA	8 a 10 % †		
Estenose pulmonar – EP	8 a 12%		
Estenose aórtica – EA	8 a 12%		

Fonte: Adaptado de Kobinger (2003)

Legenda: * CIV e CIA ocorrem em associação com outras cardiopatias congênitas em 30% a 50% dos casos.

† Associação frequente com síndrome de Turner.

‡ Ocorre em 30% dos pacientes com síndrome de Down .

Em geral, as alterações hemodinâmicas revelam, muitas vezes, quadro clínico que direciona o diagnóstico das doenças cardiovasculares. Em alguns casos, no início das CCs, podem ser silenciosas e somente reconhecidas na vida adulta ou em situações bem específicas, como no caso das pequenas malformações em que somente são descobertas durante um processo infeccioso, como ocorre, por exemplo, na válvula aórtica bicúspide. O entendimento da evolução das doenças cardiovasculares direciona o olhar do pediatra para as queixas, os sinais e os sintomas e/ou as alterações auscultatórias, levando ao diagnóstico dessas doenças que permaneceram assintomáticas até então (Firpo et al., 2006).

Um teste simples e não invasivo à beira do leito é a oximetria de pulso, que possui a capacidade de detectar precisamente a porcentagem de hemoglobina saturada com oxigênio, por exemplo, lactentes com CC podem ter queda de saturação, ainda que não se tenha dado início a outros sintomas. Uma revisão de treze estudos, realizada em 2012, usando oximetria de pulso para rastrear CC, conhecida como a triagem por oximetria de pulso, trouxe uma sensibilidade de 76,5% e uma especificidade de 99,9% (Thangaratinam et al., 2012). Esses e outros estudos tornaram-se base para a implantação da oximetria de pulso (teste do coraçãozinho) nas primeiras horas de vida do recém-nascido como sendo um importante sinalizador na triagem para doenças cardíacas neonatais.

A aferição deve ser realizada entre 24 e 48 horas de vida, no membro superior direito e no membro inferior homolateral, e a saturação periférica de oxigênio (SpO₂) deve ser maior ou igual a 95% em ambas as medidas. Nos casos em que a SpO₂ seja menor que 95% ou em que

haja uma diferença igual ou superior a 3% entre as medidas de ambos os membros, uma nova aferição deverá ser realizada após uma hora. Se o resultado se confirmar, o bebê deve realizar um ecocardiograma nas 24 horas seguintes (SBP, 2011).

Algumas questões durante a triagem neonatal e pré-natal devem ser analisadas para se fecharem prováveis diagnósticos de CC: dizem respeito ao antecedente de CC tanto para os genitores quanto para os irmãos, a história pregressa traz consigo a elevação do risco de ocorrência de lesões iguais ou similares, sendo que essas chances aumentam quando a história pregressa está relacionada à mãe e/ou mais de um familiar. Alguns tipos de cardiopatia apresentam baixas taxas de recorrência familiar e outros têm índices elevados de recorrência familiar (Kobinger, 2003).

O exame físico nesses pequenos pacientes é imprescindível. A ausculta cardíaca faz parte da rotina do pediatra durante a avaliação clínica do paciente, portanto não é incomum encontrar sopro cardíaco ocasional nessa população. Tal achado é motivo frequente de encaminhamento ao especialista em cardiologia nessa faixa etária. Uma boa parte dos achados de sopro é identificada como sendo “inocente” (Firpo et al., 2006, Kobinger, 2003). Estudos da década de 1990 já demonstram que o profissional pediatra tem expertise suficiente para diferenciar um sopro dito como “inocente” daquele que é patológico (McCrindle et al., 1995; Rajakumar et al., 1999). O exame clínico realizado por esses profissionais possui alta sensibilidade e especificidade e, em casos em que há discordância, as patologias são mais simples e sem repercussão hemodinâmica, porém devendo ser acompanhadas por exames específicos e/ou cateterismos (Firpo et al., 2006).

Constituem sopros cardíacos quaisquer anormalidades da ausculta bastante comuns na infância, e são definidas como ondas sonoras turbulentas que se originam do coração e/ou sistema vascular. O sopro cardíaco “inocente” está relacionado a uma alteração da ausculta na ausência de qualquer anormalidade anatômica e/ou funcional do sistema cardiovascular (Kobinger, 2003, McCrindle et al., 1996).

O diagnóstico de CC no exame pré-natal alinha o manejo pela equipe de saúde e promove a possibilidade de preparar os genitores para a condução de cuidados ao bebê com risco cardiovascular (Barbosa et al., 2017; Kovalchin, Silverman, 2004). Desta forma, será permitido, em tempo hábil, o encaminhamento a um centro terciário para casos diagnosticados de lesões complexas e que necessitem de acompanhamento no periparto. Essa detecção precoce irá permitir um planejamento de cuidados especializados para fetos com lesões cardíacas críticas (Lai, Chau, Lee, 2016). A importância de um diagnóstico precoce permeia a otimização

dos resultados frente à condição cardíaca e melhora a sobrevida quando comparamos aos recém-nascidos diagnosticados pós-nascimento.

É crucial também o entendimento de uma provável evolução da CC durante a gestação. Isso implica em seriar exames ultrassonográficos para mapear essa evolução, além de sua relevância para o aconselhamento do paciente (Lai; Chau; Lee, 2016). Apesar disso, apenas metade dos bebês submetidos à abordagem cirúrgica no primeiro ano de vida tem um diagnóstico pré-natal (Gardner, 2018).

O ecocardiograma fetal, portanto, tem potencial valor preditivo para a identificação da grande maioria dos casos de CCs mais graves, entretanto os resultados são mais sensíveis no segundo trimestre, por isso sua indicação maior nesse período (Bhat, 2013; Mogra et al., 2015, Zidere et al., 2013).

2.2 GENÉTICAS E GENÔMICAS DAS CARDIOPATIAS CONGÊNITAS

Dentre os fatores que estão ligados à etiologia das cardiopatias congênitas, as alterações genéticas possuem destaque. Cerca de 20% de todos os casos de alterações cardíacas estão relacionados a síndromes mendelianas e cromossômicas. Em torno de 80% dos mecanismos genéticos implícitos ainda estão desconhecidos (Bittel et al., 2011, Soemedi et al., 2012).

Um inadequado funcionamento de vias que regulam o desenvolvimento estrutural do coração embrionário pode levar à falha no desenvolvimento cardíaco embrionário, e essas falhas podem estar ligadas a instabilidades genômicas e/ou epigenéticas cumulativas, representando um obstáculo para os pesquisadores no campo científico (Bittel et al., 2011).

Autores afirmam que fatores genéticos possuem maior predominância para as etiologias das cardiopatias congênitas, ainda que fatores ambientais possam contribuir para esse diagnóstico. Além disso, a consanguinidade entre pais resulta em chance aumentada para o desenvolvimento de doença cardíaca para a prole (Gelb, Seidman, 2012, Nabulsi et al., 2003, Yunis et al., 2006).

Um estudo dinamarquês realizou um registro médico nacional e desvelou a possibilidade de risco positivo para o surgimento de qualquer tipo de doença cardíaca congênita entre parentes de primeiro grau (Oyen et al., 2009).

No passado, as abordagens utilizadas para estudar o genótipo de indivíduos com fenótipo de CC eram feitas exclusivamente de duas maneiras. A primeira ocorria através do estudo de *loci* cromossômicos identificados mediante avaliação citogenética ou por análise de ligação. A segunda era através de análises de mutação direta em genes candidatos, selecionados com base nas suas funções biológicas (Hartman *et al.*, 2011, Krantz, Piccoli, Spinner, 1999).

A análise de ligação parte da identificação de um indivíduo afetado (o probando) e evolui para o estudo da família, a fim de verificar recorrência do fenótipo. A análise de marcadores genéticos, por sua vez, tem o objetivo de identificar a segregação do fenótipo com um específico genótipo. Com isso, o estudo cromossômico foi uma importante ferramenta na identificação de *loci* associados à CC, a exemplo do estudo de pontos de interrupção cromossômicos das translocações que permitiram a identificação do gene PROSIT240, responsável pela transposição das grandes artérias (TGA) (Muncke et al., 2003).

A avaliação de genes candidatos, baseada nas informações do seu papel biológico, consiste na identificação de numerosas mutações patogênicas associadas a importantes defeitos cardíacos. Essa metodologia permitiu a identificação do gene CFC1 coadjuvante na TGA e a associação com defeito cardíaco como ventrículo de dupla saída (Goldmuntz et al., 2002).

Posterior a isso, a citogenética clássica também contribuiu para o entendimento do papel da dosagem cromossômica no desenvolvimento de defeitos cardíacos congênitos. Cerca de 30% das crianças nascidas com algum tipo alteração cromossômica cursam com CC (Pierpont et al., 2007). As aneuploidias cromossômicas representam 12,5% dos casos de CC na população pediátrica (Hartman et al., 2011), as numéricas, como a síndrome de Down (trissomia do cromossomo 21), a síndrome de Patau (trissomia do cromossomo 13), a síndrome de Eduard (trissomia do cromossomo 18), a síndrome de Klinefelter (trissomia dos cromossomos sexuais, 47, XXY) e a síndrome de Turner (monossomia do cromossomo sexual, 45, X) são as maiores representantes desse grupo (Schinzel, 2001). Avaliações clínicas desses pacientes demonstram que 50% dos indivíduos com trissomia do 21 têm CCs que variam de defeitos do septo atrial e ventricular a lesões do canal atrioventricular. Na trissomia 13, a incidência desses achados aumenta para 80%, sendo mais comuns os defeitos de heterotaxia e de lateralidade. Quase a totalidade dos indivíduos com a trissomia do 18 apresentam CC, sendo as alterações septais as mais predominantes. Quanto às aneuploidias dos cromossomos sexuais, cerca de 50% dos homens com síndrome de Klinefelter apresentam persistência do canal atrial e defeitos no septo atrial. Já nas mulheres com monossomia do X, as malformações cardíacas mais prevalentes são nas estruturas cardíacas do lado esquerdo, sendo os diagnósticos mais comuns: VAB, EA, SCEH e CoAo (Ashleigh, Richards, Garg, 2010, Schinzel, 2001).

Os avanços na tecnologia de análise citogenética permitiram a identificação de síndromes de microdeleções cromossômicas associadas às CCs, a exemplo da síndrome de Williams (del7q11.23), a síndrome Di George/velocardiofacial ou CATCH22 (22q11.2), e a síndrome de microdeleção e microduplicação 1q21.1 (Brunet et al., 2009; Komoike et al., 2010, Mefford et al., 2008, Pober, 2010, Wilson et al., 1992, Yagi et al., 2003). O estudo do conteúdo

dessas regiões deletadas e duplicadas levaram à identificação de genes responsáveis por causar alterações cardíacas, sejam eles associados à síndrome ou de forma isolada, a exemplo do gene JAG1 (20p11-2), ligado seja à síndrome Alagille (SA), seja à T4F isolada (Eldadah, Hamosh, Biery, 2001, Li, Newbury-Ecob, Terrett, 1997; Oda et al., 1997).

A partir de 2012, novas técnicas de análise do genômicas tornaram-se amplamente disponíveis, trazendo mudanças significativas na compreensão das causas das CCs (Cowan, Ware, 2015). Esse avanço permitiu maior precisão na definição das patogenias das doenças cardíacas congênitas em pacientes de todas as idades, inclusive no período pré-natal (Lee et al., 2017, Paterick et al., 2013).

As ferramentas para estudos de associação ampla do genoma (GWAS, do inglês: *genome-wide association study*) conferem elevada importância na associação de marcadores genéticos, genes e regiões genômicas aos fenótipos cardiológicos, como a doença arterial coronariana (DAC), os infartos do miocárdio (IM) e a CC. A abordagem do GWAS identificou novos e importantes contribuintes genéticos para esses fenótipos, deixando espaço para medidas e tratamentos preventivos aprimorados (Hanchard et al., 2016, Kariz, Petrovic, 2012, Ogawa et al., 2010). Isso vem ampliando o entendimento e o detalhamento do processo de regulação da expressão de genes associados ao desenvolvimento cardíaco habitual e suas variantes patológicas.

Importante contribuição obtida através da ampliação por análise GWAS são os achados das CNVs. Trata-se de uma variante estrutural cujo uso está aumentando nos últimos anos. Essa variante é caracterizada pela exclusão ou duplicação de uma determinada região no DNA. Seu comprimento pode variar de poucos pares de bases até um inteiro cromossomo.

Dados da literatura atual demonstram que CNVs patogênicas são encontradas em até 25% dos indivíduos com CC com características sindrômicas e em até 10% dos indivíduos que constam com CC isolada (Greenway et al., 2009, Pierpont, 2018). Esse tipo de alteração genômica também vem sendo encontrada em indivíduos que sofreram acidente vascular cerebral (AVC), além de infarto agudo do miocárdio (IAM) e outras alterações cardiovasculares isoladas, o que confere um importante fator de risco para tais desfechos (Shia et al., 2011, Colaianni et al., 2016, Vijay et al., 2018).

Evidências apontam para alterações no mecanismo de expressão envolvendo o gene CHRNA7 localizado em 15q13.3, que codifica para a subunidade $\alpha 7$ dos receptores nicotínicos de acetilcolina (nAChRs) (Schaaf, 2014). As CNVs em 15q13.3 manifestam penetrância incompleta e, quando em deleção, levam a fenótipos neuropsiquiátricos em aproximadamente

80% dos casos (Lowther et al., 2015). Nas duplicações, existe uma variabilidade considerável nos fenótipos encontrados (Szafranski et al., 2010, Lowther et al., 2015).

Em pesquisas em banco de dados que comparam genótipo-fenótipo, pode-se observar a descrição de alterações cardíacas em pacientes com alteração 15q13.3, entre elas: defeito do septo atrial, sopro cardíaco e FOP (DECIPHER). Em 2010, Szafranski e colaboradores em um artigo, no qual se questiona a patogenicidade dos mecanismos de duplicação do gene *CHRNA7*, descrevem defeitos congênitos, como a SCEH e a CoAo na população com duplicação desta área cromossômica (Szafranski et al., 2010). Estes achados demonstram quanto as CNVs interferem no mecanismo da expressão gênica, influenciando na dosagem dos genes que se encontram no seu interior. Neste sentido, o sequenciamento de genes localizados no interior das CNVs vem se tornando importante para a etiologia de muitas patologias.

Achados igualmente importantes nas últimas décadas se referem à contribuição dos polimorfismos de alguns genes nas doenças arteriais coronarianas (Morita, 1997). As trombospondinas são um exemplo de transcritos amplamente associados ao aparecimento de doenças cardiovasculares. Trombospondinas são membros de uma família de proteínas que regulam a interação célula-matriz e célula-célula (Topol et al., 2001, Stenina et al., 2007). São conhecidas pelo menos 5 variantes do gene *THBS*, que codifica este tipo de proteína, a variante 1, foi inicialmente mapeada em 15q11qter (Wolf et al., 1990), as variantes de 2-4 estão localizados em outro cromossomo (Gene Card, 2019). Atualmente uma nova localização cromossômica foi proposta como sendo o lócus definitivo da variante 1 (15q14) (OMIM #188060). De certo se tem que esta primeira variante desempenha papel fundamental na transcrição de outros genes que desempenham papel importante, como o fator de crescimento endotelial vascular (*VEGFA*), localizado em 6p21.1, o fator de transcrição *MEF2A*, localizado em 15q26.2, a protease de clivagem do fator von Willebrand (*VWF*), encontrado em 9q34.2, receptores de citosinas, interleucinas, fatores de crescimento e as outras variantes *THBS* (revisão em OMIM).

Os primeiros achados associando as trombospondinas à DAC e ao IM foram obtidos através de uma pesquisa de larga escala utilizando as novas tecnologias genômicas para análise de genes candidatos em uma coorte de pacientes cardiológicos. Nesta, a variante 4, mapeada em 5q14.1, foi fortemente associada ao aparecimento dos fenótipos em idade precoce (Topol et al., 2001). Em estudos posteriores foi possível associar também a variante 2, mapeada em 6q27 (McCarthy et al., 2004).

Mais recentemente, inúmeros artigos vêm sendo publicados relatando o envolvimento da variante 1 no desfecho cardiovascular, seja ela como protagonista direta ou por provocar

desequilíbrio na função de outros genes igualmente importantes para a fisiologia cardíaca (Ashokkumar et al., 2011, Abdelmonem et al., 2017).

Esses achados se justificam pela importante função desse gene na biologia celular endotelial, vascular, no metabolismo lipídico e na cascata de coagulação. A proteína codificada por esse gene é uma subunidade de uma proteína homotrimérica ligada ao dissulfeto, com capacidade de se ligar ainda ao fibrinogênio, à fibronectina, à laminina, ao colágeno tipo V e às integrinas alfa-V / beta-1, desempenhando papéis na agregação plaquetária, na angiogênese e na tumorigênese (RefSeq, 2008).

Outros fenótipos encontrados em associação a alterações em número de cópias amplamente relatadas são, dentre eles, deficiência intelectual, anomalias craniofaciais, epilepsia, autismo, atraso no desenvolvimento, dentre outros achados (Cooper et al., 2011).

Microduplicações no cromossomo 15, explicitamente em 15q, são relatadas como relacionadas à hipotonia e aos atrasos motores, à incapacidade intelectual, ao transtorno do espectro autista (TEA) e à epilepsia, incluindo espasmos infantis. Dismorfismos também foram relatados, dos quais observamos as malformações nasais, as fissuras palpebrais descendentes, a micrognatia, a implantação baixa da orelha, o occipital plano, a testa baixa, o palato arqueado e as alterações labiais. Há relatos também de psicose ou de morte súbita e inexplicável (Battaglia, Parrini, Tancredi, 2010, Orrico et al., 2009, Urraca et al., 2013, Wolpert et al., 2000).

Um importante estudo avaliou indivíduos com casos de microdeleções e de microduplicações em 15q13.3 intra e interfamiliar. Os resultados convergiam para atraso no desenvolvimento, doenças psiquiátricas, problemas de aprendizagem na infância, defeitos cardíacos, entre outros achados. Esses pesquisadores associaram a participação de um gene, o KLF13, localizado em uma região crítica, para essas anormalidades (Van Bon et al., 2009).

O gene KLF13 também está expresso no coração e pode levar a defeitos do septo atrial e à hipotrabeclação. Mutações, portanto, ocasionam alterações cardíacas congênitas em humanos. Além desses fenótipos, um grupo de pesquisadores também encontrou evidências de sua participação nas células epiteliais, na mesênquima cerebral, nos gânglios dorsais e nos músculos esqueléticos (Lavalley et al., 2006).

Dados clínicos de pesquisadores que investigaram história familiar de onze pacientes foram reunidos, e evidências de pequenas microduplicações em 15q13.2-q13.3, envolvendo o gene CHRNA7, sugerem associação desses marcadores ao atraso no desenvolvimento e à hipotonia muscular, entre outros (Szafranski et al., 2010).

Outras microduplicações cromossômicas foram relatadas na literatura, dentre elas, no cromossomo 9, especificamente em 9q34.3.

Em 1983, Allderdice et al., correlacionando os fenótipos e os cariótipos dos filhos de quatro famílias portadoras de uma inserção invertida no braço longo do cromossoma 9 (9q22.1q34.3q34.1), descobriram uma nova síndrome cromossômica: a síndrome da duplicação 9q34. A análise familiar indicou um ancestral comum que ligava cada um dos quatro probandos e um total de cinquenta gravidezes de quinze irmãos/irmãs destas, seis gestações que foram interrompidas nos primeiros três meses por aborto espontâneo, e quatorze dos quarenta e quatro nativos apresentaram fenótipos compatíveis com a duplicação 9q34, destes, dez foram cariotipados e tiveram a duplicação constatada (Allderdice et al., 1983). As características clínicas apresentadas por esses indivíduos eram compatíveis com a primeira descrição de duplicação 9q distal (9q31qter), observada por Turleau et al., em 1975, e sobrepunham características encontradas em pacientes com trissomias do cromossoma 9, completa e em mosaico, sobretudo as alterações craniofaciais e musculoesqueléticas, principalmente graves dismorfismos das mãos e dos pés, movimentos articulares limitados e deformidades em quadris, no joelho, nos cotovelos e nos tornozelos, além de alterações urogenitais e cardíacas (Turleau et al., 1975).

Até a atualidade, não existem, na literatura, outros relatos que associem a duplicação 9q34 a uma síndrome. Todavia, nos últimos anos, com a exploração do inteiro genoma, têm sido identificadas alterações que causam diversas desordens, dentre elas, a duplicação envolvendo o segmento 9q34 (Bruns, 2011, Cheung et al., 2012, Humphray et al., 2004, Mankin, Jesse, Trahan, 2011).

Pesquisa recente desenvolvida por Alves e colaboradores (2015) trouxe achados de variação do número de cópias (CNV) neste seguimento cromossômico (9q34.3). Seis dos 11 indivíduos da família que concluíram a avaliação genômica apresentaram essa variante, tendo como característica de transmissão a herança materna, a qual apresentava além dessa CNV, uma região igualmente duplicada em 16q12.3. Uma das filhas que herdou a variante do cromossoma 9 também herdou do pai a variante do 15q. Diversos fenótipos encontrados por nessa família são compatíveis com os descritos por Allderdice (Alves, 2015).

Microduplicações em 9q34.3 evidenciam uma sequência de genes bastante ampla, em que cada um deles possui um vasto número de publicações na literatura associado a fenótipos cardiovasculares: o NOTCH1. Alterações ligadas a esse gene estão fortemente associadas a distúrbios musculoesqueléticos e craniofaciais, como micrognatismo, alterações nas suturas cranianas, alterações ósseas. Ademais, NOTCH também está expresso na linha epicárdica e leva à inibição da formação das artérias coronárias e à redução e à proliferação de cardiomiócitos (Taboada Lugo; Herrera Martinez, 2018).

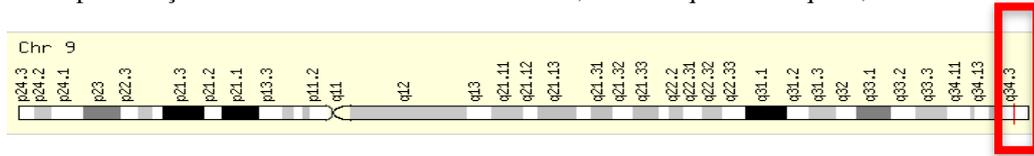
2.3 VIA DE SINALIZAÇÃO NOTCH E ALTERAÇÕES CARDÍACAS E OSTEOMIOARTICULARES

2.3.1 Aspectos gerais

O gene Notch pertence a uma família de proteínas transmembranares do Tipo I responsáveis por características estruturais, incluindo múltiplas repetições do fator de crescimento epidérmico (Genecards, 2019). As proteínas do tipo Notch, quando se ligam a proteínas também transmembrânicas (a exemplo: *Delta*, *Jagged* ou *Serrate*) de uma célula vizinha, acabam por ativar uma cascata bioquímica, levando à formação de vários órgãos de vertebrados, e são receptores extremamente importantes no sistema nervoso, em que elas ditarão a diferenciação celular (Gilbert, 2019).

A via de sinalização Notch está envolvida em processos relacionados à especificação, à diferenciação, à proliferação e à sobrevivência do destino celular, e é uma via de sinalização intercelular altamente conservada que regula as interações entre células adjacentes através da ligação dos receptores da família Notch aos ligantes cognatos. A codificação da pré-proteína forma um receptor maduro da superfície celular que desempenha um papel no desenvolvimento de vários tipos de células e tecidos, incluindo a angiogênese. Durante o desenvolvimento cerebelar, ele está envolvido na diferenciação da glia de Bergmann. Está envolvido também na determinação da simetria esquerda/direita, ajustando esse equilíbrio entre os cílios durante a embriogênese, com a finalidade de organização esquerda-direita dos órgãos dentro do corpo humano. Está localizado no braço longo do cromossomo 9, especificamente em 9q34.3 (Genecards, 2019) (Figura 4).

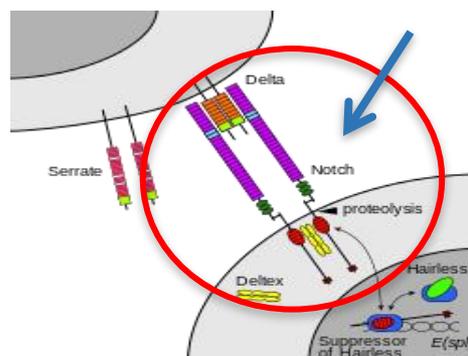
Figura 4 - Representação do bandeamento do cromossomo 9, em destaque a zona q34.3, lócus da família NOTCH.



