

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE CIÊNCIAS DA SAÚDE DE  
PORTO ALEGRE – UFCSPA  
CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM PATOLOGIA**

**Patrícia Trevisan**

**Anormalidades cromossômicas  
entre pacientes com cardiopatia  
congenita hospitalizados em uma  
Unidade de Tratamento Intensivo  
Cardíaca de um Hospital Pediátrico  
do Sul do Brasil.**

**UFCSPA**  
Universidade Federal de Ciências da Saúde  
de Porto Alegre

**Porto Alegre  
2013**

**Patrícia Trevisan**

**Anormalidades cromossômicas  
entre pacientes com cardiopatia  
congenita hospitalizados em uma  
Unidade de Tratamento Intensivo  
Cardíaca de um Hospital Pediátrico  
do Sul do Brasil.**

Dissertação submetida ao Programa  
de Pós-Graduação em Patologia da  
Fundação Universidade Federal de  
Ciências da Saúde de Porto Alegre  
como requisito para a obtenção do  
grau de Mestre

Orientador: Dr. Paulo Ricardo Gazzola Zen  
Co-orientador: Dr. Rafael Fabiano Machado Rosa

**Porto Alegre  
2013**

## **Agradecimentos**

Gostaria de agradecer a todos aqueles que com carinho, dedicação e contribuição, tornaram possível a realização do presente trabalho:

Ao meu marido Julio Santos por todo o seu amor, apoio, confiança e dedicação.

A meus pais Isaltino (*in memoriam*) e Cladis, meus grandes incentivadores, por tudo o que fizeram e representam para mim. Mesmo que fisicamente ausente, meu pai foi e sempre será meu exemplo de dedicação, seriedade e humildade.

A meus irmãos e cunhados, Marcelo, Ana Cláudia, Rafael, Gabriela e Eduardo mesmo muitas vezes distantes, sempre me apoiaram e incentivaram.

À minha sobrinha e afilhada Cecília, que mesmo tão pequena foi grande incentivadora.

A todos os meus familiares e amigos que de alguma forma ou outra estiveram comigo me apoiando e incentivando.

Um agradecimento especial ao professor, orientador e, acima de tudo, amigo, Dr. Paulo Ricardo Gazzola Zen, não só por toda orientação e ensinamentos recebidos durante minha formação e no mestrado, mas especialmente pelo exemplo de profissional e de pessoa.

Ao meu co-orientador Rafael Fabiano Machado Rosa, por toda a dedicação, paciência, carinho e ensinamentos recebidos desde quando entrei para o grupo.

Aos demais professores da Disciplina de Genética Clínica da UFCSPA, Dra. Carla Graziadio e Dr. Giorgio Adriano Paskulin, por toda amizade, ensinamentos e

apoio recebidos. Vocês me proporcionaram conhecer, buscar e admirar ainda mais a Genética.

Às professoras da Disciplina de Genética Humana da UFCSPA, Dra. Júlia Pasqualini Genro e Dra. Marilu Fiegenbaum, pela oportunidade e os inúmeros ensinamentos, vocês são para mim exemplos de profissionalismo.

À minha colega e amiga Juliane Nascimento da Silva pela amizade e dedicação no desenvolvimento do presente trabalho.

Às amigas e colegas Fernanda Santa Maria e Thayse Bienert Goetze pela amizade e companheirismo.

À funcionária Vera Lúcia Torres Andrade, do Laboratório de Citogenética da UFCSPA, aos residentes da Genética Clínica Reinaldo Luna e Vinicius Freitas de Mattos, e demais colegas por todo carinho e apoio recebidos.

Ao Laboratório de Citogenética da Disciplina de Genética Clínica e ao Programa de Pós-Graduação em Patologia da UFCSPA, em especial à querida Maristela Pasin pelo apoio e auxílio sempre que precisei.

Agradeço também à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela bolsa de mestrado recebida.

## Sumário

<b>1. Introdução</b>	10
1.1. Etiologia das cardiopatias congênitas	14
1.2. O exame de cariótipo	19
1.3. Estudos que avaliaram a frequência de anormalidades cromossômicas identificadas através do exame de cariótipo em pacientes com cardiopatia congênita	26
1.4. Importância da identificação de anormalidades cromossômicas entre pacientes com cardiopatia congênita	35
1.5. Referências bibliográficas	37
<b>2. Objetivos</b>	43
<b>3. Artigo científico</b>	44
<b>4. Considerações finais</b>	66
<b>5. Anexos</b>	68
5.1. Protocolo de análise citogenética por meio do cariótipo de alta resolução	69
5.2. Parecer do Comitê de Ética em Pesquisa com Seres Humanos da UFCSPA	72
5.3. Aceite do periódico Arquivos Brasileiros de Cardiologia	75
5.4. Certificados de apresentação em eventos	77

**Lista de abreviaturas utilizadas**

ABOs: abortos

ACs: anormalidades cromossômicas

add: material cromossômico adicional de origem desconhecida

AP: atresia pulmonar

AT: atresia tricúspide

AUT: autópsia

CAT: cateterismo

CC: cardiopatia congênita

CEP: Comitê de Ética em Pesquisa com Seres Humanos

CGH: *Comparative Genomic Hybridization*

CIA: comunicação interatrial

CIR: cirurgia

CIV: comunicação interventricular

CoAo: coarctação de aorta

del: deleção cromossômica

der: cromossomo derivado

DNA: ácido desoxirribonucléico

DSAV: defeito de septo atrioventricular

dup: duplicação cromossômica

DVAPT: retorno venoso pulmonar anômalo total

DVSVD: dupla via de saída de ventrículo direito

EA: estenose aórtica

ECO: ecocardiografia

EF: exame físico

EP: estenose pulmonar

EPP: estenose pulmonar periférica

EUA: Estados Unidos da América

EUROCAT: *European Registry of Congenital Anomalies and Twins*

FISH: *Fluorescence In Situ Hybridization*

GTG: banda G por tripsina e Giemsa

HCSA: Hospital da Criança Santo Antônio

i: isocromossomo

IAA: interrupção de arco aórtico

IC: intervalo de confiança

IMER: *Emilia-Romagna Congenital Malformation Registry*

ISCN: *International System for Human Cytogenetic Nomenclature*

MLPA: *Multiplex Ligation-dependent Probe Amplification*

n: número de pacientes

N: número de pacientes

ND: não descrito

NMs: natimortos

NVs: nativos

OR: *odds ratio*

p: braço curto do cromossomo

P: prospectivo

PCA: persistência de canal arterial

PEPI: *Programs for Epidemiologists*

PVM: prolapso de válvula mitral

q: braço longo do cromossomo

R: retrospectivo

RN: recém-nascidos

SKY: *Spectral Karyotype*

SPSS: *Statistical Package for the Social Sciences*

SUS: Sistema Único de Saúde

TA: *truncus arteriosus*

TGA: transposição de grandes artérias

TOF: tetralogia de Fallot

UFCSPA: Universidade Federal de Ciências da Saúde de Porto Alegre

UTI: unidade de tratamento intensivo

VAB: válvula aórtica bicúspide

VCI: veia cava inferior

VCSE: veia cava superior esquerda

VE: ventrículo esquerdo

## **Resumo da Dissertação**

### **Introdução:**

Malformações congênitas são detectadas em aproximadamente 3 a 5% dos recém-nascidos. Dentre estas, destacam-se as cardiopatias congênitas (CC). Diferentes causas podem estar associadas a CC, incluindo alterações gênicas e exposições a teratógenos. Além disso, sabe-se que cerca de 1 em cada 10 pacientes com CC apresentam anormalidades cromossômicas (ACs).

### **Objetivo:**

Determinar a frequência de indivíduos portadores de ACs de uma amostra prospectiva e consecutiva de pacientes com CC. Além disso, verificar os tipos de ACs juntamente com suas características clínicas.

### **Material e Métodos:**

Nossa amostra foi composta por pacientes com CC avaliados em sua primeira hospitalização em uma unidade de tratamento intensivo cardíaca de um hospital pediátrico de referência do Sul do Brasil. Todos os pacientes foram submetidos à avaliação clínica e citogenética, através do cariótipo de alta resolução. Os defeitos cardíacos foram classificados segundo Botto e cols. 2001. Na análise estatística utilizou-se do qui-quadrado, teste exato de Fisher e *odds ratio* ( $P < 0,05$ ).