Fonte: Adaptada de GeneCards, 2019.

A via de sinalização ocorre através de ligações entre receptores e ligantes durante o contato físico celular. Em *Drosophila Melanogaster*, foram identificados apenas um receptor Notch (*dNotch*) e dois ligantes (*Serrate* e *Delta*), e em mamíferos, quatro receptores até então já foram identificados (Notch1-4) e cinco ligantes (*Jagged 1 e 2*, homólogos de *Serrate* e *Delta 1, 3 e 4*, homólogos de *Delta*). A via de sinalização, portanto, vai ocorrer quando houver interação entre a célula que expressa o receptor e a célula que expressa o ligante (Vasconcelos, 2011) (Figura 5).

Figura 5 – Imagem esquematizando a ligação existente entre o ligante Delta e o receptor Notch. Pode-se observar duas células adjacentes mantendo contato físico para o processamento da comunicação. Desta forma, há permissão de um controle para diferenciação celular durante o desenvolvimento embrionário. A decisão de quais das células manterão o processo de divisão através da competição de sinais na superfície celular. Uma dessas células, portanto, irá produzir mais proteína em sua superfície e ativará os receptores Notch na célula adjacente. Assim, um sistema de *feedback* será ativado e reduzirá a expressão de receptores Notch exatamente na célula que se irá diferenciar e aumentá-los na superfície da célula, que continuará como célula estaminal (ou célula tronco).



Fonte: Autoria própria

A via de sinalização Notch foi sugerida pela primeira vez em 1937 por Donald F. Poulson, em estudos de ablação em partes do cromossomo X em *Drosophila Melanogaster*. Na ocasião, eles observaram que o ectoderma proliferava especialmente ao longo da linha média ventral, aparentemente como sendo o início do sistema nervoso (Vasconcelos, 2011).

Finalmente, em 1985, um grupo de pesquisadores usou a caminhada cromossômica e um método de sequenciamento denominado Sanger (que tinha sido descrito há apenas alguns anos antes) para determinar a sequência nucleotídica que abrangia o locus Notch. Desde então, a sequência de em torno de 2.703 aminoácidos pôde ser determinada (Poulson, 1937).

2.3.2 Achados clínicos

A literatura descreve o importante papel da sinalização Notch no desenvolvimento esquelético e na remodelação óssea. Nos osteoblastos, a sua ativação inibe a diferenciação celular, levando à osteopenia esponjosa pela formação óssea perdida. Em nível de osteócitos, Notch1 tem efeitos distintos, acarretando uma inibição da reabsorção óssea secundária a uma indução de osteoprotegerina (um fator ligante que inibe a diferenciação dos pré-osteoclastos em osteoclastos). A sinalização, portanto, induz à osteoclastogênese e à reabsorção óssea. Distúrbios congênitos relacionados à perda da função Notch trazem consigo alterações clínicas importantes afetando diretamente o esqueleto humano. A superexpressão desse gene está relacionada à osteossarcoma e ao carcinoma da mama e da próstata (Zanotti, Canalis, 2016), e suas mutações estão associadas à doença valvar aórtica, à síndrome de Adams Oliver (SAO), à leucemia linfoblástica aguda de células T, à leucemia linfocítica crônica e ao carcinoma espinocelular de cabeça e de pescoço (Genecards, 2019). Em resumo, o gene desempenha um papel crítico na formação esquelética e na homeostase, e as alterações em sua via de sinalização levam a distúrbios esqueléticos graves (Zanotti, Canalis, 2016).

A via de sinalização Notch tem um papel extremamente importante no processo da embriogênese, principalmente nos mamíferos, mediando a comunicação célula-célula para definições do destino celular durante o desenvolvimento. Seu papel está relacionado às etapas que precedem e permitem, durante o desenvolvimento celular, o processo de transição epitelial para mesenquimal, e quaisquer alterações nesse sentido podem acarretar em doenças cardíacas congênitas em humanos (Wharton et al., 1985).

Existem vários relatos que essa mesma via de sinalização tem potencial poder de reparação miocárdica, trazendo proteção para isquemias e contribuindo para a angiogênese. Dentre tantos papéis desempenhados pelo gene Notch, um deles diz respeito à divisão/conexão atrioventricular, separando o fluxo sanguíneo atrial do ventricular no músculo cardíaco. Tal divisão, denominada canal atrioventricular, será seguidamente acompanhada da formação da valva que separa esse canal durante a embriogênese cardíaca, em um processo denominado transição endotélio-mesenquimal (TEM), mediada pelo gene Notch, sendo tal etapa necessária

para o desenvolvimento da valva atrioventricular. Sua interrupção pode levar a defeitos valvares bem como septais cardíacos (Zhou, Liu, 2014).

Pesquisadores sequenciaram o gene *Notch1* em um grupo de pacientes americanos-europeus, não consanguíneos, com EVA, VAB, CoAo, e/ou SCEH, e identificaram duas variantes missenses em heterozigose em seis dos noventa e um indivíduos testados, quatro destes com EVA e/ou VAB que, em um, estava associada à CoAo e em dois, à SCEH. Em todos os casos, a variante *Notch1* foi encontrada em um dos genitores assintomáticos (Anbara, Sharifi, Aboutaleb, 2019).

Estudos identificaram que pacientes com a SAO apresentam quadro de CC, incluindo a T4F e a atresia pulmonar, e também possuíam diferentes variantes gênicas de *Notch1* (McBride et al., 2008). Em pacientes com SAO, foram identificadas mutações patogênicas no gene *Notch1*, o que levou à conclusão de que o gene *Notch1* é a principal causa da doença (Stittrich et al., 2014). Naquele mesmo ano, foram estudadas cinquenta e uma crianças com CoAo e duzentos controles com outras cardiopatias, e identificaram, através do sequenciamento direto do gene *Notch1*, vinte e nove variantes nesse gene. Achado familiar de CC foi identificado em 34,3% dos casos diagnosticados (Freylikhman et al., 2014). Outros estudos em separado utilizaram a técnica de hibridização comparativa do genoma (CGH) para pesquisarem pacientes com CC e revelaram CNV estrutural em 9q34.3, em heterozigose, de acontecimentos de novo, caracterizada por perda de um fragmento de tamanho variando de 190–263Kb. O número total de genes perdidos variou entre 2-9, sendo em comum, aos três casos, a perda dos genes *Notch1* e *EHMT1*. Os pacientes apresentavam fenótipos de T4F, de CoAo e de SCEH (Greenway et al., 2009, Payne et al., 2012, Theis et al., 2015).

Um estudo de 2016 evidenciou que o espectro da doença cardíaca congênita não se limitava apenas a defeitos do lado esquerdo do coração, mas também àqueles relacionados com a válvula pulmonar conotruncal, como a atresia pulmonar com septo ventricular intacto, a T4F e a truncus arteriosus, assim como outras CCs, como: a drenagem anômala de veias pulmonares (DAVP), a CIA e a CIV. Isto só embasa ainda mais a hipótese que o *Notch1* tem um papel importante sobre a formação das válvulas semilunares (Kerstjens-Frederikse et al., 2016).

Cientistas avaliaram casos de T4F não sindrômicas e evidenciaram dois genes (*Notch1* e *FLT4*) como possíveis contribuições para esse diagnóstico específico. Esse mesmo estudo traz fortes indícios das contribuições do gene *Notch1* para defeito cardíaco congênito (Matos-Nieves, Yasuhara, Garg, 2019).

Todos esses estudos evidenciam a variabilidade nos achados genéticos que podem levar à alteração nesse importante gene e ainda envolver em um aspecto sindrômico com múltiplos

fenótipos, como no caso da SAO. Mutações autossômicas dominantes na linha germinativa no *Notch1* levam a esta síndrome, que tem como achados associados a aplasia cútis congênita e os defeitos transversais terminais dos membros, sendo que quase a metade dos indivíduos pode cursar com CC, incluindo CIA, CIV, estenose da válvula aórtica, estenose da válvula pulmonar e T4F (Stittrich et al., 2014, Swartz et al., 1999). Essa relação entre doenças sindrômicas e fenótipos cardíacos tem sido evidenciada em muitos estudos, mas, nos últimos tempos, o entendimento sobre a participação e a contribuição genética têm mobilizado diversos pesquisadores do mundo inteiro a analisar isoladamente o papel do genoma no surgimento dos defeitos congênitos.

O entendimento sobre o processo de sinalização Notch poderia explicar como uma sequência dentro desta via leva a defeitos cardíacos. Uma possibilidade seria entendendo, portanto, o seu importante papel na embriogênese cardíaca. Os processos centrais que dão origem à morfogênese cardíaca normal dependem da comunicação entre o endocárdio e o miocárdio nessa fase. Esse processo inclui a trabeculação, a septação de câmara e a vasculogênese coronariana (Vandusen et al., 2014). As almofadas mesenquimais, que são responsáveis pelo revestimento cardíaco no início da embriogênese, sofrem remodelação para a formação dos septos cardíacos e para a formação das válvulas atrioventriculares e semilunares. Quando esse processo é interrompido, há então o surgimento das doenças cardíacas mais comuns descritas na literatura científica (Mommersteeg et al., 2015).

A bomba *Mental 1* (MIB1) é uma proteína que tem como responsabilidade ativar essa via de sinalização por ativação dos ligantes Notch. Um estudo de 2018 trouxe a primeira evidência de que mutações funcionais de MIB1 têm o potencial de poder invalidar completamente a sinalização de Notch, justificando o surgimento de defeitos congênitos no coração (Li et al., 2018).

Em 2005, autores avaliaram uma grande família com onze membros afetados por doença valvar aórtica autossômica dominante. A malformação cardíaca primária nos familiares afetados foi a VAB. Desses indivíduos, sete desenvolveram calcificação da válvula aórtica, e alguns deles realizaram substituição cirúrgica da válvula. Os loci da doença foram mapeados para o cromossomo 9q34. Eles sequenciaram um gene candidato, o *Notch1*, e identificaram uma mutação específica nesse gene (Garg et al., 2005).

Outras alterações foram descritas na literatura sobre a sinalização Notch e defeitos cardíacos, e esse entendimento vem sendo objeto de estudos de pesquisadores no mundo inteiro. Um estudo realizado em 2000 já trazia que a interrupção de *Notch1* em camundongos resultava

em letalidade embrionária por defeitos vasculares, sobrepondo a ideia de que os efeitos desta via de sinalização, a nível cardiovascular, vêm sendo estudados há décadas (Krebs et al., 2000).

Em 2006, pesquisadores a avaliar o papel do gene Notch e sua via de sinalização encontraram evidências da participação dessa via na deposição de cálcio em valvas aórticas. Em um modelo experimental, cientistas inibiram a atividade de Notch em válvulas porcinas, o que resultou em uma calcificação acelerada. Eles também realizaram uma estimulação da sinalização de Notch, e o processo de calcificação foi atenuado (Liu et al., 2019).

De todos os estudos que serviram como base para esta revisão, uma boa parte deles converge nos efeitos do Notch, porém há pouca alusão à via de sinalização. Este é um processo amplo, rico de informações que poderiam explicar como uma via tão conservada pode gerar tantos desfechos desfavoráveis na embriogênese.

A via de sinalização Notch parece ser responsável por destinar células não somente na formação do coração, mas também do fígado, dos olhos, dos ouvidos e da coluna vertebral. Além disso, outro papel importante parece ser exercido por ele: sinalizar a decisão do destino da célula binária entre os progenitores e participar da regulação e da diferenciação de células-tronco mesenquimais do broto do membro em condrócitos (Chen et al., 2013). Um estudo de 2015 mostra a via de sinalização Notch como sendo importante regulador na autorrenovação de células-tronco, e de significativa participação na miogênese no músculo esquelético normal (MU et al., 2015). Outros autores igualmente afirmam que a via de sinalização Notch tem participação no desenvolvimento ósseo, e suas mutações diminuem a massa óssea e aumentam o risco de fratura. Isso se deve porque o gene JAGGED1 tem forte ligação ao Notch e parece promover a formação óssea, realizando o seu reparo em caso de fraturas (Dishowitz et al., 2014, Garg, 2006).

Esses estudos reforçam cada vez mais o importante papel da via de sinalização Notch no desenvolvimento não somente embrionário, mas ao longo da vida da espécie humana, e esclarece como essas conexões podem trazer, para a comunidade científica, dados suplementares para justificativas de diversos fenótipos em populações que segregam CNVs.

Parece haver, portanto, um papel importante do gene Notch na embriogênese de diversos órgãos e sistemas no corpo humano, o que embasa a teoria de sua participação em diferentes fenótipos osteomioarticulares, cutâneos e cardíacos.

3 OBJETIVOS

3.1 OBJETIVO GERAL

Descrever as manifestações fenotípicas de uma família consanguínea, com alterações nos cromossomos 9, 15 e 16, e sua relação com o gene Notch.

3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Avaliar o fenótipo cardíaco através de exames de imagem e complementares dos indivíduos que apresentam alteração estrutural em 9q34.3, envolvendo o gene Notch1;
- Investigar índice de recorrência de CC através de avaliação familiar;
- Descrever demais achados fenotípicos relacionados às alterações citogenômicas dos cromossomos acima citados.

4 MATERIAIS E MÉTODOS

Este estudo foi elaborado em concordância com as normas vigentes para a pesquisa envolvendo seres humanos, conforme a Resolução 466/12, Conselho Nacional de Saúde/Ministério da Saúde. Todos os participantes receberam esclarecimentos sobre as justificativas e os objetivos deste trabalho. Os dados foram coletados após assinatura do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE) (APÊNDICE A), sendo apresentadas versões para menores de idade com aceite dos responsáveis, mediante Termo de Consentimento para Responsáveis pelo Menor (APÊNDICE B) e, para as crianças alfabetizadas, foi adotado o Termo de Assentimento que se encontra no APÊNDICE C.

4.1 DESENHO DO ESTUDO

Trata-se de um estudo descritivo, de corte transversal, em amostra não probabilística, realizado no período de 2018 a 2019.

4.2 CASUÍSTICA

Foram avaliados indivíduos pertencentes a uma família consanguínea do povoado de Ladeira, pertencente à cidade de Barrocas, do sertão da Bahia, com aproximadamente 3.000 habitantes, em que foram previamente diagnosticados geneticamente 22 indivíduos e, destes, 11 apresentavam alterações em 9q34.3, 15q13.3 e 16p12.3, alguns deles envolvendo o gene Notch, além de serem investigados outros 12 familiares com suspeita de fenótipo de CC e/ou outras doenças cardiovasculares e distúrbios mioarticulares.

As alterações genéticas da família foram identificadas em um estudo prévio denominado “Investigações genéticas e familiares em pacientes com epilepsia no estado da Bahia”, aprovado pelo Comitê de Ética e Pesquisa do Hospital Universitário Professor Edgard Santos (HUPES), sob parecer nº 121/2013 de responsabilidade da pesquisadora Rita Maria Alves.

4.3 METODOLOGIA

Para o diagnóstico do fenótipo cardíaco, os indivíduos foram encaminhados pelo pesquisador responsável para avaliação com cardiologista com colaboração do Complexo HUPES e, após isso, foram analisados exames de imagem e exames complementares quando indicados, incluindo raios-X, ecocardiograma, eletrocardiograma (ECG) e holter (exceto em menores de idade). A realização destes exames ocorreu apenas nos casos nos quais não havia

diagnóstico cardiológico. Alguns indivíduos da amostra já possuíam exames de imagem e complementares recentes, que foram suficientes para esta pesquisa. Além disso, foi coletada a história de recorrência familiar de doenças cardiovasculares através de entrevistas realizadas com essa população e seus familiares.

Foi preenchido protocolo que continha os dados de identificação do paciente e de avaliação clínica (APÊNDICE D deste projeto), com vistas a verificar outras alterações associadas, além da descrição dos achados e a sumarização dos dados dessa família.

4.4 TRIAGEM DE PACIENTES

O mapeamento da família se deu a partir do estudo anterior, em que 22 indivíduos possuíam diagnóstico genético. Foram convocados para triagem os indivíduos e familiares que apresentavam alterações genéticas e todos os demais indivíduos com relatos de distúrbios cardiovasculares. Dados sobre grau de parentesco/consanguinidade foram obtidos através de entrevistas não estruturadas com membros da família e foram compilados durante construção de heredograma familiar para compreensão das relações matrimoniais e correlação com os desfechos encontrados. Esse heredograma foi obtido inicialmente através de relatos dos indivíduos mais velhos da comunidade, e os dados complementares foram acrescentados à medida que novos integrantes da família migravam para a investigação.

4.5 ENCAMINHAMENTO PARA CONSULTA COM ESPECIALISTA

Todos os indivíduos foram esclarecidos sobre a importância do diagnóstico clínico. As consultas foram previamente agendadas no ambulatório do HUPES. A avaliação cardíaca foi feita por um médico cardiologista responsável por essa etapa da coleta. Exames complementares foram realizados para todos os indivíduos que não possuíam exames recentes e então analisados pelo médico assistente e, por fim, emitidos os devidos pareceres sobre o diagnóstico clínico.

As avaliações físicas haviam sido mapeadas em estudo anterior (do qual deriva este trabalho) e os dados armazenados foram compilados nesta dissertação.

4.6 ANÁLISE DOS DADOS

Os dados foram reunidos em arquivo único de posse do pesquisador responsável e os resultados, interpretados e descritos neste manuscrito.

Informações sobre os diagnósticos cardiovasculares foram obtidos através de análise clínica, cada consulta gerou parecer que foi emitido pelo cardiologista lotado no centro coparticipante desta pesquisa (HUPES) e interpretados com a adição dos exames complementares realizados no ato da coleta. Demais exames progressos foram reunidos e seus respectivos laudos, armazenados em nosso banco de dados.

As referências utilizadas para as causas de óbito nessa família foram reunidas através dos atestados de óbito aos quais tivemos acesso.

4.7 ASPECTOS ÉTICOS

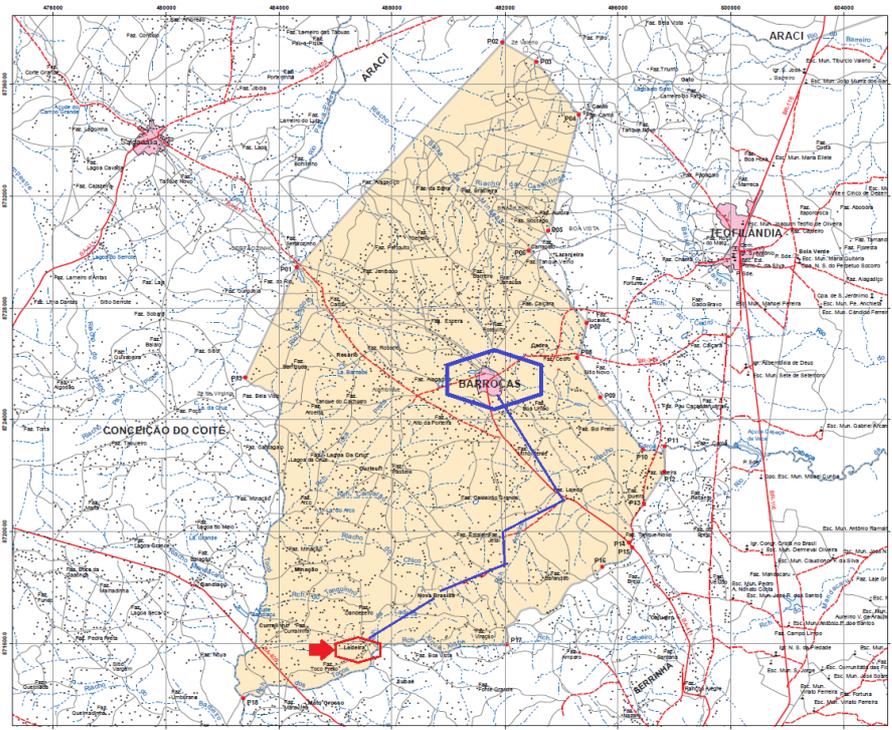
O projeto foi submetido e aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa do Instituto de Ciências da Saúde da Universidade Federal da Bahia (ICS-UFBA), sob o parecer nº 3.394.657 e pelo HUPES, sob o parecer nº 3.592.079, através da Plataforma Brasil, e a coleta de dados só foi iniciada após a aprovação do mesmo. Todos os participantes foram esclarecidos sobre os objetivos e procedimentos do estudo e, em caso de concordância, assinaram o TCLE, elaborado de acordo com os dispositivos da Resolução 466/12 do Conselho Nacional de Saúde, bem como as crianças alfabetizadas e seus respectivos responsáveis, conforme suas capacidades cognitivas, foram esclarecidas quanto aos objetivos da pesquisa e, a partir disso, assinaram o Termo de Assentimento. Para as crianças não alfabetizadas, seus responsáveis legais assinaram o TCLE como responsável pelo menor.

5 RESULTADOS

Trata-se de uma população oriunda do povoado de Ladeira, uma das 12 comunidades do município de Barrocas, localizado na mesorregião do nordeste baiano e microrregião de Serrinha, distante em 185 km da capital baiana (IBGE, 2017).

O resultado das pesquisas geográficas da localidade demonstra que o povoado encontra-se na zona rural, com uma distância aproximada de 22 km do centro da cidade, e registra uma população de 280 habitantes (PMB, 2004; IBGE, 2015). (Figura 6).

Figura 6 – Mapa geográfico do povoado de Ladeira.



Fonte: Folha topográfica na escala 1:100.000 - IBGE, 2010. Divisão Político-Administrativa do Estado da Bahia - SEI, Versão - 30 de junho de 2015.

Dos 11 indivíduos com diagnóstico genético prévio a este estudo, 5 possuíam sintomas cardiovasculares e foram incluídos neste estudo. Destes, apenas 4 confirmaram diagnóstico cardiovascular, um deles com dois episódios de IAM e o outro caso por malformação cardíaca congênita do tipo CIV. Outros dois indivíduos possuem histórico de hipertensão arterial sistêmica (HAS) (prévio à nossa avaliação, fazem uso de medicação anti-hipertensiva). 4 destes indivíduos segregavam microduplicações em 9q34.3, 15q13.13 e 16p12.3 (Tabela 2).

Tabela 2 - Fenótipos cardiovasculares e sua relação com as microduplicações presentes nos indivíduos geneticamente diagnosticados.

Fenótipos cardíacos	Microduplicação em 9q34.3	Microduplicação em 15q13.3	Microduplicação em 16p12.3
CIV	-	+	+
IAM	-	+	-
HAS	-	-	+

Fonte: Dados da pesquisa

Legenda: (+) positivo para a microduplicação; (-) negativo para a microduplicação

Além dos casos acima descritos, outros indivíduos pertencentes à mesma família foram encontrados e apresentavam fenótipos cardiovasculares, todos estes incluídos neste estudo. Os heredogramas revelam relação de parentesco com ancestralidade comum aos diversos agrupamentos familiares da localidade. Os históricos de três desses núcleos familiares resultavam, portanto, em um total de 23 indivíduos com fenótipos cardiovasculares importantes (4 deles com diagnóstico genético prévio), incluindo 7 casos de IAM em indivíduos do sexo masculino. Três destes casos evoluíram para morte. Mais 3 casos foram identificados com história de AVC, entre irmãos, com duas evoluções para morte. Inúmeros casos de HAS foram também relatados. Além destes casos, 2 indivíduos apresentavam CCs, a saber: atresia tricúspide (AT), estenose pulmonar valvar (EPV) e CIA. Outras alterações cardiovasculares também foram relatadas, sem conclusão diagnóstica até o final da coleta. Todos esses dados foram compilados na Tabela 3.

Tabela 3 - Incidência de fenótipos cardiovasculares e óbitos registrados na população

Fenótipo cardiovascular	f (23)	f_i (%)
IAM	7	30
AVC	3	13
CIV	1	4
CIA	1	4
AT	1	4
EPV	1	4
Diagnóstico indefinido	9	39

Fonte: Dados da pesquisa.

Legenda: IAM – Infarto agudo do miocárdio; AVC – Acidente vascular cerebral; CIV- Comunicação interventricular; CIA – Comunicação interatrial; AT – Atresia tricúspide; EPV - Estenose pulmonar valvar; f - frequência absoluta; f_i - frequência relativa.

No histórico das famílias também foi possível registrar a ocorrência de outros fenótipos patológicos, como diabetes *mellitus*, cânceres, repetição de mortes na primeira infância, abortos

de repetição no primeiro trimestre, fetos com múltiplas malformações e alterações osteomioarticulares, as quais serão relatadas a posteriori.

Todos os dados foram reunidos e serão apresentados individualmente por agrupamento familiar.