### **Resultados:**

Nossa amostra foi composta de 298 pacientes, 53,4% do sexo masculino, com idades variando de 1 dia a 14 anos. Anormalidades cromossômicas foram observadas em 50 pacientes (16,8%), sendo que 49 deles eram sindrômicos. Quanto às ACs, 44 delas (88%) eram numéricas (40 pacientes com +21, dois

com +18, um com triplo X e um com 45,X) e seis (12%), estruturais [dois pacientes com der(14;21),+21, um com i(21q), um com dup(17p), um com del(6p) e 1 com add(18p)]. O grupo de CCs mais associado a ACs foi o do defeito de septo atrioventricular.

**Conclusão:**

ACs detectadas pelo cariótipo são frequentes entre pacientes com CC. Assim, profissionais, especialmente aqueles que trabalham em Serviços de Cardiologia Pediátrica, devem estar cientes das implicações que a realização do cariótipo pode trazer tanto para o diagnóstico, tratamento e prognóstico desses pacientes como para o seu aconselhamento genético.

## 1. Introdução

Malformações congênitas são definidas como anormalidades decorrentes de distúrbios na embriogênese (Merks e cols., 2003). Elas são detectadas em aproximadamente 3 a 5% dos recém-nascidos (Robinson e Linden, 1993), sendo que um em cada 33 deles possui anormalidades consideradas graves (Amorim e cols., 2008). As malformações, no geral, representam a principal causa de morte na primeira infância em países desenvolvidos, sendo assim um importante problema de saúde pública (Anderson e Smith, 2005). No Brasil, em 2008, estas corresponderam à cerca de 19% da mortalidade em menores de um ano, sendo assim a segunda principal causa de óbito nessa faixa etária (DATASUS, 2008).

As malformações podem ser divididas em maiores e menores. Kramer e cols. (1987) sugerem que as malformações maiores são aquelas que causam efeito adverso na aceitabilidade social do indivíduo ou na função de um determinado órgão ou sistema. Por outro lado, Hoyme (1993) afirma que as malformações menores não apresentam significado estético ou funcional para o indivíduo afetado, sendo este um achado estrutural visto em menos de 4% da população geral. Contudo, o autor sugere que algumas anomalias menores podem ser marcadoras externas de anomalias maiores específicas, eventualmente ocultas (Hoyme, 1993). Igualmente, Kramer e cols. (1987) acreditam que as malformações menores podem constituir indícios de um padrão específico de malformações, podendo servir como indicadores para uma morfogênese alterada. Dessa maneira, a maioria das síndromes poderia ser reconhecida pelo geneticista clínico se fossem levados em consideração

esses padrões de anomalias menores (Hoyme, 1993). O exame dismorfológico desse especialista, portanto, poderia auxiliar na determinação do aspecto sindrômico dos pacientes e, conseqüentemente, na decisão de se realizar uma investigação complementar através, por exemplo, do cariótipo.

Dentre as malformações congênitas mais frequentes, destacam-se as cardiopatias congênitas. Estas se caracterizam por ser um grupo heterogêneo de lesões com conseqüências hemodinâmicas variadas, necessitando de diferentes seguimentos e intervenções (Grech, 1999; van der Bom e cols., 2011). De acordo com a definição proposta por Mitchell e cols. (1971), a cardiopatia congênita consiste em uma anormalidade estrutural macroscópica do coração ou dos grandes vasos intratorácicos, podendo apresentar repercussões funcionais significantes ou potencialmente significantes. Esses defeitos podem ser classificados de várias formas, seja pela sua fisiologia (cardiopatia cianótica ou não), gravidade, tipo de alteração ocorrida durante o desenvolvimento embrionário ou defeito anatômico. A alteração anatômica congênita do coração mais comum é a comunicação interventricular (CIV), observada em cerca de 33% de todas as crianças afetadas (Marino e Digilio, 2000; Richmond e Wren, 2001; Hoffman e Kaplan, 2002).