O primeiro agrupamento tem histórico de matrimônios consanguíneos em três gerações consecutivas. Análises genótípicas realizadas anteriormente em indivíduos pertencentes a esse núcleo revelaram segregação de 3 variantes cromossômicas estruturais, caracterizadas por variação CNVs em duplicação (9q34.3, 15q13.3 e 16p12.3) (Figura 7). Em tal derivado familiar, ocorreram 6 dos 7 infartos registrados em irmãos e primos de 1º grau, além da geração de proles com alterações cardíacas importantes nos casamentos subsequentes.

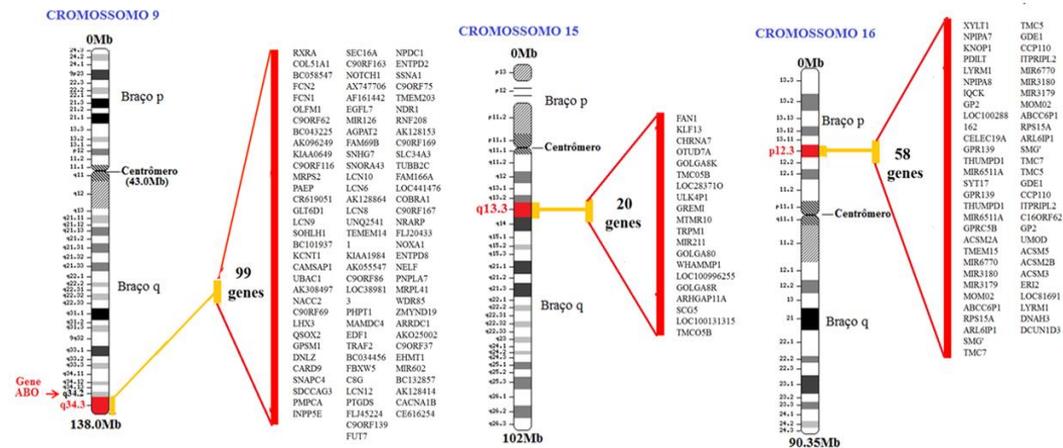
Figura 7 – CNVs encontradas na população. Em F11-K; F11-W; F11-D e F11-v9, respectivamente: pai, mãe e filhas do núcleo familiar 1 incluídos no estudo atual.

TABELLA INTEGRATA RISULTATI ARRAY-CGH FAMIGLIA "F11"						
Chr.	Id\sexo	Banda	Start \ Stop	Tipo \ misura	pb	Geni
9	F11inf(m)	q34.3	139651255-139821083	Amp0.559826	169,829	LCN8, LCN15, TMEM141, MIR4292, EDF1, TRAF2, CCDC183, C9ORF172, MIR4479, CCDC183-AS1, PHPT1, RAB6, PHPT1, RAB6, MAMDC4, RAB6, EDF1, EDF1, EDF1, EDF1.
	F11-A (m)	q34.3	139651255-139821083	Amp0.595383	169,829	LCN8, LCN15, TMEM141, MIR4292, EDF1, TRAF2, CCDC183, C9ORF172, MIR4479, CCDC183-AS1, PHPT1, RAB6, PHPT1, RAB6, MAMDC4, RAB6, EDF1, EDF1, EDF1, EDF1.
	F11-B (f)	q34.3	139088882-140110374	Amp0.358148	1,021,493	LRP1B, C9ORF172, CCDC183, C9ORF172, MIR4479, CCDC183-AS1, PHPT1, RAB6, PHPT1, RAB6, MAMDC4, RAB6, EDF1, EDF1, EDF1, EDF1.
	"	q34.3	139651255-139758666	Amp0.470942	107,412	LCN8, TMEM141, RAB6, C9orf172, EDF1, LCN15, CCDC183, MIR4392, PHPT1, CCDC183, PHPT1, EDF1, RAB6, MAMDC4, RAB6, EDF1, RAB6, EDF1, EDF1.
	F11-D (f)	q34.3	139651255-139794135	Amp0.488232	142,881	LCN8, TMEM141, MIR4292, MAMDC4, TRAF2, LCN15, CCDC183, C9orf172, MIR4479, CCDC183, PHPT1, RAB6, PHPT1, RAB6, EDF1, RAB6, EDF1, EDF1, EDF1.
	F11-W(f)	q34.3	139651255-139821083	Amp0.575036	169,829	LCN8, LCN15, TMEM141, MIR4292, EDF1, TRAF2, CCDC183, C9ORF172, MIR4479, CCDC183-AS1, PHPT1, RAB6, PHPT1, RAB6, MAMDC4, RAB6, EDF1, EDF1, EDF1, EDF1.
F11-S (f)	q34.3	139651255-139794135	Amp0.850902	142,881	LCN8, TMEM141, MIR4292, MAMDC4, TRAF2, LCN15, CCDC183, C9orf172, MIR4479, CCDC183, PHPT1, RAB6, PHPT1, RAB6, EDF1, RAB6, EDF1, EDF1, EDF1.	
15	F11* (f)-	q13.3	32021733-32510863	Amp0.536647	489,131	CHRNA7
	F11-JA(m)-	q13.3	31972646-32438943	Amp0.626896	466,298	CHRNA7
	F11-H(m)-	q13.3	32021733-32510863	Amp0.596607	489,131	CHRNA7
	F11-D(f)	q13.3	32021733-32438943	Amp0.481670	417,211	CHRNA7
	F11-v9(f)	q13.3	32021733-32326095	Amp0.692991	304,363	CHRNA7
	F11-S(f)-	q13.3	32021733-32510863	Amp0.589079	489,131	CHRNA7
	F11-U(f)-	q13.3	32021733-32510863	Amp0.542172	489,131	CHRNA7
	F11-K(m)-	q13.3	32021733-32510863	Amp0.666946	489,131	CHRNA7
F11-W(f)	p12.3	320563936-320701992	Amp0.990272	138,057	ACSM2B, ACSM1, ACSM2B	
16	F11-L (m)	p12.3	20496489-20750249	Amp0.707520	253,761	ACSM2A, ACSM2B, ACSM1, THUMPDI, ACSM2B
	F11-v9(f)	p12.3	20496489-20750249	Amp0.511064	253,761	ACSM2A, ACSM2B, ACSM1, THUMPDI, ACSM2B

Fonte: Adaptado de Alves (2015).

A exploração dos *loci* cromossômicos apresentados neste estudo demonstrou a identificação e a quantidade de genes localizados em cada fragmento duplicado (Figura 8).

Figura 8 - Genes envolvidos nas zonas de microduplicação.



Fonte: Alves et al. (2015).

Os fenótipos cardiovasculares serão apresentados individualmente por agrupamento familiar para melhor compreensão dos desfechos em cada família deste estudo.

5.1 RELATOS DOS CASOS POR NÚCLEO FAMILIAR

Agrupamento familiar 1

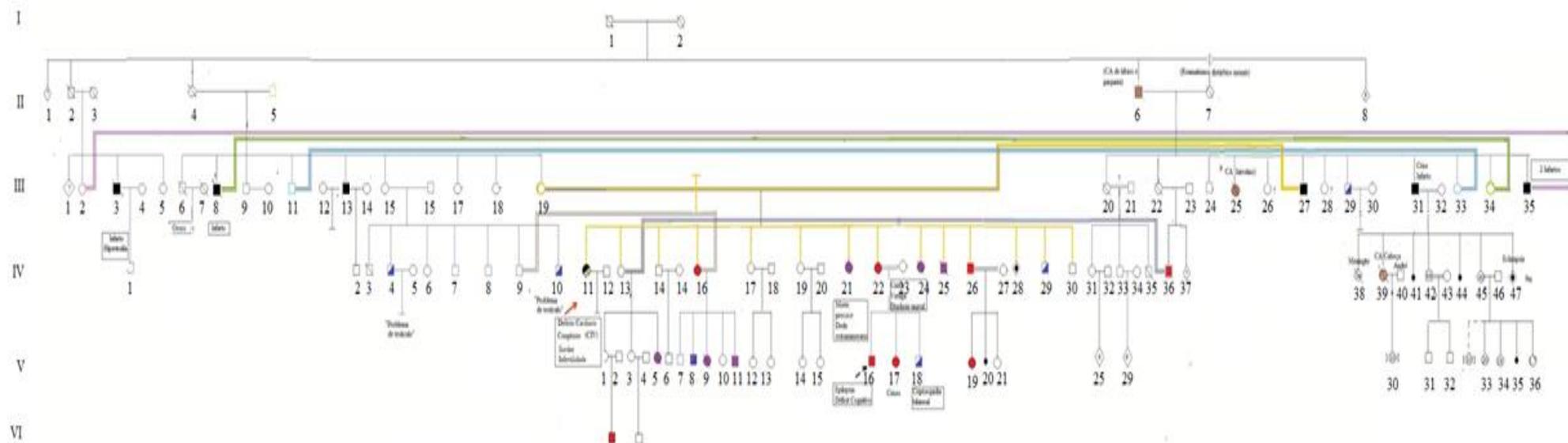
Dos cerca de 35 indivíduos pertencentes à terceira geração dessa família, pelo menos 6 apresentaram eventos de IAM (indivíduos III-3, III-8, III-13, III-27, III-31 e III-35), todos do sexo masculino (Figura 9). Três evoluíram para óbito (indivíduos III-3, III-8 e III-13). Dos três restantes, pelo menos dois (indivíduos III-27 e III-35) geraram prole com fenótipos cardíacos, incluindo defeito cardíaco congênito. AVC ocorreu em três indivíduos irmãos (III-1, III-4, III-17), dois do sexo masculino e um do sexo feminino, respectivamente, sendo que dois evoluíram para morte (indivíduo III-1 e III-17).

O indivíduo III-27 é do sexo masculino, tem 83 anos de vida e possui histórico de dois infartos prévios com diagnóstico em cateterismo. As lesões evidenciadas correspondiam a, respectivamente: lesão segmentar em descendente anterior de 95% em 1/3 proximal; circunflexa com irregulares parietais difusas discretas; coronária direita com lesão de 25% em 1/3 médio e 25% em 1/3 distal. Na ocasião, o tratamento foi conservador, e o indivíduo teve alta para casa. Em 2011, cursou com novo infarto, sendo então realizada a angioplastia transluminal coronariana com implante de *stent* convencional, não tendo havido intercorrências na ocasião. Atualmente, ao ecocardiograma, apresenta aumento moderado de átrio esquerdo, com insuficiência leve de valva mitral e aórtica, alteração na repolarização ventricular de parede

lateral alta e zona eletricamente inativa de parede anterior. Além disso, o paciente é portador de diabetes melitus e segue em acompanhamento pelo serviço de cardiologia do HUPES. Sua genotipagem revela segregação da variante 15q13.3 (símbolo F11-K, da Figura 7). Gerou prole de um casamento com laços de consanguinidade com prima de 1º grau (indivíduo III-19), que é irmã de dois dos casos de infartos e dos indivíduos com fenótipo de AVC. Com idade de 80 anos de vida, a matriarca foi encaminhada para avaliação médica e não foi diagnosticada com alterações cardíacas ou circulatórias. A sua genotipagem revelou a segregação de duas variantes cromossômicas estruturais duplicadas (9q34.3 e 16p12.3).

Essa união gerou 14 gestações, sendo um abortamento espontâneo no primeiro trimestre e três casos de nativos com morte precoce, um dos casos com sinais de dismorfismos craniofaciais. Dentre todos os descendentes vivos desse, alguns fenótipos patológicos são observados. Uma das filhas de sua prole casou-se com primo de 1º grau e teve três filhos com história de lábio leporino e fenda palatina, dois evoluindo para morte prematura (apresentava outras malformações, dentre elas polidactilia), e o outro sobreviveu com o mesmo fenótipo palatolabial, além de tumor ocular e cursava com genótipo 15q13.3. Desta população, foram incluídos neste estudo dois indivíduos (IV-11 e IV-22).

Figura 9 - Heredograma do agrupamento familiar 1.



Fonte: Alves (2015)

O indivíduo IV-11 é caso índice desse núcleo familiar no atual estudo. É uma paciente de sexo feminino, 56 anos, casada, sem geração de prole. Cursa com sintomas cardíacos, dos quais apresenta cansaço aos médios esforços. Foi diagnosticada como portadora de CIV com hipertensão excêntrica de VE de grau leve e disfunção diastólica de grau II. Não obstante ao diagnóstico cardíaco, possui diversos problemas mioarticulares e cutâneos, dentre eles fragilidade ungueal, baixa estatura, escoliose importante e dismetria de membros inferiores (MMII). Além desses achados, possui diagnóstico de infertilidade feminina. Segue acompanhada pelo serviço de cardiologia do HUPES. A genotipagem revelou herança de duas variantes cromossômicas estruturais: 15q34.3 derivada do pai e 16p12.3 de origem materna, identificada na Figura 7 com o símbolo F11v-9.

A avaliação do indivíduo IV-22 revelou sintomas cardíacos esporádicos, sendo então encaminhado para avaliação com cardiologista. O resultado do exame clínico apresentou alterações cardíacas estruturais ou vasculares. A genotipagem deste sujeito revelou a herança paterna e materna de dois fragmentos cromossômicos duplicados (15q13.3 do pai e 9q34.3 da mãe).

Ainda na terceira geração do heredograma 1, tem-se um indivíduo (III-31) que é irmão dos patriarcas dos núcleos familiares anterior e posterior, respectivamente, os indivíduos III-27 e III-35. Infartou aos 69 anos, mas não estava disponível para avaliação cardíaca. O seu histórico demonstra um casamento com consanguinidade de 2º grau, com 7 gestações, sendo 4 indivíduos vivos (dois evoluíram para óbito, um na primeira infância e um na segunda década de vida), além de 2 abortos de primeiro trimestre e 1 natimorto com 9 meses de gestação. Dois dos descendentes de segundo grau em linha direta (netos) de sexo masculino (indivíduos V-31 e V-32, no heredograma 1) têm histórico de cansaço a esforços físicos, mas não estavam disponíveis para avaliação.

O indivíduo III-17, cuja *causa mortis* foi o AVC, gerou prole com 13, com 3 casos de indivíduos femininos com HAS descompensada e quatro mortes de indivíduos de ambos os sexos na primeira infância. Um dos descendentes de tal núcleo familiar compõe o heredograma do agrupamento familiar 3, que será discutido posteriormente.

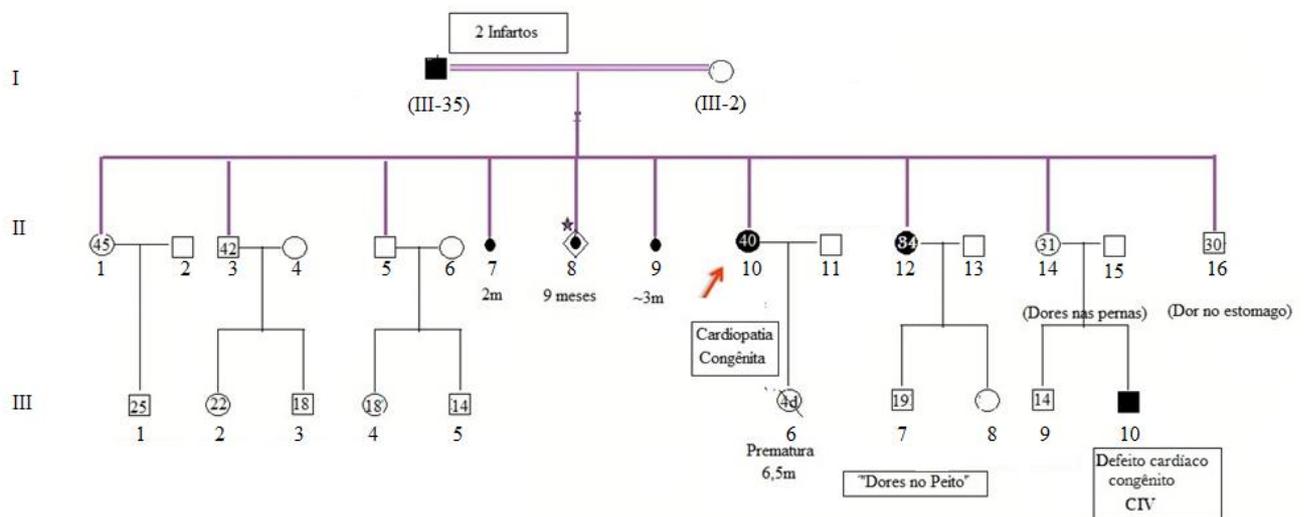
O indivíduo III-35 derivou o núcleo familiar 2 e será apresentado a seguir.

Agrupamento familiar 2

O sujeito III-35 (heredograma 2 – Figura 10) é um paciente de 69 anos de vida, do sexo masculino, com histórico de dois infartos prévios à nossa avaliação. Foi diagnosticada lesão em descendente anterior de 50% em 1/3 médio, oclusão de primeiro ramo diagonal, lesão de 75 a

90% em 1/3 distal circunflexa, irregulares parietais difusas em ramo marginalis e oclusão de 1/3 proximal de coronária direita. Ao ecocardiograma, evidências de aumento moderado de câmaras esquerdas, com comprometimento segmentar de VE e função sistólica reduzida (acinesia médio-basal de parede inferior e acinesia basal de parede ínfero-lateral). No momento, segue em acompanhamento com o serviço de cardiologia do HUPES. De um casamento com laços de consanguinidade com uma prima de 1º grau (sujeito III-2 do heredograma 1), gerou 10 gestações, com 7 indivíduos nativos, dois abortos espontâneos no primeiro trimestre e um feto malformado com 9 meses de gestação (Figura 10).

Figura 10 - Heredograma do agrupamento familiar 2.

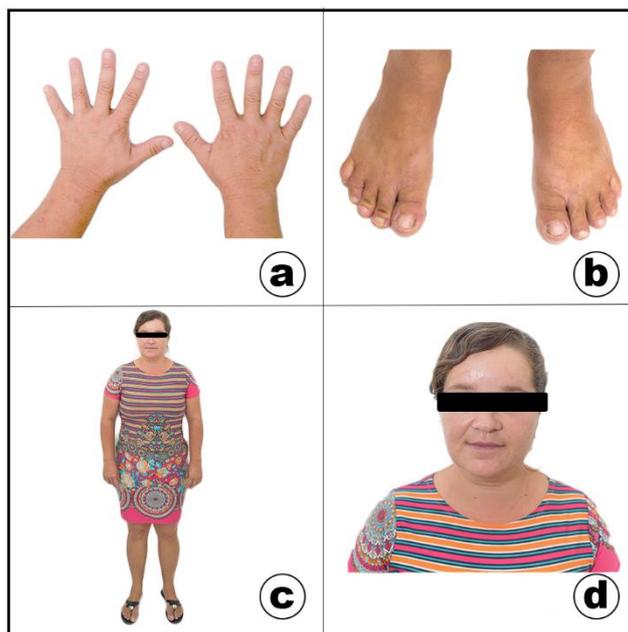


Fonte: Alves (2015).

A progenitora (III—2) não possui sintomas cardíacos, todavia apresenta histórico de 3 abortos, sendo um deles verificado ao 9º mês de gestação. Tratava-se de um feto completamente dismórfico, sem características de face e sem membros bem definidos. De todos os filhos de sua prole, 2 apresentam sintomas cardíacos. A probanda dessa família (indivíduo II-10 do heredograma 2) trata-se de uma paciente do sexo feminino, 41 anos de vida, casada, residente nessa comunidade. Aos 9 anos de idade, foi suspeitado diagnóstico de doença cardíaca congênita, porém sem definição da patologia por não conseguir realizar consultas com cardiologista pediátrico na ocasião. Aos 21 anos, cursou com única gravidez e parto prematuro, tendo desfecho de morte do bebê aos 4 dias de vida (sujeito III-6) por prematuridade extrema, desconforto respiratório precoce e insuficiência de múltiplos órgãos. Teve seu diagnóstico de CC fechado somente aos 28 anos de vida. Nesse período, realizou ecocardiograma que

evidenciou EPV importante, com valva pulmonar displásica e espessada, associada à dilatação leve de átrio direito (AD) e hipertrofia infundibular de ventrículo direito (VD) e miocárdica importante, com dilatação moderada da mesma câmara, IT leve, hipertensão pulmonar moderada e FOP. Além disso, realizou valvulotomia pulmonar e, desde então, mantém acompanhamento em unidade de cardiologia especializada. No momento, segue com estenose pulmonar residual, apresentando ainda sinais e sintomas cardiológicos: cansaço aos médios esforços, cianose labial e baqueteamento digital (Figura 11).

Figura 11 – Indivíduo II-10 do heredograma 2. Em “a” e “b” sinais de baqueteamento digital, em “c” fotografia tirada no dia de nossa avaliação e, em “d” ampliação da imagem da face, evidenciando cianose labial secundária à doença congênita.



Fonte: Autoria própria.

Ainda nesse núcleo familiar, foi incluído neste estudo o sujeito II-12, do sexo feminino, 34 anos, com recorrência de sintomas cardiológicos, dos quais se queixa de dor no peito e palpitações, tendo um exame de ECG identificando arritmia sinusal. No entanto, não passou por avaliação com médico cardiologista, a despeito de nosso encaminhamento, por questões relacionadas ao trabalho. Casada com cônjuge não consanguíneo, com prole de 2, o primogênito, de sexo masculino, de 19 anos (IV-7), queixa-se de dor torácica ao exercício físico. Por indisponibilidade de tempo, não prosseguiu com a avaliação clínica.

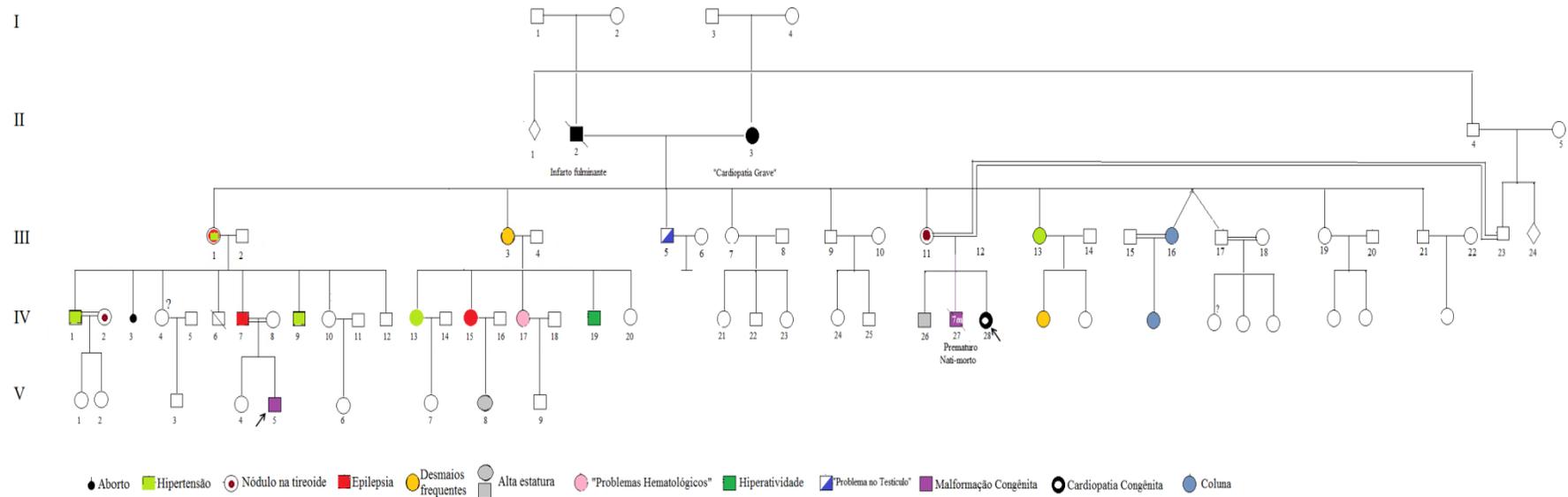
O indivíduo II-14, do sexo feminino, 31 anos de vida, casada com cônjuge sem relação de parentesco, gerou prole de 2 indivíduos masculinos de 9 e 2 anos (indivíduos V-9 e V-10).

O último dos dois filhos (IV-10) apresenta diagnóstico de CIA, aparentemente sem repercussão hemodinâmica. Até então, mantém acompanhamento em serviço de cardiologia especializado, não tendo havido necessidade de correção cirúrgica do defeito. A genitora não estava disponível para avaliação clínica, mas refere dores intensas nos MMII.

Agrupamento familiar 3

A progenitora identificada como indivíduo III-11 no heredograma 3 (Figura 12) é filha de pais sem laços de consanguinidade. O genitor veio a óbito por infarto fulminante, e a genitora relata cardiopatia grave, acompanhada e medicada, porém não estava disponível para avaliação. É casada com um primo de primeiro grau (indivíduo III-12), ambos com parentesco de 3º grau com o indivíduo III-19 do heredograma 1 (Figura 9) apresentado. Desta união, foram geradas 3 gestações. O primeiro filho, do sexo masculino, idade atual de 15 anos (indivíduo IV-26) sem queixas de sintomas cardíacos, mas com achados de estatura elevada (1.95 m), característica incomum na família. O segundo filho (IV-27) nasceu de parto prematuro, aos 7 meses de gestação, apresentava malformações múltiplas (o atestado de óbito não revela com clareza quais malformações), e evoluiu com anóxia perinatal e hipoplasia pulmonar, evoluindo para óbito em pouco mais de um dia.

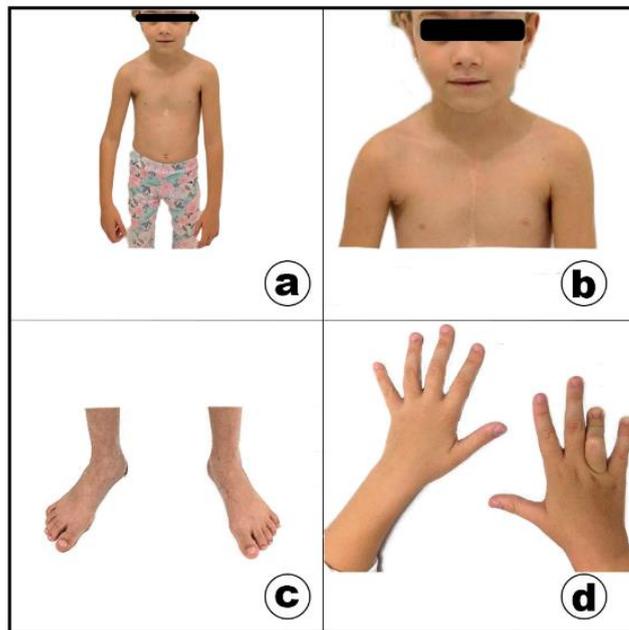
Figura 12 - Heredograma do agrupamento familiar 3: note os diversos fenótipos encontrados ao longo das gerações.



Fonte: Alves, 2015.

O probando dessa família está identificado como IV-28. Trata-se de uma criança com 9 anos de vida, do sexo feminino, neta de avós cardiopatas graves (Figura 13). O avô materno (II-2) morreu de infarto fulminante, e a avó materna (II-3) é cardiopata grave. Seus progenitores são primos de primeiro grau.

Figura 13 - Indivíduo IV-28 do heredograma 3. Em “a” e “b” imagem geral e ampliada da face evidenciam cianose labial. Em “c” e “d” extremidades inferiores e superiores, respectivamente, com sinais de baqueteamento digital e malformação digital em membro superior direito (imagem d).



Fonte: Autoria própria.

No 1º mês de vida, a paciente IV-28 foi diagnosticada com AT tipo IA, CIA ampla e insuficiência leve a moderada de valva mitral. A mesma vinha sendo acompanhada em um serviço de cardiologia de referência do estado e realizou, até a presente data, duas cirurgias paliativas denominadas cirurgia de Blalock e cirurgia de Glenn. No momento, aguarda a sua terceira e última etapa da cirurgia cardíaca. Hoje, segue com sinais e sintomas cardiológicos, dos quais citamos: cansaço aos médios esforços, cianose labial, baqueteamento digital e taquipneia basal. Além da malformação cardíaca, apresenta malformação de extremidade superior direita do tipo camptodactilia.

O sobrinho da matriarca desse núcleo familiar (indivíduo IV-7), com histórico de crises convulsivas, casou-se com uma prima de 3º grau, ambos com laços de parentesco com o indivíduo III-19 do heredograma 1. Dessa união, nasceu prole de dois, uma menina e um menino, respectivamente, indivíduos V-4 e V-5 do heredograma 3. A menina, atualmente com

11 anos, constou com atraso nos marcos do desenvolvimento neuropsicomotor, atraso no desenvolvimento dentário com posterior perda dentária espontânea. Além disso, apresentou alguns episódios de crises convulsivas. A criança de sexo masculino, atualmente com dois anos de vida, apresentava alterações em membros superiores (MMSS), e genitora relata inversão e rotação interna de braço, antebraço e punho, o que o impedia de realizar transferência simples, manter-se sentado e seguir com o gateio (Figura 14).

Figura 14 - Indivíduo V-5 do heredograma 3: note a rotação interna de MMSS persistente no indivíduo.



Fonte: Autoria própria.

No momento da avaliação, não mais apresentava tais alterações, mas cursava com manutenção do atraso motor para a idade e então encaminhamos para avaliação com ortopedista. Além disso, é portador de síndrome genética a esclarecer e segue em avaliação com geneticista e neuropediatra que, suspeitando de outras malformações, solicitou interconsultas com cardiologista pediátrico. O exame ecocardiográfico era normal, porém, ao ECG, apresentou taquicardia e B2 hiperfonética ao exame físico. Por tal motivo, foi dado seguimento na avaliação e solicitado Holter. Ainda aguarda agendamento para realização do exame.

5.2 ACHADOS OSTEOMIOARTICULARES DA AMOSTRA AVALIADA

A avaliação osteomioarticular foi realizada com 25 pacientes no estudo anterior o qual deriva o atual. A Tabela 4 traz informações sobre dados sociodemográficos dos indivíduos triados para avaliação física.

Tabela 4 - Dados sociodemográficos dos indivíduos triados para a avaliação física.

	<i>f</i>	<i>f_i</i> (%)	M	(IQ)
Idade			37	(2 – 83)
Sexo				
Feminino	14	(56)		
Masculino	11	(44)		

Fonte: Dados da pesquisa.

Legenda: *f* - frequência absoluta; *f_i* - frequência relativa; M – mediana; IQ – Intervalo Interquartil

Todos os sujeitos avaliados derivavam do estudo anterior, realizado por Alves em 2015, e foram triados para a avaliação física. A Tabela 5 apresenta os sujeitos identificados com numeração de 1 a 25 (ordem da avaliação) e seus respectivos genótipos.

Tabela 5 - Segregação das alterações genéticas na população em estudo.

Sujeitos	Cromossomo 9	Cromossomo 15	Cromossomo 16
1	-	+	-
2	-	+	-
3	-	-	-
4	-	-	-
5	-	+	-
6	o	o	o
7	o	o	o
8	o	o	o
9	?	?	?
10	+	+	-
11	+	+	-
12	-	+	-
13	?	?	?
14	-	-	-
15	+	+	-
16	+	+	-
17	?	?	?
18	-	-	-
19	o	o	o
20	o	o	o
21	-	+	-
22	-	-	-
23	-	+	+
24	o	o	o
25	o	o	o

Fonte: Dados da pesquisa.

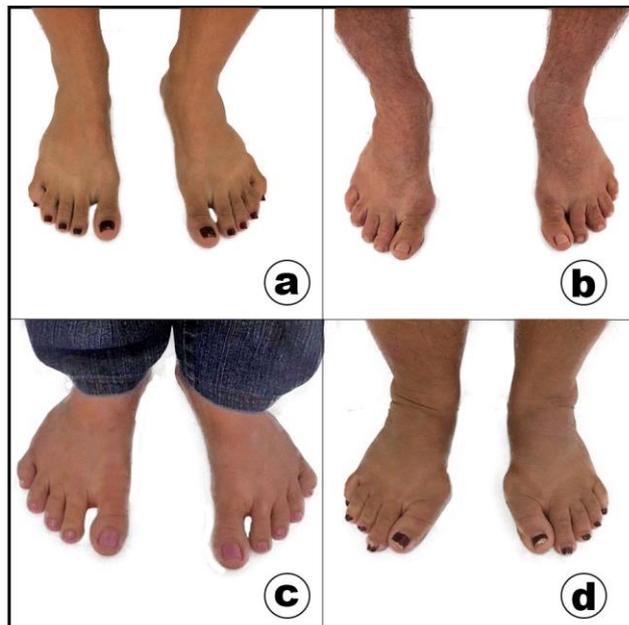
Legenda: (-) negativo para alteração; (+) positivo para alteração; (?) inconclusivo; (o) não realizou teste genético.

Das 25 pessoas avaliadas, 18 possuíam diagnóstico genético. Um total de 10 indivíduos apresentavam genótipos nos cromossomos 9, 15, 16, representando 40% de toda a amostra. Apenas 5 dos avaliados não apresentavam alterações genéticas (20%) e 3 apresentavam resultado inconclusivo (12%). Além destes, um total de 7 indivíduos não possuíam diagnóstico genético, mas estavam disponíveis, e foram incluídos para avaliação física por se tratarem de membros da família e terem histórico de consanguinidade e parentesco de 1º e 2º graus com os demais diagnosticados geneticamente.

Com relação à frequência de alterações genéticas por seguimento cromossômico, observou-se que 36% da totalidade da amostra possuía alterações no cromossomo 9, 40% no cromossomo 15, e 4% no cromossomo 16. Note que, em alguns casos, essas alterações eram mistas, não ocorrendo isoladamente em um único locus cromossômico (ver Tabela 4).

Os resultados apontam que, pelo menos, 80% do total da amostra possuía alguma anormalidade em pés, incluindo varo/valgo hálux, aduto-varo em 5º pododáctilo, braquidactilia e ausência de cava plantar (Figuras 15 e 16).

Figura 15 - Alterações musculoesqueléticas em pés encontradas na população (n.1). Em “a” aduto-varo em 5º pododáctilo, varo de hálux; em “b” hálux valgo, 2º e 3º pododáctilos à esquerda em varo e valgo, respectivamente; em “c” aduto-varo de 5º pododáctilo, hálux varo, ausência de cava plantar; em “d” hálux valgo e braquidactilia em ambos os pés.



Fonte: Autoria própria.

Figura 16 - Alterações musculoesqueléticas em pés encontradas na população (n.2). Nas quatro imagens, ausência de cava plantar. Note em “c” hálux varo à direita.



Fonte: Autoria própria.

Diversas alterações musculoesqueléticas também foram evidenciadas. 48% desses sujeitos possuíam alguma alteração em coluna lombar, 36% em coluna torácica e 8% em coluna cervical. Mais de 50% da amostra possuía rotação cervical postural. Além disso, 20% dos indivíduos cursavam com alterações cutâneas e 36% com alterações ungueais (Tabela 6).

Outros seguimentos dos sistemas axial e apendicular dos sujeitos avaliados nessa população também apresentavam alguma alteração. Todas elas foram apresentadas em sua versão completa, que se encontra no Apêndice E desta dissertação.

Tabela 6 - Alterações osteomioarticulares presentes na amostra investigada.

	<i>f</i> (25)	<i>f_i</i> (%)
Sistema axial		
Cabeça	13	52
Coluna cervical	2	8
Coluna torácica	9	36
Coluna lombar	12	48
Sistema apendicular superior		
Ombro direito	11	56
Ombro esquerdo	7	28
Clavícula direita	7	28
Clavícula esquerda	6	24
Cotovelo direito	6	24
Cotovelo esquerdo	5	20
Hiperextensão de cotovelo	1	4
Quirodáctilo	21	84
Sistema apendicular inferior		
Joelho direito	10	40
Joelho esquerdo	13	48
Hiperextensão de joelho	3	52
Patela direita	6	24
Patela esquerda	6	24
Tornozelo direito	10	40
Tornozelo esquerdo	8	32
Pé direito	20	80
Pé esquerdo	20	80
Pododáctilo	2	8
Sistema tegumentar		
Cutânea	5	20
Ungueal	9	36

Fonte: Dados da pesquisa.

Legenda: *f* - frequência absoluta; *f_i* - frequência relativa

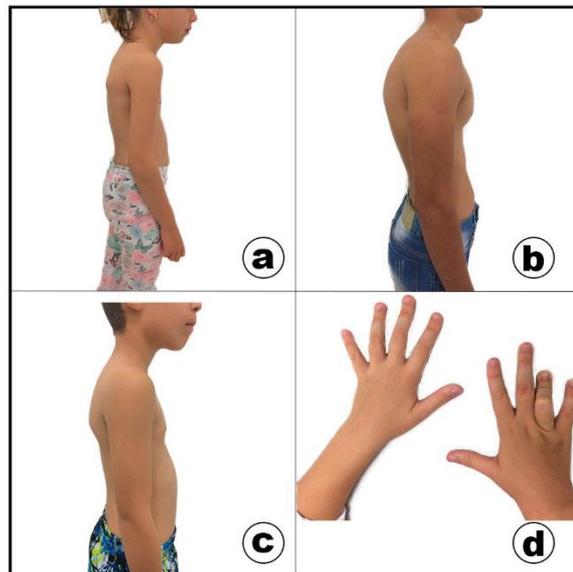
Diversos sujeitos deste estudo relatavam sintomas ortopédicos, incluindo dores articulares frequentes, principalmente na coluna, nos joelhos e nos pés. Em alguns casos, os sintomas eram limitantes do ponto de vista funcional e, em alguns casos, os relatos se ampliavam para o prejuízo de suas atividades da vida diária. As Figuras 17 e 18 reportam outros fenótipos musculoesqueléticos mapeados na população analisada.

Figura 17 - Alterações musculoesqueléticas em membros inferiores e pés. Note: a) ausência de cava plantar e valgo de tornozelos; b) hiperextensão de joelhos; c) varo de tornozelos; d) assimetria de MMII, valgo de tornozelo.



Fonte: Autoria própria.

Figura 18 - Alterações envolvendo demais seguimentos na população. Note: Em “a”, presença de dorso plano; em “b” e “c”, hipercifose torácica e hiperlordose lombar; em “d”, camptodactilia.



Fonte: Autoria própria.

Os achados aqui descritos revelavam diversas questões do ponto de vista cinético-funcional: vários membros avaliados em nosso estudo apresentavam queixas corriqueiras de

dorsalgias, lombalgias, além de dores nas pernas e a sensação de formigamento em MMSS e MMII. Tais sintomas podem ser explicados pelas alterações musculoesqueléticas encontradas.

6 DISCUSSÃO

O entendimento sobre a via de sinalização Notch torna melhor a compreensão de determinados fenótipos ligados a diversas alterações que foram encontradas nas famílias avaliadas. Ela tem o papel de mediação de diversas funções celulares, incluindo a somitogênese, na qual haverá a formação da notocorda e, após isso, a diferenciação em vértebras, costelas, músculos, tendões e ligamentos, como visto nos estudos de Turpenney em 2014 e Vasyutina em 2007. O fato de muitos indivíduos do presente estudo apresentarem alterações musculoesqueléticas poderia se justificar pela superexpressão do gene Notch, nos casos familiares de microduplicação em 9q34.3, locus desse gene. Como discutido por WAHI (2016), tanto o ganho quanto a perda de função do Notch parecem estar associados à modificação em somitos, resultando na miogênese atrasada ou prematura. Uma vez entendida essa participação em relação à formação muscular, é possível que os achados se justifiquem pela provável participação desse gene em alguns dos casos nas famílias avaliadas.

Além dos distúrbios mioarticulares encontrados no presente estudo, outros fenótipos como fenda palatina e lábio leporino foram recorrentes, principalmente do agrupamento familiar 1. Tais desfechos também foram relatados por um grupo de pesquisadores em 2012, em que se revelou que quaisquer fatores que impossibilitem a migração das células da crista neural, e as alterações no crescimento do mesênquima são críticos para essas malformações e que afetam o adequado desenvolvimento do palato mole ou duro (Derwinska, 2012). No presente estudo, apresentamos vários relatos de bebês que evoluíram com morte prematura e que apresentavam o mesmo fenótipo, além de um indivíduo adulto portador do defeito congênito. Assim, esses dados legitimam os encontrados em nossa amostra, porém nosso paciente apresentava apenas alterações no cromossomo 15. Na Tabela 5 dos resultados deste trabalho, é possível perceber que nem todos os indivíduos com tais tipos de alterações carregam alteração no segmento cromossômico 9q34.3, no qual se localiza o gene NOTCH1. Esta constatação fomentou o interesse em compreender o possível papel dos outros segmentos cromossômicos na gênese desses defeitos.

Os fenótipos apresentados pelo indivíduo F11-JF-JA (Figura 7), o mesmo representado na figura 18 com a letra “b”, membro do primeiro agregado familiar (heredograma 1 IV-8), corroboram com os achados da literatura que associam a CNV 15q13.3 aos fenótipos de alterações mioarticulares e craniofaciais, todos presentes em nosso paciente avaliado. Resultados semelhantes foram discutidos por Szafranski (2010), Cooper et al. (2011), entre

outros autores. A variante cromossômica de tal sujeito foi herdada da genitora que, por sua vez, herdou do seu genitor, a mesma também apresenta alterações musculoesqueléticas em MMII e pés, além de achados de fragilidade ungueal (Figura 17a). Esse subnúcleo da família deriva de endocruzamento de duas gerações consecutivas e pode justificar os achados de duas mortes precoces antes e depois do nascimento do indivíduo em questão. Nenhum dos dois indivíduos estava disponível para avaliação cardíaca, sendo este um importante dado a ser explorado em pesquisa futura.

As anormalidades vertebrais, os dismorfismos craniofaciais, os dedos curtos, além de baixa estatura, todos encontrados nesta dissertação, concordam com os achados da literatura, visto que diversos autores descrevem o papel do gene Notch na formação do citoesqueleto em humanos. Um estudo realizado por Zanotti, em 2016, sobre os aspectos relevantes do papel do gene Notch, justificava que a superexpressão desse gene traz resultados na diferenciação dos condrócitos, com repercussões na produção de colágeno tipo II, inibindo a condrogênese. Todos os achados envolvendo a variante cromossômica que contém esse gene na família estudada estão em duplicação, fortalecendo a hipótese de superexpressão gênica nesses casos.

As CCs do presente estudo eram compostas por malformações no coração direito e no septo interatrial ou interventricular. Assim como os achados descritos por Evans, 2010; Vincenti, 2010; Soemedi, 2012, tal patogênese se justifica pelos papéis desempenhados por genes no interior das CNVs, previamente conhecidos por terem papel fundamental no desenvolvimento do coração.

A ampla variabilidade fenotípica encontrada na família avaliada corrobora com a descrição na literatura e fortalece os achados de penetrância incompleta, característica própria das CNVs em duplicação, como bem discutido por Szafranski (2010) e Lowther (2015).

Os diagnósticos genéticos realizados por Alves em 2015, estudo do qual derivou esta pesquisa, traziam consigo alterações não somente no cromossomo 9, bem como dos cromossomos 15 e 16 contemplando microduplicações. Partindo desse princípio e após análise dos heredograma familiares, novas hipóteses surgiram: o gene Notch não estaria sozinho envolvido nesses achados. As CNVs encontradas ali revelavam outros genes imbricados que poderiam também explicar os achados familiares aqui expostos.

CNVs que envolvem o seguimento 15q13 possuem baixo número de cópias, e o gene *CHRNA7*, incluso na cadeia de genes que compõe esse seguimento, é responsável por diversos fenótipos. Um estudo de 2015 informa que as manifestações clínicas são geralmente mais graves do que as comportamentais e cognitivas, e que os dismorfismos estavam relacionados a esse gene (Gillentine, 2015). Dados encontrados em um banco de dados de genes humanos

reforçam essa variabilidade fenotípica, inclusive descrevendo a participação desse gene em malformações cardiovasculares (Gene Card, 2019).

Dados disponíveis no Departamento de Informática do SUS (DATASUS) evidenciam que, entre os anos de 2013 a 2017, 43.309 internações por ocorrência de IAM foram registradas no estado da Bahia, sendo 9 destes casos derivados da cidade de Barrocas. Em nossa amostra, há uma ocorrência de 7 casos de IAM confirmados, representando em torno de 78% de todos os casos registrados na mesma cidade. Esses achados são bastante relevantes e suportam a hipótese de participação de herança de padrão genético possível nessa população para esses desfechos. O mesmo banco de dados registra 12 casos de óbito por IAM, dado divergente dos registros de internação. A discrepância entre óbitos e morbidade pode estar ocorrendo porque as notificações entre morbidade e mortalidade não são compulsórias para ambos os grupos, havendo então divergências nestes dados.

Do agrupamento familiar 1, derivam 6 dos 7 casos de infarto. Oito indivíduos desse agrupamento foram diagnosticados com alterações em 15q13.3, sendo que um deles apresentou como fenótipo episódios recorrentes de infarto, além de outros que não foram objeto desta pesquisa. Um de seus irmãos igualmente apresentou infarto recorrente e ressaltamos que estes indivíduos advêm de casamento entre primos de 1º grau. Mesmo sem a posse da análise genética do segundo indivíduo, acreditamos na possibilidade da segregação desse gene nessa família. Desse modo, esses achados levam a refletir sobre o possível envolvimento do gene THBS e dos demais transcritos gênicos influenciados por ele no aumento do risco para DAC e AVC nessa família. Ashokkumar e Abdelmonem, respectivamente, em 2011 e 2017, trazem em seus estudos que alterações no gene da trombospondina conferem um fator de risco aumentado para DAC, IM e AVC. Apesar de não ter sido possível genotipar todos os indivíduos com fenótipos cardíacos, o achado é de grande importância para futuras conclusões sobre a etiologia desse importante índice de morbimortalidade na família analisada, posto que um dos indivíduos com história de infarto segrega alteração em tal seguimento. É de se observar também a transmissão dessa variante do pai para uma das filhas que apresenta uma CC, além de outras alterações mioarticulares.

Os demais relatos de morte prematura evidenciavam características relacionadas a dismorfismos craniofaciais, também trazidas no estudo de 2015, ampliando, portanto, as nossas suspeitas para além do gene Notch. As análises de vários estudos, a exemplo dos realizados por Van Bon (2009), Lavalley (2006), Nemer (2007) e Masurel-Paullet (2010), substanciaram esses questionamentos e, de posse do diagnóstico genético de alguns indivíduos avaliados, um novo caminho foi trilhado para responder tais incertezas.

Em 2009, pesquisadores identificaram indivíduos com duplicação em 15q13.3, nos quais três pacientes da amostra apresentavam alterações no gene KLF13; um deles era portador de prolapso da válvula mitral e possuía VE ligeiramente aumentado, um paciente com T4F e um caso fetal com hipoplasia cardíaca direita com estenose tricúspide grave, sugerindo, então, a participação do KLF13 nesses achados (VAN BON, 2009). Outros três estudos também relacionaram a participação desse gene em anomalias congênitas cardíacas em humanos (Masurel-Paulet, 2010, Nemer, 2007, Lavalle, 2006), além de um estudo atual que apontou o gene KLF13 participando da formação septal interventricular e valvar (Lavalle, 2006). Todos esses estudos reforçam as nossas suspeitas sobre os resultados encontrados no estudo atual, no qual três indivíduos cursam com história de doença cardíaca congênita e dois deles pertencem ao agrupamento familiar que segrega alterações no cromossomo 15.

Inicialmente apenas um caso de alteração cardíaca foi evidenciado, além de muitos achados mioarticulares e cutâneos, tendo então direcionado à possibilidade da participação de um único gene nos fenótipos detectados. Entretanto, as avaliações familiares trouxeram consigo muitos outros casos de alterações cardiovasculares, e em posse dos exames genéticos prévios, seria inaceitável acreditar que esses resultados ocorreram ali ao acaso, ou que apenas fatores ambientais pudessem ser responsáveis por essas características recorrentes. Há segregação familiar de três diagnósticos genéticos, e a elevada consanguinidade nesses indivíduos reiteram e embasam, cada vez mais, outras possibilidades etiológicas.

7 CONCLUSÕES

- Encontramos três núcleos familiares com história de consanguinidade em alguns membros com diagnósticos genéticos realizados anteriormente ao nosso estudo;
- A análise revelou fenótipos relevantes, dentre eles alterações osteomioarticulares e cardiovasculares em todas as três famílias analisadas, e também a suspeita de outras alterações genéticas prováveis nos demais membros aqui identificados;
- O significado clínico dos genótipos retratados ainda permanece incerto, apesar de haver evidências suficientes de uma forte associação entre as alterações clínicas descritas e as características genéticas dos indivíduos estudados, uma vez que estamos lidando com famílias inteiras com história de consanguinidade;
- As evidências na literatura se acumulam a respeito da participação das CNVs nos achados apresentados, acreditamos, portanto, que todas elas podem contribuir para o entendimento da relação de causa e efeito nesses indivíduos, e que as nossas descobertas igualmente permitiram ampliar as suspeitas para muito além do gene Notch, sem desprezar a sua importante contribuição nas famílias que segregam as alterações no cromossomo 9;
- É possível haver participação de outros genes presentes nos demais segmentos cromossômicos nas alterações encontradas neste estudo;
- A detecção de microduplicações em zonas críticas e de forma variável desafia os profissionais de saúde para o entendimento clínico de recorrência familiar de doenças cardíacas e modifica o cenário diagnóstico, ampliando o número de casos para além dos fatores ambientais relacionados a essas doenças;
- O aconselhamento genético para a população analisada é fundamental, tornando possível a escolha do tratamento pelos pacientes a fim de definir o destino reprodutivo em seu núcleo familiar de maneira informada.

8 LIMITAÇÕES

O presente estudo apresentou algumas limitações, dentre elas o tempo para a realização da coleta e o mapeamento de outros indivíduos sabidamente portadores de sintomas cardíacos, fato este causado pela demora na aprovação do comitê de ética. Até a finalização deste manuscrito, não tivemos acesso a todos os demais diagnósticos, pois alguns dos indivíduos da pesquisa ainda permaneciam em avaliação com especialista; presumimos que a amostra certamente é maior do que a apresentada até então.

9 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Diante dos resultados apresentados, não foi possível afirmar a única participação do gene Notch nos desfechos familiares, uma vez que houve maior frequência de outras microduplicações nos indivíduos já diagnosticados do que as encontradas no segmento 9q34.3. Ademais, os fenótipos cardiovasculares revelados derivavam de um dos agrupamentos familiares em que um dos indivíduos segregava alterações no cromossomo 15.

A recorrência dos achados cardiovasculares e musculoesqueléticos da amostra aqui avaliada é bastante relevante, sendo que todas as famílias estudadas advêm de casamentos consanguíneos, e a segregação dos defeitos pôde ser verificada em grande parte dos indivíduos genotipados na pesquisa da qual derivou este estudo anterior. Apesar de os exames clínicos cardiológicos não possuírem evidências suficientes sob o olhar do especialista para afirmar alterações estruturais cardíacas, seria interessante que esses indivíduos realizassem exames de imagem, uma vez que em um dos casos de anomalia cardíaca congênita não se evidenciava a sintomatologia associada, o que nos faz pensar que outros casos equivalentes possam ser detectados. Nossa proposta é avaliar cada indivíduo desses agrupamentos familiares através de exames de imagem para afastar ou confirmar alterações estruturais cardíacas ou vasculares, entendendo a relevância destes exames para a medicina pós-genômica.

Consideramos necessários novos estudos que expandam os casos já diagnosticados para a relação genótipo-fenótipo, projetando elucidações dos principais genes envolvidos nos desfechos encontrados e do papel do genoma para os fenótipos revelados.

Por fim, ressalta-se a importante contribuição deste estudo na caracterização e no entendimento das etiologias envolvendo fenótipos cardiovasculares e mioarticulares herdados, o que faz desta pesquisa um importante contribuinte para se pensar em políticas públicas a fim de identificar pessoas em risco dentro da comunidade de Ladeira.

REFERÊNCIAS

- Abdelmonem NA, Turkey NO, Hashad IM et al. Association of Thrombospondin-1 (N700S) and Thrombospondin-4 (A387P) Gene Polymorphisms with the Incidence of Acute Myocardial Infarction in Egyptians. *Curr Pharm Biotechnol.* 2017; 8(13):1078-87.
- Acharya G et al. Major congenital heart disease in Northern Norway: shortcomings of pre- and postnatal diagnosis. *Acta Obstet. Gynecol. Scand., Stockholm.* 2004;.83(12):1124-29.
- Allderdice P W et al. Duplication 9q34 Syndrome. *Am. J. Hum Genet., Chicago.* 1983, 35: 1005-19.
- Alves R M. Investigações genéticas e familiares em pacientes com epilepsia no estado da Bahia [tese]. Salvador: Universidade Federal da Bahia; 2015.
- Amorim Beltrão B et al. Clinical indicators of ineffective breathing pattern in children with congenital heart diseases. *Int. J. Nurs. Terminol. Classif., Philadelphia.* 2011; 22(1):4-12.
- Anbara T, Sharifi M, Aboutaleb N. Endothelial to mesenchymal transition in the cardiogenesis and cardiovascular diseases. *Curr. Cardiol. Ver.;* 2019.
- Aquino S N D et al. Study of patients with cleft lip and palate with consanguineous parents. *Braz. J. Otorhinolaryngol., São Paulo.* 2011;77(1):19-23.
- Aragão J A, Mendonça M P, Silva M S. O perfil epidemiológico dos pacientes com cardiopatias congênitas submetidos à cirurgia no Hospital do Coração. *Rev. Bras. Ciênc. Saúde, João Pessoa.* 2013;17(3):263-8.
- Artavanis-Tsakonas S, Rand M D, Lake R J. Notch signaling: cell fate control and signal integration in development. *Science.* 1999;284:.770-6.
- Ashleigh A, Richards L, Garg V. Genetics of congenital heart disease. *Curr. Cardiol. Rev.* 2010; 6:91-7.
- Ashokkumar M, Anbarasan C, Saibabu R et al. An association study of thrombospondin 1 and 2 SNPs with coronary artery disease and myocardial infarction among South Indians. *Thromb Res.* 2011;128(4):e49-53.
- Barbosa L G et al. Ecocardiograma: da solicitação do exame pelo pediatra à realização pelo cardiologista pediátrico. *ABC., Imagem Cardiovasc., São Paulo.* 2017;30(2):39- 45.
- Battaglia A, Parrini B, Tancredi R. The behavioural phenotype of idic(15) syndrome. *Am. J. Med. Genet. Part C Semin. Med. Genet.*2010; 154C: 448-55.
- Behrman R E, Kliegman R. *Princípios de pediatria.* Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 2004.
- Belo W A, Oselame G B, Neves E B. Perfil clínico-hospitalar de crianças com cardiopatia congênita. *Cad. Saúde Coletiva, Goiânia.* 2016;24(2):216-20.

Bhagavatula Mr, Fan C, Shen Gq et al. Transcription factor MEF2A mutations in patients with coronary artery disease. *Hum Mol Genet.* 2004; 13:3181-8.

Bharati S, Lev M. The surgical anatomy of hypoplasia of aortic tract complex. *J. Thorac. Cardiovasc. Surg., Tokyo.* 1984;88:97.

Bhat A H. Diagnosis of tetralogy of fallot and its variants in the late first and early second trimester: Details of initial assessment and comparison with later fetal diagnosis. *Echocardiography, Armonk.* 2013;30(1):81-7.

Bittel D C et al. Gene expression in cardiac tissues from infants with idiopathic conotruncal defects. *BMC Med. Genomics.* 2011;4:1-10.

Bittles A H. Consanguinity and its relevance to clinical genetics. *Clin. Genet., Copenhagen.* 2001;60:89-98, 2001.

Boekholdt SM, Trip MD, Peters RJ et al. Thrombospondin-2 polymorphism is associated with a reduced risk of premature myocardial infarction. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2002; 22:e24-e27.

Brickner M E, Hillis L D, Lange R A. Congenital heart disease in adults. Second of two parts. *N. Engl. J. Med., Boston.* 2000; 342(5):334-42.

Brunet A. et al. BAC array CGH in patients with Velocardiofacial syndrome-like features reveals genomic aberrations on chromosome region 1q21.1. *BMC Med. Genet., London.* 2009;10:144.

Bruns, D. Presenting physical characteristics, medical conditions, and developmental status of long-term survivors with trisomy 9 mosaicism. *Am. J. Med. Genet., New York.* 2011;155(5):1033-9.

Budts W. Eisenmenger syndrome: medical prevention and management strategies. **Expert Opin Pharmacother.** 2005;6:2047-60.

Budts W et al. Treatment of heart failure in adult congenital heart disease: a position paper of the working group of grown-up congenital heart disease and the heart failure association of the European Society of Cardiology. *Eur. Heart J., London.* 2016;37:1419-27.

Campos C M R, Zanardo E A, Dutra R L, Kulikowski, L D, Kim C. Investigation of copy number variation in children with conotruncal heart defects. *Arquivos Brasileiros de Cardiologia.* 2015;104(1):24-31.

Carey A S et al. Effect of copy number variants on outcomes for infants with single ventricle heart defects. *Circ. Cardiovasc. Genet.* 2013;6: 444-51.

Chaix M A, Andelfinger G, Khair Y P. Genetic testing in congenital heart disease: A clinical approach. *World J. Cardiol.* 2016;26(8):180-9.

Chen S et al. Notch gain of function inhibits chondrocyte differentiation via bpg-dependent suppression of Sox9. *JBM R Plus.* 2013;28(3):649-59.

Cheung H C et al. Constitutional Tandem Duplication of 9q34 that Truncates EHMT1 in a Child with Ganglioglioma. *Pediatr. Blood Cancer*, Hoboken. 2012;58(5):8015.

Colaiani V, Mazzei R, Cavallaro S. Copy number variations and stroke. *Neurol Sci.*; 37:1895-1904, 2016

Cooper G M. A copy number variation morbidity map of developmental delay. *Nat. Genet.*, New York. 2011;43, n.9, p. 838, 2011.

Cowan J R, Ware S M. Genetics and genetic testing in congenital heart disease. *Clin. Perinatol.*, Philadelphia. 2015; 42:373-93.

D'Amours G et al. Rare copy number variants contribute to congenital left-sided heart disease. *PLoS Genetics*, San Francisco. 2012;8:e1002903.

Decipher-GRCh37. Disponível em: <https://decipher.sanger.ac.uk>. Acesso em: out. 2019.

Derwińska K, Bartnik M, Wiśniowiecka-Kowalnik B, Jagła M, Rudziński A, Pietrzyk J J, Sykulski M. (2012). Assessment of the role of copy-number variants in 150 patients with congenital heart defects. *Medycyna Wieku Rozwojowego*, 2012;16(3):175-82.

Dishowitz M I et al. Jagged1 immobilization to an osteoconductive polymer activates the Notch signaling pathway and induces osteogenesis. *J. Biomed. Mater. Res. B Appl. Biomater.*, Hoboken. 2014;102(5):1558-67.

Dodge-Khatami A. Advances and research in congenital heart disease. *Transl Pediatr.* 2016; 5(3):109-11.

Eldadah Z A, Hamosh A, Biery N J. Familial tetralogy of fallot caused by mutation in the jagged1 gene. *Hum. Mol. Genet.*, Oxford. 2001;10:163-9.

Ellisen L W et al. TAN-1, the human homolog of the Drosophila Notch gene, is broken by chromosomal translocations in T lymphoblastic neoplasms. *Cell.* 1991;66:649-61.

Evans S M et al. Myocardial lineage development. *Circ. Res.*, Dallas. 2010; 107:1428-44.

Fahed A C, Gelb B D, Seidman J G. Genetics of congenital heart disease: the glass half empty. *Circ Res.*, Dallas. 2013;112(4):1-29.

Filhos do coração. Disponível em: <http://filhosdocore.blogspot.com/2009/02/hipoplasia-do-coracao-esquerdo.html>. Acesso em: 8 set.2019.

Firpo C et al. Achados ecocardiográficos em crianças com sopro inocente. *Rev. Assoc. Med. Bras.* 2006;52(4).

Ford, R. M.; Book, W.; Spivey, J. R. Liver disease related to the heart. *Transplant. Rev.*, Orlando, v. 29, p.33-37, 2015.

Freylikhman O et al. Variants in the NOTCH1 gene in patients with aortic coarctation. *Congenital Heart Dis.*, Oxford. 2014; 9(5):391-6.

Gardner H M. Advances in fetal echocardiography. *In: Seminars in fetal and neonatal medicine*. WB Saunders. 2018; p. 112-8.

Garg V. et al. Mutations in Notch1 cause aortic valve disease. *Nature*, London. 2005; 437: 270-4.

Garg V. Molecular genetics of aortic valve disease. *Curr. Opin. Cardiol.*, London. 2006;21:180-4.

Gazave E. et al. Origin and evolution of the Notch signalling pathway: an overview from eukaryotic genomes. *BMC Evol. Biol.*, London. 2009;9:1-249.

Gelb B D, Seidman C E. The good SHP2 association: a porthole into the genetics of congenital heart disease. *Cir. Cardiovasc. Genet.* 2012; 5(3):271-3.

Genecards. 2019. Disponível em: <https://www.genecards.org/cgi-bin/carddisp.pl?gene=NOTCH1&keywords=notch>. Acesso em: 22 set. 2019.

Gilbert S F. *Biologia do desenvolvimento*. Porto Alegre: Artmed; 2019. p. 95-142.

Gilboa S M et al. Mortality resulting from congenital heart disease among children and adults in the United States, 1999 to 2006. *Circulation*, Dallas. 2010;122:2254-63, 2010.

Gillentine M A, Schaaf P. The human clinical phenotypes of altered CHRNA7 copy number. *Biochemical pharmacology*.2015;97(4):352-62.

Goldmuntz E. et al. CFC1 mutations in patients with transposition of the great arteries and double-outlet right ventricle. *Am. J. Hum. Genet.*, Chicago. 2002;70:776-80.

Greenway S C. et al. De novo copy number variants identify new genes and loci in isolated sporadic tetralogy of Fallot. *Nat. Genet.*, New York. 2009;41:931-5.

Gripp K W et al. Cardiac anomalies in Axenfeld-Rieger syndrome due to a novel FOXC1 mutation. *Am. J. Med. Genet.*, Hoboken. 2013;161A:114-9.

Hanchard N A et al. A genome-wide association study of congenital cardiovascular left-sided lesions shows association with a locus on chromosome 20. *Human Mol. Genet.*, Oxford. 2016; 25(11):2331-41.

Hartman R J et al. The contribution of chromosomal abnormalities to congenital heart defects: a population-based study. *Pediatr. Cardiol.*, New York. 2011; 32(8):1147-57.

Hegerty A S, Anderson R H, Ho S. Y. Congenital heart malformations in the first year of life - a necropsy study. *Br. Heart J.*, London, 1985;54:583-92.

Hitz M P et al. Rare copy number variants contribute to congenital left-sided heart disease. *PLoS Genet.*, San Francisco. 2012;8:e1002903.

Hockenberry, M. *Fundamentos Enfermagem pediátrica*. São Paulo: Elsevier; 2011.

Hoffman J I, Kaplan S. The incidence of congenital heart disease. *J. Am. Coll. Cardiol.*, New York. 2002; 39(12):1890-1900.

Humphray S J et al. DNA sequence and analysis of human chromosome 9. *Nature*, London. 2004;429:369-74.

Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. v4.3.39, 2010.

Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Folhas topográficas, escala 1:100.000, 2007. In: SEI. Divisão Político-Administrativa do Estado da Bahia. Versão; 30 jun. 2015.

Jalal Z et al. Liver stiffness measurements for evaluation of central venous pressure in congenital heart diseases. *Heart*, London. 2015;101:1499-504.

Jatene M B Tratamento cirúrgico das cardiopatias congênitas acianogênicas e cianogênicas. *Rev. Soc. Cardiol. Estado de São Paulo*, São Paulo. 2002;12 (5):763-75.

Jensen A S et al. The haematocrit – an important factor causing impaired haemostasis in patients with cyanotic congenital heart disease. *Int. J. Cardiol.*, Amsterdam. 2013;167:1317-21.

Kantor P F, Redington A N. Pathophysiology and management of heart failure in repaired congenital heart disease. *Heart Fail. Clin.*, Philadelphia. 2010;6:497-506.

Kariz S, Petrovic D. Genetic markers of myocardial infarction. *J. Clin. Exp. Cardiol.* 2012; 2(S2):1-7.

Kathiresan S, Srivastava D. Genetics of human cardiovascular disease. *Cell*, London. 2012;148:1242-57.

Kerstjens-Frederikse W S et al. Cardiovascular malformations caused by NOTCH1 mutations do not keep left: data on 428 probands with left-sided CHD and their families. *Genet. Med.*, Baltimore. 2016;18(9):914-23.

Kobinger, M. E. B. A. Avaliação do sopro cardíaco na infância. *J. Pediatr.*, Rio de Janeiro. 2003;79(1):S87-S96.

Komoike Y et al. Zebrafish gene knockdowns imply roles for human YWHAG in infantile spasms and cardiomegaly. *Genesis*, New York. 2010;48:233-43.

Kopan R, Ilagan M X G. The canonical Notch signaling pathway: unfolding the activation mechanism. *Cell*, London. 2009;137(2): 216-33.

Kovalchin J P, Silverman N H. The impact of fetal echocardiography. *Pediatr. Cardiol.*, New York. 2004;25:299-306.

Krantz I D, Piccoli D A, Spinner N B. Clinical and molecular genetics of Alagille syndrome. *Curr. Opin. Pediatr.*, Philadelphia. 1999;11:558-64.

- Krebs LT et al. Notch signaling is essential for vascular morphogenesis in mice. *Genes Dev.*, Cold Spring. 2000;14:1343-52.
- Lai C W S, Chau A KT, Lee C P. Comparing the accuracy of obstetric sonography and fetal echocardiography during pediatric cardiology consultation in the prenatal diagnosis of congenital heart disease. *J. Obstet. Gynaecol. Res.*, Tokyo. 2016;42(2):166-71.
- Lalani S R, Belmont J W. Genetic basis of congenital cardiovascular malformations. *Eur. J. Med. Genet.*, Paris. 2014.
- Lavallee G. et al. The Kruppel-like transcription factor KLF13 is a novel regulator of heart development. *Embo J.*, Oxford. 2006;25(21):5201-13.
- Lee T M et al. Pediatric cardiomyopathies. *Circ Res.*, Dallas. 2017;121:855-73.
- Li Q Y, Newbury-Ecob R A, Terrett J A. Holt-Oram syndrome is caused by mutations in TBX5, a member of the Brachyury (T) gene family. *Nat. Genet.*, Oxford. 1997;15:21-9.
- Li B. et al. MIB1 mutations reduce Notch signaling activation and contribute to congenital heart disease. *Clin. Sci.*, Oxford. 2018;132(23):2483-91.
- Lindsay I. et al. Impact of liver disease after the Fontan operation. *Am. J. Cardiol.*, New York. 2015;115:249-52.
- Liu S et al. Environmental risk factors for congenital heart disease in the shandong peninsula, china: a hospital-based case-control study. *J. Epidemiol.*, Tokyo. 2009;19(3):122-30.
- Liu Y et al. Global birth prevalence of congenital heart defects 1970- 2017: updated systematic review and meta-analysis of 260 studies. *Int. J. Epidemiol.*, London. 2019;48:455-63.
- Louvi A, Artavanis-Tsakonas S. Notch and disease: a growing field. In: *Seminars in cell & developmental biology*. Academic Press. 2012; 23(4):473-80.
- Lowther C, Costain G, Stavropoulos D et al. Delineating the 15q13.3 microdeletion phenotype: a case series and comprehensive review of the literature. *Genet Med*. 2015; 17(2): 149-57.
- Mankin H J, Jess J, Trahan C A. Hand and foot abnormalities associated with genetic diseases. *Hand, Essex*. 2011;6(1):18-26.
- Marelli A J et al. Lifetime prevalence of congenital heart disease in the general population from 2000 to 2010. *Circulation*, Dallas. 2014;130:749-56.
- Matos-Nieves A, Yasuhara J, Garg V. Another Notch in the genetic puzzle of tetralogy of fallot. *Circ. Res.*, Dallas. 2019;124:462-64.
- Mattina T et al. Jacobsen syndrome. *Orphanet. J. Rare Dis.*, London. 2009;v.4(9).

Mayo Clinic. 2019. Disponível em [em:https://www.mayoclinic.org/diseases-conditions/tetralogy-of-fallot/symptoms-causes/syc-20353477](https://www.mayoclinic.org/diseases-conditions/tetralogy-of-fallot/symptoms-causes/syc-20353477). Acesso em: 06 set. 2019.

McBride K L. et al. NOTCH1 mutations in individuals with left ventricular outflow tract malformations reduce ligand-induced signaling. *Hum. Mol. Genet., Oxford*. 2008;17: 2886-993.

McCarthy J J, Parker A, Salem R et al. Large scale association analysis for identification of genes underlying premature coronary heart disease: cumulative perspective from analysis of 111 candidate genes. *J Med Genet*. 2004;41:334-41.

McCrinkle B W et al. Cardinal clinical signs in the differentiation of heart murmurs in children. *Arch. Pediatr. Adolesc. Med., Chicago*. 1996;150:171-4.

McCrinkle B W et al. Factors prompting referral for cardiology evaluation of heart murmurs in children. *Arch. Pediatr. Adolesc. Med., Chicago*. 1995;149:1277-79.

Mefford H et al. Recurrent rearrangements of chromosome 1q21.1 and variable pediatric phenotypes. *N. Engl. J. Med., Boston*. 2008; 359:1685-99.

Mogra R et al. Early fetal echocardiography: Experience of a tertiary diagnostic service. *Austr. N. Z. J. Obstet. Gynaecol., Melbourne*. 2015;55(6): 552-8.

Mommersteeg M T M et al. Disrupted Slit-Robo signalling results in membranous ventricular septum defects and bicuspid aortic valves. *Cardiovasc. Res, London*. 2015;106(1): 55-66.

Morita H, Taguchi J, Kurihara H et al. Genetic polymorphism of 5,10-methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR) as a risk factor for coronary artery disease. *Circulation*. 1997;95:2032-6.

Mott Children's Hospital. 2019. Disponível em: <https://www.mottchildren.org/conditions-treatments/ped-heart/conditions/tetralogy-fallot>. Acesso em: 06 set. 2019.

Mu, X. et al. The role of Notch signaling in muscle progenitor cell depletion and the rapid onset of histopathology in muscular dystrophy. *Hum. Mol. Genet., Oxford*. 2015;24(10): 2923-37.

Muncke N et al. Missense mutations and gene interruption in PROSIT240, a novel TRAP240-like gene, in patients with congenital heart defect (transposition of the great arteries). *Circulation, Dallas*, 2003;108:2843-50.

Nabulsi M M et al. Parental consanguinity and congenital heart malformations in a developing country. *Am. J. Med. Genet. A., Hoboken*. 2003;116:342-7.

Nemer M, Horb M E. The KLF family of transcriptional regulators in cardiomyocyte proliferation and differentiation. *Cell Cycle*, 2007, 6 (2):117-21.

Noonan J A, Nadas A S. The hypoplastic left heart syndrome: an analysis of 101 cases. *Pediatr. Clin. North Am.*, 1958; 5(4):1029-56.

Oda T. et al. Mutations in the human Jagged1 gene are responsible for Alagille syndrome. *Nat Genet.*, New York, 1997;16:235-42.

Omim #188060: Thrombospondin i; Thbs1. Disponível em:
<https://omim.org/entry/188060?search=THBS1&highlight=thbs1#19>.

Ogawa N et al. Genome-Wide Association Study of Coronary Artery Disease. *Int. J. Hypertens.*, 2010;1:1-8.

Orrico A et al. Late-onset Lennox-Gastaut syndrome in a patient with 15q11.2-q13.1 duplication. *Am. J. Med. Genet. A.*, Hoboken. 2009; 149A:1033-5, 2009.

Oyen N et al. Recurrence of congenital heart defects in families. *Circulation*, Dallas, 2009;120:295-30.

Paterick T E et al. Aortopathies: etiologies, genetics, differential diagnosis, prognosis and management. *Am. J. Med.*, New York, 2013;126:670-78.

Payne A R et al. Submicroscopic chromosomal copynumber variations identified in children with hypoplastic left heart syndrome. *Pediatr. Cardiol.*, New York, 2012;33:757-63.

Pierpont M E et al. Genetic basis for congenital heart defects: current knowledge: a scientific statement from the American Heart Association Congenital Cardiac Defects Committee, Council on Cardiovascular Disease in the Young: endorsed by the American Academy of Pediatrics. *Circulation*, Dallas, 2007;115(23): 3015-38.

Pierpont M E. Genetic basis for congenital heart disease: revisited. *Circulation*, Dallas, 2018; 138: e653-e711.

Pober B R. Williams-Beuren syndrome. *N. Engl. J. Med.*, Boston, 2010;362(3):239-52.

Pogue H B. et al. Genética das cardiopatias congênitas. *Rev. Med. Saúde Brasília*, Brasília, 2015;4(3).

Poulson D F. Chromosomal deficiencies and embryonic development of *Drosophila melanogaster*. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 1937; 23:133-7.

Rajakumar K. et al. Comparative study of clinical evolution of heart murmurs by general pediatricians and pediatric cardiologists. *Clin. Pediatr.*, São Paulo, 1999; 38:511-8.

Richards A A, Garg V. Genetics of congenital heart disease. *Curr. Cardiol. Rev.*, 2010;6: 91-7.

Rios A C, Serralbo O, Salgado D, Marcelle C. Neural crest regulates myogenesis through the transient activation of NOTCH. *Nature*, 2011;473: 532-5.

Rosa R M et al. Malformações detectadas pelo ultrassom abdominal em crianças com cardiopatia congênita. *Arq. Bras. Cardiol.*, São Paulo, 2012; 99(6):1092-9.

Saiki H et al. Prevalence, implication, and determinants of worsening renal function after surgery for congenital heart disease. *Heart Vessel*, 2015. DOI: 10.1007/s00380-015-0730-9.

Samánek M et al. Distribution of age at death in children with congenital heart disease who died before the age of 15. *Br. Heart J.*, London, 1988;59:581-5.

Schaaf C. Nicotinic acetylcholine receptors in human genetic disease. *Genet Med.*, Sep.2014; 16 (9): 649-56.

Schinzel A. *Catalog of unbalanced chromosome aberrations in man*. Walter de Gruyter, Berlin, 2001.

Schrander-Stumpel C T et al. Kabuki syndrome: clinical data in 20 patients, literature review, and further guidelines for preventive management. *Am. J. Med. Genet. A.*, Chicago, 2005;132A:234-43.

Shia Wc, Ku Th, Tsao Ym et al. Genetic copy number variants in myocardial infarction patients with hyperlipidemia. *BMC Genomics*, 2011;12(Suppl 3):S23.

Simioni M. *Investigação de fatores genéticos na etiologia de fendas orofaciais típicas*. [Tese]. Universidade de São Paulo; 2012.

Sociedade Brasileira de Pediatria. Diagnóstico precoce de cardiopatia congênita crítica: oximetria de pulso como ferramenta de triagem neonatal. 2011. Disponível em: https://www.sbp.com.br/fileadmin/user_upload/pdfs/diagnostico-precoce-oximetria.pdf. Acesso em: 08 set. 2019.

Soemedi R et al. Contribution of global rare copy-number variants to the risk of sporadic congenital heart disease. *Am. J. Hum. Gen.*, 2012;91(3):489-501.

Sorensen Km, El-Segaler M, Fernlund E, Errami A, Bouvagnet P, Nehme N et al. Screening of congenital heart disease patients using multiplex ligation-dependent probe amplification: early diagnosis of syndromic patients. *Am J Med Genet.*, 2012;158A(4):720-5.

Stefano Z, Ernesto C. Notch signaling and the skeleton. *Endocr Rev.*, 2016 Jun; 37(3): 223-53.

Stenina O I, Topol E J, Plow E F. Thrombospondins, their polymorphisms, and cardiovascular disease. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.*; 27:1886-1894, 2007.

Stittrich A B et al. Mutations in NOTCH1 cause Adams-Oliver syndrome. *Am. J. Hum. Genet.*, Chicago, 2014;95(3):275-84.

Swartz E N et al. Vascular abnormalities in Adams-Oliver syndrome: cause or effect? *Am. J. Med. Genet.*, New York, 1999;82:49-52.

Szafranski P et al. Structures and molecular mechanisms for common 15q13. 3 microduplications involving CHRNA7: benign or pathological? *Human Mutation*, New York, 2010;31(7):840-50.

Taboada Lugo, N, Herrera Martinez M. Mecanismos epigenéticos y vía de señalización Notch en el origen de diferentes defectos congénitos. *Medicentro*, Santa Clara, 2018;22(3):197-207.

Thangaratinam S et al. Pulse oximetry screening for critical congenital heart defects in asymptomatic newborn babies: a systematic review and meta-analysis. *Lancet*, London, 2012;379(9835): 2459-64.

Theis J L et al. Compound heterozygous NOTCH1 mutations underlie impaired cardiogenesis in a patient with hypoplastic left heart syndrome. *Hum. Genet.*, Berlin, 2015;134(9):1003-11.

Thienpont B, Mertens L, De Ravel T, Eyskens B, Boshoff D, Maas N, Fryns Jp, Gewillig M, Vermeesch Jr, Devriendt K. Submicroscopic chromosomal imbalances detected by array-CGH are a frequent cause of congenital heart defects in selected patients. *Eur Heart J*. 2007; 28:2778–2784.

Topol Ej, Mccarthy J, Gabriel S et al. Single nucleotide polymorphisms in multiple novel thrombospondin gene may be associated with familial premature myocardial infarction. *Circulatin*. 104:2541-2644, 2001.

Turleau C et al. Partial Trisomy 9q: A new syndrome. *Hum. Genet.*, Berlin, 1975;29:233-41.

Turnpenny P D. Syndromes and diseases associated with the notch signaling. *Pathway*, 2014.

Urraca N et al. The interstitial duplication 15q11.2-q13 syndrome includes autism, mild facial anomalies and a characteristic EEG signature. *Autism. Res.*, 2013;6:268-79.

Van Bon B W et al. Further delineation of the 15q13 microdeletion and duplication syndromes: a clinical spectrum varying from non-pathogenic to a severe outcome. *J. Med. Genet.*, 2009;46(8): 511-23.

Van Der Bom J G et al. Activation products of the haemostatic system in coronary, cerebrovascular and peripheral arterial disease. *Thromb. Haemost.*, Stuttgart,2001;85(2):234-9.

Van Der Linde D et al. Birth prevalence of congenital heart disease worldwide: a systematic review and meta-analysis. *J. Am. Coll. Cardiol.*, New York, 2011;58(21):2241-7.

Vandusen N J et al. Hand2 is an essential regulator for two Notch-dependent functions within the embryonic endocardium. *Cell Rep.*, London, 2014;9(6):2071-83.

Vasconcelos M. O papel da sinalização Notch na diferenciação do epitélio pulmonar. 2011. [Tese]. Universidade de São Paulo, 2011.

Vasyutina E, Lenhard, D C, Birchmeier, C. Notch function in myogenesis. *Cell Cycle*, 2007; 6(12): 1450-53.

Vesterby A et al. Congenital heart malformations in Jutland, Denmark: a three year necropsy study in children aged 0-14 years. *Br. Heart J.*, London, 1987;58: 653-38.

Vieira, D K R et al. Atenção em genética médica no SUS: a experiência de um município de médio porte. *Physis: Revista de Saúde Coletiva*, 2013; 23: 243-61.

Vijay A, Garg I, Ashraf Mz. DNA Copy Number Variations in Cardiovascular Diseases. *Epigenetics Insights*, 2018; 11: 1-9.

Vincent S D, Buckingham M E. How to make a heart: the origin and regulation of cardiac progenitor cells. *Curr. Top. Dev. Biol.*, New York.2010;90:1-41.

Wahi K, Bochter M S, Cole SE. The many roles of Notch signaling during vertebrate somitogenesis. In: *Seminars in cell & developmental biology*. Academic Press, 2016. p. 68-75.

Wang L, Fan C, Topol Se, et al. Mutation of MEF2A in inherited disorder with feature of coronary artery disease. *Science*. 302:1578-1581, 2003.

Wessel J, Topol EJ, Ji M et al. Replication of the association between the trombospondin-4 A387P polymorphism and myocardial infarction. *M Heart J.*; 147:905-909.

Wharton, K. A. *et al.* Nucleotide sequence from the neurogenic locus Notch implies a gene product that shares homology with proteins containing EGF-like repeats. *Cell*, [s.l], v.43, 567-581,1985.

Wikipidea. Via de Sinalização Notch. 2019. Disponível em: https://pt.wikipedia.org/wiki/Via_de_sinaliza%C3%A7%C3%A3o_Notch. Acesso: 25 out. 2019

Wilson, D. I. *et al.* Deletions within chromosome 22q11 in familial congenital heart disease. *Lancet*, London. 1992;340: 573-5.

Winlaw D. Congenital heart disease in the 21st century. *Crit. Care Resusc.*, Bedford Park. 2007;9(3):270-4.

Wolpert C M et al. Three probands with autistic disorder and isodicentric chromosome 15. *Am. J. Med. Genet.*, Chicago. 2000; 96:365-72.

Yagi H et al. Role of TBX1 in human del22q11.2 syndrome. *Lancet*, London. 2002; 362: 1366-73.

Yang Qw, Liu S, Tian Y et al. Methylation-associated Silencing of the Thrombospondin-1 Gene in Human Neuroblastoma1. *Cancer Research*. 63: 6299- 6310, 2003.

Yunis K et al. Consanguineous marriage and congenital heart defects: a case-control study in the neonatal period. *Am. J. Med. Genet. A.*, Chicago. 2006;140:1524-30.

Zanotti S, Canalis E. Notch signaling and the skeleton. *Endocr. Rev.*, Baltimore. 2016; 37(3):223-53.

Zhou X L, Liu J C. Role of Notch signaling in the mammalian heart. *Braz. J. Med. Biol. Res.*, Ribeirão Preto; 2014; 47(1):1-10.

Zidere V et al. Comparison of echocardiographic findings in fetuses at less than 15 weeks' gestation with later cardiac evaluation. *Ultrasound. Obstet. Gynecol.*, Camforth, 2013;42(6): 679-86.

APÊNDICES

APÊNDICE A - TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

(Para maiores de idade)

A doença cardíaca congênita, também chamada de cardiopatia congênita é uma alteração que acontece na estrutura do coração e dos grandes vasos que levam e trazem sangue para o coração presente antes mesmo do nascimento. Essas alterações ocorrem enquanto o feto está se desenvolvendo no útero e pode afetar 1 em cada 100 crianças. É a alteração congênita mais comum e uma das principais causas de mortes relacionadas a malformações congênitas.

Alguns fatores podem contribuir com o aparecimento das cardiopatias, dentre eles a hereditariedade, fatores genéticos, doenças cromossômicas, como síndrome de Down, infecção por vírus durante a gravidez, como a rubéola, ingestão de alguns medicamentos durante a e o consumo de álcool e drogas durante a gravidez.

Os *fatores genéticos* estão relacionados com o *DNA*, seja ele na forma de gene ou como cromossomo. O *DNA* é o material que determina as nossas características, o nosso patrimônio genético. Funciona como uma “*carteira de identidade biológica*” onde pode ser lida as informações a respeito da nossa constituição, nossa origem materna e paterna, nossa raça e pode revelar se nós ou nossos familiares (mesmo aqueles mais distantes) temos ou podemos ter algum tipo de doença genética e/ou hereditária. Por este motivo, para saber a causa de uma doença cardíaca hereditária que uma pessoa tem, muitas vezes, é necessário analisar o DNA e isso é feito através de exames de *genética molecular*.

A *genética molecular* tem a tarefa de estudar e localizar nos cromossomos, os genes responsáveis pelas mutações, nas diversas formas de doenças cardíacas idiopáticas. Nos últimos anos têm sido identificadas causas genéticas responsáveis por diversos tipos de doenças cardíacas, assim como de outros fatores que cause *predisposição hereditária* a ela. Os resultados destas investigações vêm fazendo que as cardiopatias sejam mais bem compreendidas e, a partir daí, diversas estratégias para diagnosticar, tratar e acompanhar pessoas com cardiopatia congênita vem sendo disponibilizado para os médicos.

Este projeto foi apresentado ao curso de Pós-graduação em Processos Interativos dos Órgãos e Sistemas, do Instituto de Ciências da Saúde (ICS) da Universidade Federal da Bahia (UFBA) e tem a finalidade de estudar pacientes e familiares pertencentes a uma família consanguínea onde foram identificadas alterações no cromossomo 9, mais específico em 9q34.3, envolvendo o gene NOTCH1, além de outros membros sem diagnóstico genético que apresentem sinais de Cardiopatia Congênita, doenças cardiovasculares e/ou alterações associadas a fim de investigar as possíveis alterações genéticas que contribuam para

manifestação nesta população.

Como será feita a pesquisa? Se você concordar em participar, será aplicado pelo médico cardiologista Dr. Luiz Pereira de Magalhães um protocolo contendo seus dados clínicos. Em seguida será feita, pela mestrandia Aline do Nascimento Andrade, responsável por esta pesquisa (sob a supervisão da Prof^a Dr^a Maria Betânia Pereira Toralles e da Dra. Rita Maria Alves), o histórico de sua família. Este histórico tem com o objetivo identificar outros membros da sua família que tenham ou tiveram doenças cardíacas, assim como outros fatores que possam justificar o seu aparecimento.

Caso os resultados clínicos indiquem que você tem alguma doença cardíaca e o seu histórico familiar demonstrar que outras pessoas têm ou tiveram sintomas de doenças cardíacas, você e seus familiares serão incluídos na próxima etapa da pesquisa que é a avaliação através de exames de imagem (por exemplo: Raio-X, ECG, Ecocardiograma e Holter), os quais explicaremos a você como será cada um deles quando isso ocorrer. Estes exames serão realizados com a colaboração do Ambulatório Professor Magalhães Neto, no Complexo HUPES, e você não terá nenhum custo para deslocamento ou realização destes

A submissão para todos os exames a serem realizados será mediante este TCLE.

Para alguns pacientes será importante fazer fotos com o propósito de auxiliar na formação dos profissionais de saúde e gestores de saúde pública, para que melhor compreendam e ajudem na identificação de outras pessoas. Portanto será pedindo permissão para fazer e utilizar as fotos, podendo você aceitar ou não.

Os dados e registros feitos durante a entrevista serão discutidos com a equipe envolvida diretamente com esta pesquisa, mas não serão divulgados. Porém o relatório final, contendo citações anônimas (um código de identificação substituirá seu nome a fim de resguardar a confidencialidade de sua identidade), resultados encontrados, fotos (quando autorizada e devidamente tratadas a fim de evitar excesso de exposição) e outros dados que sejam relevantes, será utilizado para apresentações em encontros científicos, publicações em revistas especializadas, nacionais ou internacionais e para servir de consulta para outros estudos.

O que será feito com todos os dados individuais e familiares e fotos quando a pesquisa terminar?

Seguindo as recomendações das Leis, diretrizes e normas que regulamentam a pesquisa em seres humanos, como a vigente, **Resolução 466/12, inciso XI.2-f**, todos os dados capazes de identificar os pacientes, serão mantidos em sigilo absoluto, durante a pesquisa, e após o

término desta. Sendo assim, os protocolos contendo dados clínicos, dados familiares, resultados das análises genéticas, fotos e demais dados coletados nesta pesquisa, serão armazenados em arquivos digitalizados, sob a guarda e total responsabilidade do pesquisador responsável, por um período mínimo 5 anos e máximo de 10 anos.

Todos os dados serão utilizados exclusivamente para os objetivos previstos neste estudo. Caso surja novas exigências, dentro desta mesma pesquisa o Comitê de Ética em Pesquisa do Instituto de Ciências da Saúde da Universidade Federal da Bahia (CEP/ICS) e o Comitê de Ética em Pesquisa do Complexo-HUPES, responsáveis por avaliar este projeto, será informado e, se julgarem necessário, retornaremos o contato com todos os participantes do estudo para obter novas autorizações.

Quais são os benefícios deste estudo? Se você está sendo convidado para participar desta pesquisa é porque em sua família existe uma condição genética que pode provocar alterações cardíacas que podem ser herdadas. Quando o resultado for positivo, os benefícios podem ser diretos e/ou indiretos para a pessoa, a família e a comunidade. Sem dúvida, saber o tipo de alteração genética que provoca a sua doença cardíaca ou se você e/ou sua família tem predisposição genética para desenvolver cardiopatia, tem impacto na escolha do seu tratamento, a fim de melhorar a sua saúde e conseqüentemente, a sua condição de vida. Os médicos terão melhor entendimento das causas que estão gerando a doença e isso pode interferir na escolha dos fármacos que você deve usar, nos seus hábitos de vida, inclusive alimentação. O aconselhamento genético pode informar a possibilidade de segregar este gene alterado para outros membros da sua família. Isso pode inferir diretamente no diagnóstico precoce de casos ainda não diagnosticados.

Quais são os malefícios ou prejuízo para as pessoas que aceitarem participar deste estudo?

As práticas realizadas nesta pesquisa não colocam em risco a vida do paciente e nem provoca danos físicos. Entretanto, quando se conhece a “*identidade biológica*” das pessoas alguns *danos morais* podem acontecer, por este motivo todos os dados que possam identificar as pessoas que farão parte desta pesquisa, serão protegidos seguindo as normas da Lei que regulamenta normas e diretrizes para realização de pesquisas em seres humanos como a **resolução 466/12** do Conselho Nacional de Saúde. Esta resolução é fundamentada nos principais documentos internacionais que estabelecem diretrizes sobre pesquisa que envolve seres humanos. Nela estão contidos os quatro princípios básicos da bioética: **autonomia, não maleficência, beneficência e justiça**, visando assegurar os direitos e deveres que dizem respeito à comunidade científica, aos sujeitos da pesquisa e à coletividade.

Para que este projeto esteja sendo realizado ele foi submetido ao Comitê de Ética em Pesquisa do Instituto de Ciências da Saúde da Universidade Federal da Bahia (CEP/ICS) Avenida Reitor Miguel Calmon, s/n, Vale do Canela, CEP: 40.110-100 Salvador – Bahia e ao Comitê de Ética em Pesquisa do Complexo Hospitalar Universitário Professor Edgard Santos (CEP-HUPES), localizado no hospital das Clínicas, Rua Augusto Viana, s/n- Canela-Salvador Bahia. CEP: 40110-060 e julgado apto para ser executado. Caso você queira conferir a veracidade destes dados poderá pedir informação no seguinte contato: e-mail: cepics@ufba.br ou cep.hupes@gmail.com; Tel: (71) 3283-8951 (ICS) ou (71) 32838043 (HUPES).

Para garantir o cumprimento da lei a sua participação nesta pesquisa será completamente voluntária, não sendo oferecida nenhuma remuneração ou vantagens. O Senhor (a) terá autonomia para decidir se deve ou não aceitar ou continuar fazendo parte desta pesquisa. Ressalto que o(a) senhor (a) não arcará com nenhum custo para realização dos exames supracitados e nem para os possíveis deslocamentos para a realização de sua avaliação. Apesar disso, você tem assegurado o direito a ressarcimento ou indenização no caso de qualquer problema eventualmente produzido pela pesquisa além de assistência imediata, bem como nos responsabilizamos pela assistência integral aos participantes no que se refere às complicações e danos decorrentes da pesquisa. Ao perceber qualquer risco ou dano significativos ao participante da pesquisa, previstos, ou não, no Termo de Consentimento Livre e Esclarecido, comunicaremos imediatamente, ao Sistema CEP/CONEP, e iremos avaliar em caráter emergencial, a necessidade de adequar ou suspender o estudo.

Nenhuma identificação dos seus dados nem da sua família será possível por parte de terceiros. Os resultados das pesquisas permanecerão em âmbito rigorosamente científico e, quando publicados em revistas científicas ou apresentados em congressos científicos, serão de modo que o sigilo da sua identidade e da identidade da sua família seja absolutamente garantido.

A propriedade dos dados e dos seus resultados pertence aos pesquisadores responsáveis e será conservado em local seguro pelo tempo de 5 anos, podendo o senhor (a) ter acesso a estes quando desejar. O acesso aos resultados desta pesquisa, por terceiros, mesmo que parente direto só será possível mediante autorização do interessado, expressa por escrito e legalmente reconhecida.

As coletas dos dados e materiais necessários para realização deste estudo serão feitos nos meses de julho e agosto de 2019. Abaixo informações específicas sobre locais, dias e horas onde será realizada a pesquisa, assim como contato do pesquisador principal.

Pesquisador principal: **Aline do Nascimento Andrade**

Endereço Comercial: Instituto de Ciências da Saúde. Av. Reitor Miguel Calmon, s/n, Vale do Canela – Salvador/BA – CEP 40.110-100. 4º andar, salas 406- Tel.: (71) 99291-2200 (Tim)– E-mail: alineand.fisioterapia@gmail.com.

Locais de realização da pesquisa:

Coleta dos dados clínicos e familiar: Ambulatório Magalhães Neto, Rua Padre Feijó s/n – Canela: Datas e horários a combinar de acordo com a disponibilidade dos pacientes e da equipe.

Caso necessário, e com o prévio consentimento do (da) Senhor (a), faremos visitas domiciliares a fim de investigar a história familiar e/ou realizar busca ativa de outros membros familiares que, por ventura, estejam impossibilitados de comparecer aos locais de coletas de dados.

Depois de ler e/ou ouvir a leitura deste termo de esclarecimento, O Senhor (a) está sendo convidado a participar desta pesquisa e poderá manifestar a sua disposição em forma pessoal ou como responsável legal pelo paciente, assinando a declaração de consentimento a seguir.

DECLARAÇÃO CONSENTIMENTO

Declaro que li, ouvi e/ou acompanhei a leitura do módulo informativo que esclarece sobre a pesquisa intitulada: “*Seria a via de sinalização NOTCH responsável por alterações congênitas em uma família consanguínea?*”, tendo como responsáveis a mestrande Aline do Nascimento Andrade e a Prof^ª Dr^ª Maria Betânia Pereira Torales e como corresponsável a Prof^ª Dr^ª Rita Maria Alves. Ressalto que entendi que este projeto faz parte de uma pesquisa de Mestrado e que tem início e fim, sendo que sou autônomo (a) para decidir, a qualquer momento, que não mais fazer parte da pesquisa, comprometendo-me avisar aos responsáveis da mesma sobre a minha decisão, a fim de não prejudicar o andamento do projeto.

Diante do exposto eu decido que:

1. Quanto a utilização dos meus registros médicos pelo pesquisador, autoridades regulatórias e pelo Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) da instituição.

Permito

Não permito

2. Ser fotografado (a) para eventuais publicações em revistas científicas ou congressos, desde que estes resultados possam trazer respostas para o conhecimento científico e benefícios para as pessoas com problemas similares, ficando à critério dos pesquisadores responsáveis julgar a necessidade desta ação. Sou consciente que esta autorização implicara, mesmo que em parte, na minha identificação.

Permito

Não permito

3. Que os dados desta pesquisa possam ser utilizados futuramente para publicações em revistas científicas, anais e congressos, entendo sobre os benefícios que estes resultados podem trazer para a comunidade científica.

Permito

Não permito

Assinatura do Paciente: _____

Assinatura dos Responsáveis: _____ e

Assinatura do Pesquisador: _____

No caso de tutor, registro da documentação que comprove a legalidade: _____

Nome Completo e assinatura do profissional responsável pela aplicação deste termo:

Local e data: _____, _____ de _____ de _____

APÊNDICE B - TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO (Para pais e/ou responsáveis de menores de idade)

A doença cardíaca congênita, também chamada de cardiopatia congênita é uma alteração que acontece na estrutura do coração e dos grandes vasos que levam e trazem sangue para o coração presente antes mesmo do nascimento. Essas alterações ocorrem enquanto o feto está se desenvolvendo no útero e pode afetar 1 em cada 100 crianças. É a alteração congênita mais comum e uma das principais causas de mortes relacionadas a malformações congênitas.

Alguns fatores podem contribuir com o aparecimento das cardiopatias, dentre eles a hereditariedade, fatores genéticos, doenças cromossômicas, como síndrome de Down, infecção por vírus durante a gravidez, como a rubéola, ingestão de alguns medicamentos durante a e o consumo de álcool e drogas durante a gravidez.

Os *fatores genéticos* estão relacionados com o *DNA*, seja ele na forma de gene ou como cromossomo. O *DNA* é o material que determina as nossas características, o nosso patrimônio genético. Funciona como uma “*carteira de identidade biológica*” onde pode ser lida as informações a respeito da nossa constituição, nossa origem materna e paterna, nossa raça e pode revelar se nós ou nossos familiares (mesmo aqueles mais distantes) temos ou podemos ter algum tipo de doença genética e/ou hereditária. Por este motivo, para saber a causa de uma doença cardíaca hereditária que uma pessoa tem, muitas vezes, é necessário analisar o DNA e isso é feito através de exames de *genética molecular*.

A *genética molecular* tem a tarefa de estudar e localizar nos cromossomos, os genes responsáveis pelas mutações, nas diversas formas de doenças cardíacas idiopáticas. Nos últimos anos têm sido identificadas causas genéticas responsáveis por diversos tipos de doenças cardíacas, assim como de outros fatores que cause *predisposição hereditária* a ela. Os resultados destas investigações vêm fazendo que as cardiopatias sejam mais bem compreendidas e, a partir daí, diversas estratégias para diagnosticar, tratar e acompanhar pessoas com cardiopatia congênita vem sendo disponibilizado para os médicos.

Este projeto foi apresentado ao curso de Pós-graduação em Processos Interativos dos Órgãos e Sistemas, do Instituto de Ciências da Saúde (ICS) da Universidade Federal da Bahia (UFBA) e tem a finalidade de estudar pacientes e familiares pertencentes a uma família consanguínea onde foram identificadas alterações no cromossomo 9, mais específico em 9q34.

envolvendo o gene NOTCH1, além de outros membros sem diagnóstico genético que apresentem sinais de Cardiopatia Congênita, doenças cardiovasculares e/ou alterações associadas a fim de investigar as possíveis alterações genéticas que contribuam para manifestação nesta população.

Como será feita a pesquisa? Se você concordar em participar, será aplicado pelo médico cardiologista Dr. Luiz Pereira de Magalhães um protocolo contendo os dados clínicos do menor pelo qual você é responsável. Em seguida será feita, pela mestrande Aline do Nascimento Andrade, responsável por esta pesquisa (sob a supervisão da Prof^a Dr^a Maria Betânia Pereira Toralles e da Dra. Rita Maria Alves), o histórico de sua família. Este histórico tem com o objetivo identificar outros membros da sua família que tenham ou tiveram doenças cardíacas, assim como outros fatores que possam justificar o seu aparecimento.

Caso os resultados clínicos indiquem que a criança tenha doença cardíaca e o seu histórico familiar demonstrar que outras pessoas têm ou tiveram sintomas de doenças cardíacas, tanto o menor como seus familiares serão incluídos na próxima etapa da pesquisa que é a avaliação através de exames de imagem (por exemplo: Raio-X, ECG, Ecocardiograma), os quais explicaremos a você como será cada um deles quando isso ocorrer. Estes exames serão realizados com a colaboração do Ambulatório Professor Magalhães Neto, no Complexo HUPES, e você não terá nenhum custo para deslocamento ou realização destes exames.

A submissão para todos os exames a serem realizados será mediante este TCLE.

Para alguns pacientes será importante fazer fotos com o propósito de auxiliar na formação dos profissionais de saúde e gestores de saúde pública, para que melhor compreendam e ajudem na identificação de outras pessoas. Portanto será pedindo permissão para fazer e utilizar as fotos, podendo você aceitar ou não.

Os dados e registros feitos durante a entrevista serão discutidos com a equipe envolvida diretamente com esta pesquisa, mas não serão divulgados. Porém o relatório final, contendo citações anônimas (um código de identificação substituirá seu nome a fim de resguardar a confidencialidade de sua identidade), resultados encontrados, fotos (quando autorizada e devidamente tratadas a fim de evitar excesso de exposição) e outros dados que sejam relevantes, será utilizado para apresentações em encontros científicos, publicações em revistas especializadas, nacionais ou internacionais e para servir de consulta para outros estudos.

O que será feito com todos os dados individuais e familiares e fotos quando a pesquisa

terminar?

Seguindo as recomendações das Leis, diretrizes e normas que regulamentam a pesquisa em seres humanos, como a vigente, **Resolução 466/12, inciso XI.2-f**, todos os dados capazes de identificar os pacientes, serão mantidos em sigilo absoluto, durante a pesquisa, e após o término desta. Sendo assim, os protocolos contendo dados clínicos, dados familiares, resultados das análises genéticas, fotos e demais dados coletados nesta pesquisa, serão armazenados em arquivos digitalizados, sob a guarda e total responsabilidade do pesquisador responsável, por um período mínimo 5 anos e máximo de 10 anos.

Todos os dados serão utilizados exclusivamente para os objetivos previstos neste estudo. Caso surja novas exigências, dentro desta mesma pesquisa o Comitê de Ética em Pesquisa do Instituto de Ciências da Saúde da Universidade Federal da Bahia (CEP/ICS) e o Comitê de Ética em Pesquisa do Complexo-HUPES, responsáveis por avaliar este projeto, será informado e, se julgarem necessário, retornaremos o contato com todos os participantes do estudo para obter novas autorizações.

Quais são os benefícios deste estudo? Se essa criança está sendo convidada para participar desta pesquisa é porque em sua família existe uma condição genética que pode provocar alterações cardíacas que podem ser herdadas. Quando o resultado for positivo, os benefícios podem ser diretos e/ou indiretos para a pessoa, a família e a comunidade. Sem dúvida, saber o tipo de alteração genética que provoca a doença cardíaca ou se a criança e/ou sua família tem predisposição genética para desenvolver cardiopatia, tem impacto na escolha do seu tratamento, a fim de melhorar a sua saúde e conseqüentemente, a sua condição de vida. Os médicos terão melhor entendimento das causas que estão gerando a doença e isso pode interferir na escolha dos fármacos que a criança deve usar, nos seus hábitos de vida, inclusive alimentação. O aconselhamento genético pode informar a possibilidade de segregar este gene alterado para outros membros da sua família. Isso pode inferir diretamente no diagnóstico precoce de casos ainda não diagnosticados.

Quais são os malefícios ou prejuízo para as pessoas que aceitarem participar deste estudo? As práticas realizadas nesta pesquisa não colocam em risco a vida do paciente e nem provoca danos físicos. Entretanto, quando se conhece a “*identidade biológica*” das pessoas alguns *danos morais* podem acontecer, por este motivo todos os dados que possam identificar as pessoas que farão parte desta pesquisa, serão protegidos seguindo as normas da Lei que regulamenta normas e diretrizes para realização de pesquisas em seres humanos como a **resolução 466/12** do Conselho Nacional de Saúde. Esta resolução é fundamentada nos

principais documentos internacionais que estabelecem diretrizes sobre pesquisa que envolve seres humanos. Nela estão contidos os quatro princípios básicos da bioética: **autonomia, não maleficência, beneficência e justiça**, visando assegurar os direitos e deveres que dizem respeito à comunidade científica, aos sujeitos da pesquisa e à coletividade.

Para que este projeto esteja sendo realizado ele foi submetido ao Comitê de Ética em Pesquisa do Instituto de Ciências da Saúde da Universidade Federal da Bahia (CEP/ICS) Avenida Reitor Miguel Calmon, s/n, Vale do Canela, CEP: 40.110-100 Salvador – Bahia e ao Comitê de Ética em Pesquisa do Complexo Hospitalar Universitário Professor Edgard Santos (CEP-HUPES), localizado no hospital das Clínicas, Rua Augusto Viana, s/n- Canela-Salvador Bahia. CEP: 40110-060 e julgado apto para ser executado. Caso você queira conferir a veracidade destes dados poderá pedir informação no seguinte contato: e-mail: cepics@ufba.br ou cep.hupes@gmail.com; Tel: (71) 3283-8951 (ICS) ou (71) 32838043 (HUPES).

Para garantir o cumprimento da lei a sua participação nesta pesquisa será completamente voluntária, não sendo oferecida nenhuma remuneração ou vantagens. O Senhor (a) terá autonomia para decidir se deve ou não aceitar ou se a criança deve continuar fazendo parte desta pesquisa. Ressalto que o(a) senhor (a) não arcará com nenhum custo para realização dos exames supracitados e nem para os possíveis deslocamentos para a realização das avaliações. Apesar disso, você tem assegurado o direito a ressarcimento ou indenização no caso de qualquer problema eventualmente produzido pela pesquisa, além de assistência imediata, bem como nos responsabilizamos pela assistência integral aos participantes no que se refere às complicações e danos decorrentes da pesquisa. Ao perceber qualquer risco ou dano significativos ao participante da pesquisa, previstos, ou não, no Termo de Consentimento Livre e Esclarecido, comunicaremos imediatamente, ao Sistema CEP/CONEP, e iremos avaliar em caráter emergencial, a necessidade de adequar ou suspender o estudo.

Nenhuma identificação dos dados do menor nem da sua família será possível por parte de terceiros. Os resultados das pesquisas permanecerão em âmbito rigorosamente científico e, quando publicados em revistas científicas ou apresentados em congressos científicos, serão de modo que o sigilo da identidade do paciente e da sua família seja absolutamente garantido.

A propriedade dos dados e dos resultados pertence aos pesquisadores responsáveis e será conservado em local seguro pelo tempo de 5 anos, podendo o senhor (a) ter acesso a estes quando desejar. O acesso aos resultados desta pesquisa, por terceiros, mesmo que parente direto só será possível mediante autorização do interessado, expressa por escrito e legalmente

reconhecida. As coletas dos dados e materiais necessários para realização deste estudo serão feitos nos meses de julho e agosto de 2019. Abaixo informações específicas sobre locais, dias e horas onde será realizada a pesquisa, assim como contato do pesquisador principal.

Pesquisador principal: **Aline do Nascimento Andrade**

Endereço Comercial: Instituto de Ciências da Saúde. Av. Reitor Miguel Calmon, s/n, Vale do Canela – Salvador/BA – CEP 40.110-100. 4º andar, salas 406- Tel.: (71) 99291-2200 (Tim)–

E-mail: alineand.fisioterapia@gmail.com

Locais de realização da pesquisa:

Coleta dos dados clínicos e familiar: Ambulatório Magalhães Neto, Rua Padre Feijó s/n – Canela: Datas e horários a combinar de acordo com a disponibilidade dos pacientes e da equipe. Caso necessário, e com o prévio consentimento do (da) Senhor (a), faremos visitas domiciliares a fim de investigar a história familiar e/ou realizar busca ativa de outros membros familiares que, por ventura, estejam impossibilitados de comparecer aos locais de coletas de dados.

Depois de ler e/ou ouvir a leitura deste termo de esclarecimento, convidamos o menor a participar desta pesquisa e o (a) senhor (a) poderá manifestar a sua disposição como responsável legal pelo paciente, assinando a declaração de consentimento a seguir.

DECLARAÇÃO CONSENTIMENTO

Declaro que li, ouvi e/ou acompanhei a leitura do módulo informativo que esclarece sobre a pesquisa intitulada: ***“Seria a via de sinalização NOTCH responsável por alterações congênitas em uma família consanguínea?”***, tendo como responsáveis a mestrande Aline do Nascimento Andrade e a Prof^ª Dr^ª Maria Betânia Pereira Torales e como corresponsável a Prof^ª Dr^ª Rita Maria Alves. Ressalto que entendi que este projeto faz parte de uma pesquisa de Mestrado e que tem início e fim, sendo que sou autônomo (a) para decidir, a qualquer momento, que o menor pelo qual sou responsável não mais fará parte da pesquisa, comprometendo-me avisar aos responsáveis da mesma sobre a minha decisão, a fim de não prejudicar o andamento do projeto. Diante do exposto eu decido que:

1. Quanto à utilização dos meus registros médicos pelo pesquisador, autoridades

regulatórias e pelo Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) da instituição.

Permito

Não permito

2. Que o paciente pelo qual sou responsável possa ser fotografado (a) para eventuais publicações em revistas científicas ou congressos, desde que estes resultados possam trazer respostas para o conhecimento científico e benefícios para as pessoas com problemas similares, ficando a critério dos pesquisadores responsáveis julgar a necessidade desta ação. Sou consciente que esta autorização implicara, mesmo que em parte, na identificação do paciente.

Permito

Não permito

3. Que os dados desta pesquisa possam ser utilizados futuramente para publicações em revistas científicas, anais e congressos, entendo sobre os benefícios que estes resultados podem trazer para a comunidade científica.

Permito

Não permito

Nome do Paciente: _____

Assinatura dos Responsáveis: _____

e _____

Assinatura do Pesquisador: _____

No caso de tutor, registro da documentação que comprove a legalidade: _____

Nome Completo e assinatura do profissional responsável pela aplicação deste termo:

Local e data: _____, _____ de _____ de _____

APÊNDICE C - TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO
(Para crianças alfabetizadas)

Você está sendo convidado(a) como voluntário(a) a participar da pesquisa “**SERIA A VIA DE SINALIZAÇÃO NOTCH RESPONSÁVEL POR ALTERAÇÕES CONGÊNITAS EM UMA FAMÍLIA CONSANGUÍNEA?**”

Neste estudo pretendemos compreender o papel de um gene que se chama NOTCH1 nas características gerais da família a qual você pertence.

O motivo que nos leva a estudar esse assunto é mostrar como as pessoas que trabalham na área da saúde possam dar conselhos de como planejar a família (o que chamamos de aconselhamento genético) pode ajudar a antecipar os cuidados para prevenir complicações dentro de uma família como a sua, com características de saúde tão semelhantes, identificar risco de apresentar problemas cardíacos, e ajudar outros profissionais a ter novos conhecimentos que podem melhorar a decisão do tratamento e, conseqüentemente, ajudar outros pacientes que têm os mesmos problemas de saúde.

Para este estudo, iremos fazer da seguinte maneira: faremos uma avaliação inicial com você, em forma de entrevista e, dependendo dos resultados dela, encaminharemos você para avaliação com médico cardiologista, fisioterapeuta ou outro profissional de saúde que for necessário durante a pesquisa. Você pode passar por exames de imagem (por exemplo: Raio-X, Ecocardiograma, Ressonância), os quais explicaremos a você como será cada um deles quando isso ocorrer.

Para participar deste estudo, o responsável por você (qualquer pessoa maior de idade que seja seu responsável pela lei) deverá autorizar e assinar um documento como esse, que chamamos de “termo de consentimento”. Você não terá nenhum custo, nem receberá qualquer valor financeiro pra participar. Você será esclarecido(a) em qualquer aspecto que desejar e estará livre para participar desse estudo ou recusar-se. O responsável por você poderá retirar o consentimento ou interromper a sua participação a qualquer momento. A sua participação é voluntária, ou seja, só acontecerá se você desejar, e se não mais quiser participar você não sofrerá qualquer penalidade ou modificação na forma em que é atendido(a) pelo pesquisador que irá manter sua identidade em segredo. Você não será identificado em nenhuma publicação. Esclarecemos que este estudo não apresenta risco para a sua saúde. Apesar disso, você tem assegurado o direito a ressarcimento ou indenização no caso de qualquer problema eventualmente produzido pela pesquisa.

Os resultados desta pesquisa estarão à sua disposição quando finalizada. Seu nome ou o material que indique sua participação não será liberado sem a permissão do responsável por você. Os dados e instrumentos utilizados na pesquisa ficarão arquivados com o pesquisador responsável por um período de 5 anos, e após esse tempo serão destruídos. Este documento que você está assinando (termo de assentimento) encontra-se impresso em duas vias, sendo que uma via será arquivada pelo pesquisador responsável, e a outra ficará com você.

Eu, _____, portador(a) do documento de identidade _____ fui informado(a) dos objetivos desta pesquisa de maneira clara e detalhada e esclareci minhas dúvidas. Sei que a qualquer momento poderei solicitar novas informações, e o meu responsável poderá modificar a decisão de participar se assim o desejar. Tendo o consentimento do meu responsável já assinado, declaro que concordo em participar desse estudo. Recebi uma cópia deste termo assentimento e me foi dada a oportunidade de ler e esclarecer as minhas dúvidas.

Assinatura do(a) menor

Assinatura do(a) pesquisador(a)

Em caso de dúvidas com respeito aos aspectos éticos deste estudo, você poderá consultar:

CEP- COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA – Instituto de Ciências da Saúde - Universidade Federal da Bahia -Avenida Reitor Miguel Calmon s/n, Vale do Canela. CEP: 40.110-100 Salvador – Bahia. Telefone: (71) 3283-8951. E-mail: cepics@ufba.br

Pesquisador(a) Responsável: Aline do Nascimento Andrade. Endereço: Conjunto Recanto do cabula, bloco 21-b apt. 101. Salvador - BA - CEP: 41150-115. Fone: (71) 99192-2200 / E-mail: alineand.fisioterapia@gmail.com

APÊNDICE D - FICHA DESCRITIVA INDIVIDUAL

Data ____/____/____

Identificação:

Nome: _____ E-mail: _____

Endereço: _____

Tel.: () _____ Idade: _____

Data do Nascimento ____/____/____ Grau de parentesco: _____

Sexo: M () F ()

1. Diagnóstico Clínico Cardiológico:_____
_____**2. Laudo do Eletrocardiograma:**_____

_____**3. Laudo Ecocardiográfico:**_____

_____**4. Laudo da Ressonância Magnética:**_____

_____**5. Outras alterações não cardíacas encontradas:**_____

_____**6. Alterações Genéticas (CNV's encontradas, genes duplicados, mutados ou deletados):**_____

APÊNDICE E – Tabela 7

Tabela 7 - Versão ampliada das alterações osteomioarticulares da população em estudo.

	<i>f</i>	<i>f_i</i> (%)
Sistema Axial		
Cabeça		
Alinhada	12	48
Rotação à Direita	3	12
Rotação à Esquerda	10	40
Coluna Cervical		
Alinhada	23	92
Retificada	1	4
Hiperlordose	1	4
Coluna Torácica		
Alinhada	16	63
Retificada	5	20
Hipercifose	4	16
Coluna Lombar		
Alinhada	13	52
Retificada	1	4
Hiperlordose	11	44
Sistema Apendicular Superior		
Ombro Direito		
Alinhado	14	56
Elevado	7	28
Deprimido	4	16
Ombro Esquerdo		
Alinhado	18	72
Elevado	1	4
Deprimido	6	24
Clavícula Direita		
Alinhada	18	72
Elevada	1	4
Saliente	6	24
Clavícula Esquerda		
Alinhada	24	96
Elevada	1	4
Cotovelo Direito		
Alinhado	19	76
Valgo	3	12
Varo	3	12
Cotovelo Esquerdo		
Alinhado	20	80
Valgo	3	12
Varo	2	8
Hiperextensão de cotovelo	1	4

Sim	24	96
Não		
Quirodáctilo	4	16
Sim	21	84
Não		
Sistema Apendicular Inferior		
Joelho Direito		
Alinhado	15	60
Valgo	5	20
Varo	2	8
Rotação Medial	2	8
Rotação Lateral	1	4
Joelho Esquerdo		
Alinhado	12	48
Valgo	5	20
Varo	4	16
Rotação Lateral	4	16
Hiperextensão de joelho		
Sim	3	12
Não	22	88
Patela Direita		
Alinhada	19	76
Lateralizada	3	12
Medializada	3	12
Patela Esquerda		
Alinhada	19	76
Lateralizada	4	16
Medializada	2	8
Tornozelo Direito		
Alinhado	15	60
Valgo	9	36
Varo	1	4
Tornozelo Esquerdo		
Alinhado	17	68
Valgo	7	28
Varo	1	4
Pé Direito		
Alinhado	5	20
Valgo	3	12
Varo	3	12
Plano	3	12
Cavo	9	36
Rotação externa	2	8
Pé Esquerdo		
Alinhado	5	20
Valgo	3	12
Varo	2	8
Plano	3	12
Cavo	9	36

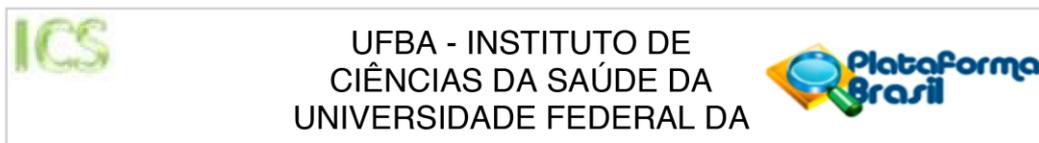
Rotação externa	3	12
Pododáctilo		
Sim	2	8
Não	23	92
Sistema Tegumentar		
Cutânea		
Sim	5	20
Não	20	80
Ungueal		
Sim	9	36
Não	16	64

Fonte: Dados da pesquisa.

Legenda: f - frequência absoluta; f_i - frequência relativa

ANEXOS

ANEXO A – APROVAÇÃO DO COMITÊ DE ÉTICA, DO INSTITUTO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE, DA UNIVERSIDADE FEDERAL DA BAHIA (ICS/UFBA)



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: Sinalização NOTCH em alterações congênitas.

Pesquisador: ALINE DO NASCIMENTO ANDRADE

Área Temática: Genética Humana:

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

Versão: 3

CAAE: 10204718.9.0000.5662

Instituição Proponente: Instituto de Ciências da Saúde da Universidade Federal da Bahia

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 3.394.657

Apresentação do Projeto:

“A consanguinidade pode ser considerada um fator relevante para a propagação de doenças herdadas, por conta do aumento da homozigose e aparecimento de mais genes recessivos. Os primeiros estudos em pacientes com trissomias do cromossoma 9 surgiram na década de 70, e suas correlações fenótipo-genótipo vêm sendo estudadas desde então. Os avanços tecnológicos vêm permitindo a exploração do inteiro genoma, contribuindo para responder questões básicas para entendimento da complexidade dos sistemas humanos. Um exemplo disso está relacionado ao gene NOTCH e suas vias de sinalização. Estudos demonstram forte ligação do NOTCH com alterações cardiovasculares, além de sugerir a sua participação na osteogênese, o que justificaria o seu importante papel na interação entre órgãos e sistemas. Será avaliada uma família que segrega por 5 gerações uma CNV em 9q34.3, onde está localizado o gene NOTCH1 e que apresenta fenótipos cardiovasculares.”

Objetivo da Pesquisa:

Objetivo Primário:

“Descrever o papel do gene NOTCH1 nas manifestações fenotípicas de uma família consanguínea.”

Endereço: Miguel Calmon

Bairro: Vale do Canela

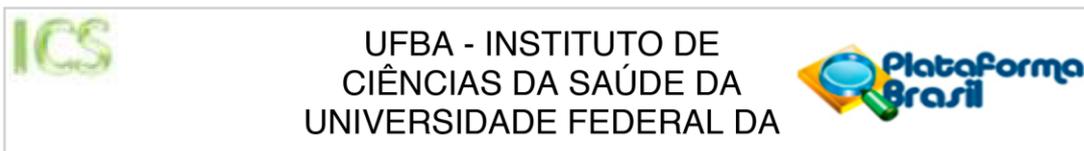
CEP: 40.110-902

UF: BA

Município: SALVADOR

Telefone: (71)3283-8951

E-mail: cepics@ufba.br



Continuação do Parecer: 3.394.657

PENDÊNCIA 3: No documento Termo de Assentimento, na página 1, consta “Pode ser necessário colher exames de sangue, isso também será explicado a você no momento que precisar.” Solicita-se retirar pelo mesmo motivo mencionado acima.

Resposta: Alteração realizada.

Resposta CEP/ICS: ACEITA

Considerações Finais a critério do CEP:

Diante do exposto, o Comitê de Ética em Pesquisa do Instituto de Ciências da Saúde (CEP-ICS/UFBA), de acordo com as atribuições definidas na Resolução CNS nº. 466 de 2012 e na Norma Operacional CNS nº. 001 de 2013, manifesta-se pela aprovação do projeto de pesquisa proposto. Eventuais modificações no protocolo ou extensão do cronograma devem ser apresentadas ao CEP-ICS/UFBA de forma clara e sucinta, identificando a parte do protocolo a ser modificada e suas justificativas por meio de emenda. Relatórios parciais e final devem ser apresentados ao CEP, a cada 6 meses e ao término do estudo. O participante tem a liberdade de recusar-se a entrar no estudo ou retirar seu consentimento em qualquer fase da pesquisa, sem penalização alguma ou prejuízo ao seu cuidado (Res. CNS 466/12) e deve receber uma via do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido, na íntegra, por ele assinado (Item IV.2.d). O pesquisador deve desenvolver a pesquisa conforme delineada no protocolo aprovado e descontinuar o estudo somente após análise das razões pelo CEP que o aprovou (Res. CNS Item III.3.z), aguardando seu parecer, exceto quando perceber risco ou dano não previsto ao sujeito participante ou quando constatar a superioridade de regime oferecido a um dos grupos da pesquisa (Item V.3). O CEP deve ser informado de todos os efeitos adversos ou fatos relevantes que alterem o curso normal do estudo (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.

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações	PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_P	10/06/2019		Aceito

Endereço: Miguel Calmon

Bairro: Vale do Canela

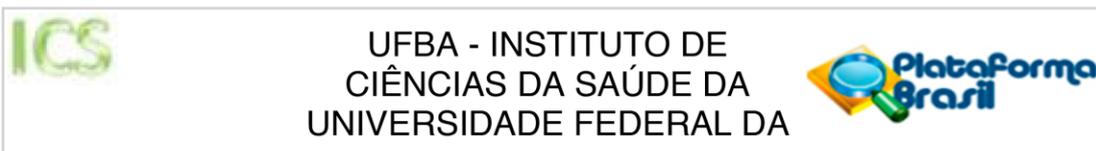
CEP: 40.110-902

UF: BA

Município: SALVADOR

Telefone: (71)3283-8951

E-mail: cepics@ufba.br



Continuação do Parecer: 3.394.657

Objetivos Secundários:

- “Avaliar o fenótipo cardíaco através de exames de imagem e complementares dos indivíduos que apresentam alteração estrutural em 9q34.3 envolvendo o gene NOTCH1;
- Investigar índice de recorrência de Cardiopatia Congênita através de avaliação familiar.
- DESCRVER DEMAIS ACHADOS FENOTÍPICOS ENCONTRADOS RELACIONADOS AO GENE NOTCH1”.

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

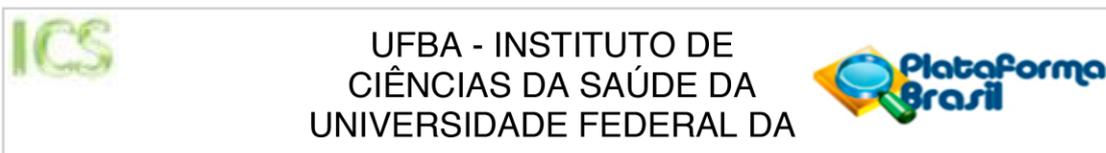
Riscos:

“AS PRÁTICAS REALIZADAS NESTA PESQUISA NÃO COLOCAM EM RISCO A VIDA DO PACIENTE E NEM PROVOCA DANOS FÍSICOS. ENTRETANTO, QUANDO SE CONHECE A “IDENTIDADE BIOLÓGICA” DAS PESSOAS ALGUNS DANOS MORAIS PODEM ACONTECER, POR ESTE MOTIVO TODOS OS DADOS QUE POSSAM IDENTIFICAR AS PESSOAS QUE FARÃO PARTE DESTA PESQUISA, SERÃO PROTEGIDOS SEGUINDO AS NORMAS DA LEI QUE REGULAMENTA NORMAS E DIRETRIZES PARA REALIZAÇÃO DE PESQUISAS EM SERES HUMANOS COMO A RESOLUÇÃO 466/12 DO CONSELHO NACIONAL DE SAÚDE. ESTA RESOLUÇÃO É FUNDAMENTADA NOS PRINCIPAIS DOCUMENTOS INTERNACIONAIS QUE ESTABELECEM DIRETRIZES SOBRE PESQUISA QUE ENVOLVE SERES HUMANOS. NELA ESTÃO CONTIDOS OS QUATROS PRINCÍPIOS BÁSICOS DA BIOÉTICA: AUTONOMIA, NÃO MALEFICÊNCIA, BENEFICÊNCIA E JUSTIÇA, VISANDO ASSEGURAR OS DIREITOS E DEVERES QUE DIZEM RESPEITO À COMUNIDADE CIENTÍFICA, AOS SUJEITOS DA PESQUISA E À COLETIVIDADE. SERÃO GARANTIDOS AOS PARTICIPANTES CONFIDENCIALIDADE, SIGILO, PRIVACIDADE E A LIBERDADE DE DESISTÊNCIA DA PESQUISA A QUALQUER MOMENTO. TAMBÉM SERÃO DISPONIBILIZADOS OS CONTATOS NECESSÁRIOS DO PESQUISADOR RESPONSÁVEL CASO OCORRA ALGUMA INTERCORRÊNCIA DURANTE A PESQUISA.”

Benefícios:

“Contribuição para o diagnóstico de doenças que são muito comuns na comunidade estudada, além de oferecer informações tanto para os membros desta população quanto para a comunidade

Endereço: Miguel Calmon	CEP: 40.110-902
Bairro: Vale do Canela	
UF: BA Município: SALVADOR	
Telefone: (71)3283-8951	E-mail: cepics@ufba.br



Continuação do Parecer: 3.394.657

de saúde sobre como melhorar as investigações de tais doenças que até então permaneciam sem diagnóstico. Além disso, será possível geração de novos dados úteis para comunidade profissional e científica.”

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

Não há.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Adequados.

Recomendações:

Não há.

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Após análise dos documentos constantes na Plataforma Brasil referentes ao projeto e disponibilizados a este Comitê, solicita-se atenção da autora para os aspectos listados a seguir:

PENDÊNCIA 1: Nos documentos TCLE_MODIFICADO, TCLE_MENOR_MODIFICADO e Termo de Assentimento, retirar a orientação do local de realização de avaliação laboratorial em exame de sangue uma vez que está apresentado na Carta Resposta à pendência 3 letra f que pela exiguidade de tempo, não mais seria realizado tal procedimento.

Resposta: Removidos informações sobre coletas de exame laboratorial dos termos supracitados.

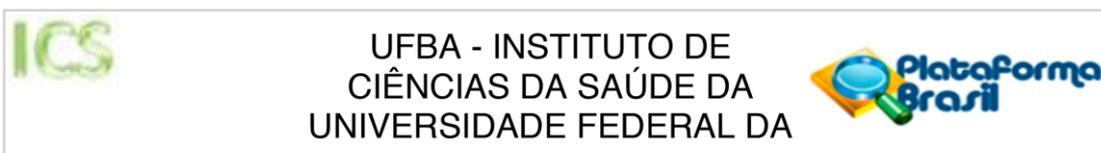
Resposta CEP/ICS: ACEITA

PENDÊNCIA 2: No documento PROJETO_MODIFICADO, retirar, pelo motivo já apresentado no item acima, a relação de envio de material genético à Itália, constante no documento em sua página 10.

Resposta: Retirada a informação solicitada do projeto.

Resposta CEP/ICS: ACEITA

Endereço: Miguel Calmon
Bairro: Vale do Canela **CEP:** 40.110-902
UF: BA **Município:** SALVADOR
Telefone: (71)3283-8951 **E-mail:** cepics@ufba.br



Continuação do Parecer: 3.394.657

Básicas do Projeto	ETO_1140754.pdf	21:26:12		Aceito
Outros	Carta_Resposta_novo.pdf	10/06/2019 21:24:40	ALINE DO NASCIMENTO ANDRADE	Aceito
Brochura Pesquisa	Projeto_novo.docx	10/06/2019 21:21:52	ALINE DO NASCIMENTO ANDRADE	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	Termo_de_Assentimento_novo.pdf	10/06/2019 21:17:25	ALINE DO NASCIMENTO ANDRADE	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLE_MENOR_novo.pdf	10/06/2019 21:17:01	ALINE DO NASCIMENTO ANDRADE	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLE_novo.pdf	10/06/2019 21:16:24	ALINE DO NASCIMENTO ANDRADE	Aceito
Recurso Anexado pelo Pesquisador	Carta_Resposta.pdf	07/05/2019 16:58:13	ALINE DO NASCIMENTO ANDRADE	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	Projeto_MODIFICADO.pdf	07/05/2019 16:31:50	ALINE DO NASCIMENTO ANDRADE	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	Termo_de_Assentimento_MODIFICADO.pdf	07/05/2019 16:31:25	ALINE DO NASCIMENTO ANDRADE	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLE_MODIFICADO.pdf	07/05/2019 16:29:10	ALINE DO NASCIMENTO ANDRADE	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLE_MENOR_MODIFICADO.pdf	07/05/2019 16:28:41	ALINE DO NASCIMENTO ANDRADE	Aceito
Cronograma	CRONOGRAMA_MODIFICADO.pdf	07/05/2019 16:28:05	ALINE DO NASCIMENTO ANDRADE	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLE.pdf	18/03/2019 11:45:21	ALINE DO NASCIMENTO ANDRADE	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de	Termo_de_Assentimento.pdf	30/01/2019 18:14:58	ALINE DO NASCIMENTO ANDRADE	Aceito

Endereço: Miguel Calmon

Bairro: Vale do Canela

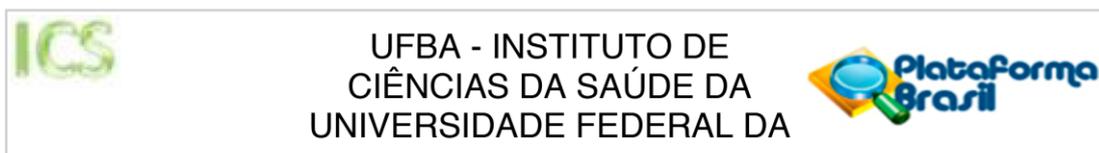
CEP: 40.110-902

UF: BA

Município: SALVADOR

Telefone: (71)3283-8951

E-mail: cepics@ufba.br



Continuação do Parecer: 3.394.657

Ausência	Termo_de_Assentimento.pdf	30/01/2019 18:14:58	ALINE DO NASCIMENTO ANDRADE	Aceito
Cronograma	CRONOGRAMA.pdf	30/01/2019 18:10:29	ALINE DO NASCIMENTO ANDRADE	Aceito
Folha de Rosto	folha_de_rosto.pdf	16/09/2018 21:22:30	ALINE DO NASCIMENTO ANDRADE	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	Projeto.pdf	22/08/2018 14:27:36	ALINE DO NASCIMENTO ANDRADE	Aceito
Outros	carta_de_encaminhamento.pdf	30/07/2018 14:19:01	ALINE DO NASCIMENTO ANDRADE	Aceito
Outros	Termo_de_compromisso.pdf	30/07/2018 14:18:00	ALINE DO NASCIMENTO ANDRADE	Aceito
Outros	Declaracao_de_confidencialidade.pdf	30/07/2018 14:17:30	ALINE DO NASCIMENTO ANDRADE	Aceito
Orçamento	orcamento.pdf	20/06/2018 14:57:53	ALINE DO NASCIMENTO ANDRADE	Aceito
Declaração de Instituição e Infraestrutura	carta_de_anuencia.pdf	20/06/2018 14:30:44	ALINE DO NASCIMENTO ANDRADE	Aceito
Declaração de Pesquisadores	equipe_detalhda.pdf	20/06/2018 14:28:39	ALINE DO NASCIMENTO ANDRADE	Aceito

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

SALVADOR, 16 de Junho de 2019

Assinado por:
Maria Lúcia Vaz Masson
 (Coordenador(a))

Endereço: Miguel Calmon

Bairro: Vale do Canela

CEP: 40.110-902

UF: BA

Município: SALVADOR

Telefone: (71)3283-8951

E-mail: cepics@ufba.br

ANEXO B – APROVAÇÃO DO COMITÊ DE ÉTICA DO HOSPITAL UNIVERSITÁRIO PROFESSOR EDGARD SANTOS (HUPES)

<p>UFBA - HOSPITAL UNIVERSITÁRIO PROF. EDGARD SANTOS DA UNIVERSIDADE FEDERAL DA BAHIA ; HUPES/UFBA</p>	
--	---

PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

Elaborado pela Instituição Coparticipante

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: Sinalização NOTCH em alterações congênitas.

Pesquisador: ALINE DO NASCIMENTO ANDRADE

Área Temática: Genética Humana:

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

Versão: 1

CAAE: 10204718.9.3001.0049

Instituição Proponente: Hospital Universitário Prof. Edgard Santos-UFBA

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 3.592.079

Apresentação do Projeto:

PARECER DE INSTITUIÇÃO CO-PARTICIPANTE:

" A Cardiopatia Congênita do Lado Esquerdo (Left-sided congenital heart disease - LSCHD), representa um subgrupo de cardiopatia congênita altamente hereditária, que abrange: Coarctação da Aorta (CoAo), Valva Aórtica Bicúspide (VAB), Estenose Valvar Aórtica (EVA) e Síndrome do Coração Esquerdo Hipoplásico (SCEH). Algumas síndromes genéticas apresentam no seu quadro clínico a LS-CHD porém esta, não raramente, ocorre em condição não síndrômica³. Algumas variantes genômicas estruturais (CNV's) têm sido associadas à patogênese das CC, inclusive nas LS-CHD. Isso porque estas CNV's englobam genes previamente conhecidos por participar do desenvolvimento do coração.

Um exemplo disso é a CNV estrutural do segmento cromossômico 9q34.3 que carrega, entre outros genes importantes, fatores de transcrição que participam da via de sinalização NOTCH1: uma via evolutivamente conservada que regula interações entre células fisicamente adjacentes, essencial no controle do padrão espacial, morfogênese e homeostase em tecidos embrionários e adultos. A penetrância de um defeito cardíaco em portadores de mutação em NOTCH1 é alta (75%), sendo a sua expressividade, tanto no fenótipo cardíaco quanto na gravidade, bastante variável entre e

Endereço: Rua Augusto Viana, s/nº - 1º Andar	CEP: 40.110-060
Bairro: Canela	
UF: BA	Município: SALVADOR
Telefone: (71)3283-8043	Fax: (71)3283-8140
	E-mail: cep.hupes@gmail.com

UFBA - HOSPITAL
UNIVERSITÁRIO PROF.
EDGARD SANTOS DA
UNIVERSIDADE FEDERAL DA
BAHIA ç HUPES/UFBA



Continuação do Parecer: 3.592.079

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Em relação ao documentos na perspectiva da norma

- 1- Parecer consubstanciado do CEP proponente: em conformidade
- 2- Termo de compromisso e responsabilidade do pesquisador sem vínculo institucional: em conformidade
- 3- Carta de Anuência da instituição: em conformidade
- 4- Termo de autorização e confidencialidade para uso de dados secundários: em conformidade
- 5- TCLE versão novo: versão corrigida e modificada após avaliação do CEP proponente - em conformidade
- 6- Termo de assentimento (TCLE menor novo): versão corrigida e modificada após avaliação do CEP proponente - em conformidade
- 6- Equipe detalhada e currículo dos pesquisadores: em conformidade

Recomendações:

Vide conclusões, pendências e lista de inadequações:

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Após leitura do projeto de pesquisa e análise dos documentos apresentados, com base nos critérios estabelecidos pelo Conselho Nacional de Saúde por meio da Resolução nº 466/2012 foram encontrados as seguintes pendências e inadequações:

- 1- O cronograma modificado prevê coleta de dados entre 01/07 a 01/08/2019, antes da liberação do CEP HUPES- INADEQUAÇÃO QUE NECESSITA CORREÇÃO

Considerações Finais a critério do CEP:

O pesquisador tem 30 dias para responder aos quesitos formulados pelo CEP em seu parecer, segundo a Norma Operacional nº 001/2013 do Conselho Nacional de Saúde item 2.2- letra E) Se o parecer for de pendência, o pesquisador terá o prazo de trinta (30) dias, contados a partir de sua emissão na Plataforma Brasil, para atendê-la. Decorrido este prazo, o CEP terá trinta (30) dias para emitir o parecer final, aprovando ou reprovando o protocolo.

Após esse prazo o projeto será considerado retirado e posteriormente havendo interesse, deverá ser apresentado novo protocolo e reiniciado o processo de registro (Res. CNS 466/12).

Endereço: Rua Augusto Viana, s/nº - 1º Andar

Bairro: Canela

CEP: 40.110-060

UF: BA

Município: SALVADOR

Telefone: (71)3283-8043

Fax: (71)3283-8140

E-mail: cep.hupes@gmail.com

UFBA - HOSPITAL
UNIVERSITÁRIO PROF.
EDGARD SANTOS DA
UNIVERSIDADE FEDERAL DA
BAHIA & HUPES/UFBA



Continuação do Parecer: 3.592.079

dentro das famílias portadoras.

Metodologia:

Trata-se de um estudo descritivo, de corte transversal, em amostra não probabilística

N=22

Serão avaliados indivíduos pertencentes a uma família consanguínea do povoado Ladeira, pertencente à cidade de Barrocas, do sertão da Bahia, com aproximadamente 3.000 habitantes, onde foram previamente identificadas 11 indivíduos com alterações em 9q34.3, envolvendo o gene NOTCH1, além de ser investigado outros familiares com suspeita de fenótipo de Cardiopatia Congênita e/ou outras doenças cardiovasculares. Para a o diagnóstico do fenótipo cardíaco os indivíduos encaminhados pelo pesquisador responsável para avaliação com cardiologista com colaboração do Complexo HUPES e, após isso, serão analisados exames de imagem e exames complementares incluindo Raio-X, Ecocardiograma, Eletrocardiograma e Holter (exceto menores de idade). A realização destes exames dependerá de indicação e prescrição prévia do Cardiologista colaborador da pesquisa que analisará a necessidade desses procedimentos, tendo em vista idade e indicação para os referidos exames. Além disso, será coletada a história de recorrência familiar de doenças cardiovasculares através de entrevistas realizadas com esta população e seus familiares.

Será preenchido protocolo que contém os dados de identificação do paciente e avaliação clínica (ANEXO I deste projeto), com vistas de verificar outras alterações associadas, descrição dos achados e sua frequência relativa dentro da amostra.

Objetivo da Pesquisa:

Objetivo Primário:

Descrever o papel do gene NOTCH1 nas manifestações fenotípicas de uma família consanguínea.

Objetivo Secundário:

Avaliar o fenótipo cardíaco através de exames de imagem e complementares dos indivíduos que apresentam alteração estrutural em 9q34.3 envolvendo o gene NOTCH1; Investigar índice de recorrência de Cardiopatia Congênita através de avaliação familiar;
Descrever demais achados fenotípicos encontrados relacionados ao Gene NOTCH1.

Endereço: Rua Augusto Viana, s/nº - 1º Andar

Bairro: Canela

CEP: 40.110-060

UF: BA

Município: SALVADOR

Telefone: (71)3283-8043

Fax: (71)3283-8140

E-mail: cep.hupes@gmail.com

UFBA - HOSPITAL
UNIVERSITÁRIO PROF.
EDGARD SANTOS DA
UNIVERSIDADE FEDERAL DA
BAHIA & HUPES/UFBA



Continuação do Parecer: 3.592.079

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Avaliação de riscos e benefícios para o pesquisador

"Riscos:

AS PRÁTICAS REALIZADAS NESTA PESQUISA NÃO COLOCAM EM RISCO A VIDA DO PACIENTE E NEM PROVOCA DANOS FÍSICOS. ENTRETANTO, QUANDO SE CONHECE A "IDENTIDADE BIOLÓGICA" DAS PESSOAS ALGUNS DANOS MORAIS PODEM ACONTECER, POR ESTE MOTIVO TODOS OS DADOS QUE POSSAM IDENTIFICAR AS PESSOAS QUE FARÃO PARTE DESTA PESQUISA, SERÃO PROTEGIDOS

SEGUINDO AS NORMAS DA LEI QUE REGULAMENTA NORMAS E DIRETRIZES PARA REALIZAÇÃO DE PESQUISAS EM SERES HUMANOS COMO A RESOLUÇÃO 466/12 DO CONSELHO NACIONAL DE SAÚDE. ESTA RESOLUÇÃO É FUNDAMENTADA NOS PRINCIPAIS DOCUMENTOS INTERNACIONAIS QUE ESTABELECEM DIRETRIZES SOBRE PESQUISA QUE ENVOLVE SERES HUMANOS. NELA ESTÃO

CONTIDOS OS QUATROS PRINCÍPIOS BÁSICOS DA BIOÉTICA: AUTONOMIA, NÃO MALEFICÊNCIA, BENEFICÊNCIA E JUSTIÇA, VISANDO ASSEGURAR OS DIREITOS E DEVERES QUE DIZEM RESPEITO À COMUNIDADE CIENTÍFICA, AOS SUJEITOS DA PESQUISA E À COLETIVIDADE. SERÃO GARANTIDOS AOS PARTICIPANTES CONFIDENCIALIDADE, SIGILO, PRIVACIDADE E A LIBERDADE DE

DESISTÊNCIA DA PESQUISA A QUALQUER MOMENTO. TAMBÉM SERÃO DISPONIBILIZADOS OS CONTATOS NECESSÁRIOS DO PESQUISADOR RESPONSÁVEL CASO OCORRA ALGUMA INTERCORRÊNCIA DURANTE A PESQUISA.

Benefícios:

Contribuição para o diagnóstico de doenças que são muito comuns na comunidade estudada, além de oferecer informações tanto para os membros desta população quanto para a comunidade de saúde sobre

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

O projeto apresenta a metodologia adequadamente descrita

Na análise de riscos e benefícios, o projeto de pesquisa atende o item III.2d da Resolução CNS 466/2012

O orçamento da pesquisa está adequado a proposta do projeto

O cronograma já modificado do projeto prevê coleta dos dados entre 01/07 a 01/08/2019 - período onde o projeto iniciou tramitação no CEP HUPES e ainda sem liberação para coleta

Endereço: Rua Augusto Viana, s/nº - 1º Andar

Bairro: Canela

CEP: 40.110-060

UF: BA

Município: SALVADOR

Telefone: (71)3283-8043

Fax: (71)3283-8140

E-mail: cep.hupes@gmail.com

**UFBA - HOSPITAL
UNIVERSITÁRIO PROF.
EDGARD SANTOS DA
UNIVERSIDADE FEDERAL DA
BAHIA & HUPES/UFBA**



Continuação do Parecer: 3.592.079

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. O pesquisador deverá acessar com login e senha a Plataforma Brasil, clicar em Editar e modificar (voltar ou avançar) os campos na Plataforma Brasil que foram solicitados no parecer, além de anexar os novos documentos sugeridos em "Anexar outros documentos", anexar a nova versão do projeto em Word com as modificações, passar para o passo 6 e clicar em Enviar Projeto ao CEP, além de entregar, apenas as folhas modificadas no CEP/HUPES.

Após a correção da pendência, o projeto poderá ser aprovado ad referendum.

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Outros	Doc_unico_SGPIT_Aline.pdf	27/08/2019 11:07:47	Quezia Palma Leal	Aceito
Outros	Carta_Resposta_novo.pdf	10/06/2019 21:24:40	ALINE DO NASCIMENTO ANDRADE	Aceito
Brochura Pesquisa	Projeto_novo.docx	10/06/2019 21:21:52	ALINE DO NASCIMENTO ANDRADE	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	Termo_de_Assentimento_novo.pdf	10/06/2019 21:17:25	ALINE DO NASCIMENTO ANDRADE	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLE_MENOR_novo.pdf	10/06/2019 21:17:01	ALINE DO NASCIMENTO ANDRADE	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLE_novo.pdf	10/06/2019 21:16:24	ALINE DO NASCIMENTO ANDRADE	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	Projeto_MODIFICADO.pdf	07/05/2019 16:31:50	ALINE DO NASCIMENTO ANDRADE	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento /	Termo_de_Assentimento_MODIFICADO.pdf	07/05/2019 16:31:25	ALINE DO NASCIMENTO	Aceito

Endereço: Rua Augusto Viana, s/nº - 1º Andar

Bairro: Canela

CEP: 40.110-060

UF: BA

Município: SALVADOR

Telefone: (71)3283-8043

Fax: (71)3283-8140

E-mail: cep.hupes@gmail.com

UFBA - HOSPITAL
UNIVERSITÁRIO PROF.
EDGARD SANTOS DA
UNIVERSIDADE FEDERAL DA
BAHIA & HUPES/UFBA



Continuação do Parecer: 3.592.079

Justificativa de Ausência	Termo_de_Assentimento_MODIFICADO.pdf	07/05/2019 16:31:25	ANDRADE	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLE_MODIFICADO.pdf	07/05/2019 16:29:10	ALINE DO NASCIMENTO ANDRADE	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLE_MENOR_MODIFICADO.pdf	07/05/2019 16:28:41	ALINE DO NASCIMENTO ANDRADE	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLE.pdf	18/03/2019 11:45:21	ALINE DO NASCIMENTO ANDRADE	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	Termo_de_Assentimento.pdf	30/01/2019 18:14:58	ALINE DO NASCIMENTO ANDRADE	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	Projeto.pdf	22/08/2018 14:27:36	ALINE DO NASCIMENTO ANDRADE	Aceito
Outros	carta_de_encaminhamento.pdf	30/07/2018 14:19:01	ALINE DO NASCIMENTO ANDRADE	Aceito
Outros	Termo_de_compromisso.pdf	30/07/2018 14:18:00	ALINE DO NASCIMENTO ANDRADE	Aceito
Outros	Declaracao_de_confidencialidade.pdf	30/07/2018 14:17:30	ALINE DO NASCIMENTO ANDRADE	Aceito

Situação do Parecer:

Pendente

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

SALVADOR, 23 de Setembro de 2019

Assinado por:
Pablo de Moura Santos
(Coordenador(a))

Endereço: Rua Augusto Viana, s/nº - 1º Andar		CEP: 40.110-060
Bairro: Canela	Município: SALVADOR	
UF: BA	Telefone: (71)3283-8043	Fax: (71)3283-8140
E-mail: cep.hupes@gmail.com		

UFBA - HOSPITAL
UNIVERSITÁRIO PROF.
EDGARD SANTOS DA
UNIVERSIDADE FEDERAL DA
BAHIA ç HUPES/UFBA



Continuação do Parecer: 3.592.079

Endereço: Rua Augusto Viana, s/nº - 1º Andar
Bairro: Canela **CEP:** 40.110-060
UF: BA **Município:** SALVADOR
Telefone: (71)3283-8043 **Fax:** (71)3283-8140 **E-mail:** cep.hupes@gmail.com