Estudos demonstram que a incidência das cardiopatias congênitas pode variar entre 4 a 14 por 1.000 nascidos vivos (Ferencz e cols., 1985; Hoffman e Kaplan, 2002; Gill e cols., 2003; Pinto e cols., 2004; Ransom e Srivastava, 2007). No Brasil, foi descrita uma prevalência que varia de 5 a 12 por 1.000 nascidos vivos (Guitti, 2000; Hagemann e Zielinsky, 2004; Amorim e cols., 2008). Essas variações podem ser explicadas por vários fatores, como a ocorrência de defeitos letais que impossibilitam o nascimento vivo do concepto

e a não inclusão de defeitos cardíacos menores. Além disso, o aborto terapêutico por doenças cardíacas complexas, as alterações silenciosas ou subclínicas não identificadas pelo médico, a idade dos pacientes, a expressão fenotípica ampla de doenças relacionadas e as técnicas diagnósticas mais precisas em evolução constante podem estar influenciando a detecção das cardiopatias congênitas (Hoffman e Kaplan, 2002; Ransom e Srivastava, 2007). Segundo Bosi e cols. (2003), devido ao aumento do uso da ecocardiografia com *Doppler* colorido, observou-se um aumento da prevalência de cardiopatia congênita, mostrando que há uma maior detecção de defeitos menores por essa técnica. Caso fossem agregados a estes números os casos de cardiopatia congênita presentes em abortos e natimortos, a prevalência global desta malformação aumentaria significativamente (Hagemann e Zielinsky, 2004).

Estudos demonstram que a cardiopatia congênita pode ser responsável por cerca de 40% de todos os defeitos congênitos, sendo considerada uma das malformações mais frequentes (Grech, 1999; Acharya e cols., 2004; Clark, 2004; Jenkins e cols., 2007). Em nosso país, apesar de sua grande extensão geográfica, dispomos de doze centros que são especializados tanto no diagnóstico, como no tratamento de pacientes com cardiopatia congênita (Pedra e cols., 2009). A necessidade média de cirurgia cardiovascular em congênitos no Brasil é da ordem de 23.077 procedimentos por ano. Contudo, no ano de 2002, houve um déficit de cirurgias que chegou a 65%. O investimento médio do Sistema Único de Saúde (SUS) no tratamento destes pacientes também é alto. Entre os anos de 1999 e 2002 ele foi de R\$ 45.152.715,33 (Pinto e cols., 2004).

Além disso, sabe-se que mesmo após a realização de cirurgia cardíaca, esses pacientes podem continuar a apresentar morbidade e mortalidade originárias de seus problemas cardíacos iniciais. Muitos destes defeitos também se tornarão evidentes após a infância e, algumas vezes, somente na vida adulta (Emmanouilides e cols., 2000; Begić e cols., 2003; van der Bom e cols., 2011). Sabe-se que no Brasil, 20,4% dos pacientes com cardiopatia congênita são tratados na fase adulta devido à sua detecção tardia (Pinto e cols., 2004).

Por outro lado, as crescentes melhoras nos cuidados clínicos, de intensivismo, de cirurgia e de anestesia vêm proporcionando uma sobrevida mais longa a estes pacientes. Desta forma, um número cada vez maior de portadores de cardiopatia congênita alcança a idade adulta (Winlaw, 2007; Dolk e cols., 2011). Apesar de tudo isso, as cardiopatias congênitas ainda representam um problema maior de saúde pública pelo mundo, sendo a principal causa de morte entre malformações congênitas (Emmanouilides e cols., 2000; Terai e cols., 2002; Jenkins e cols., 2007). No ano de 1999, em Porto Alegre, elas foram responsáveis por cerca de 10% dos óbitos infantis e por metade dos óbitos por malformação congênita (Hagemann e Zielinsky, 2004).

Defeitos cardíacos graves e moderadamente graves perfazem cerca de 3 a 6 em cada 1.000 nascidos vivos e se caracterizam pela necessidade de cuidados intensivos e cirúrgicos mais complexos. Estes apresentam também uma maior morbidade neurológica no pós-operatório, podendo se tornar uma grande preocupação para os serviços de saúde (Hoffman e Kaplan, 2002; Acharya e cols., 2004; Winlaw, 2007). Esses defeitos representam, assim, uma

importante causa de admissão e de mortalidade em unidades pediátricas de tratamento intensivo (Rothstein e Johnson, 1982; Kapil e Bagga, 1993). Em nosso Estado, contudo, a maioria das unidades de tratamento intensivo encontra-se superlotada e, muitas vezes não possui equipamentos e profissionais especializados para o diagnóstico diferencial, nem condições para o tratamento cirúrgico de pacientes portadores de cardiopatia congênita (Hagemann e Zielinsky, 2004). Isso, muitas vezes, deve-se ao fato de que países menos desenvolvidos possuem outras prioridades relacionadas à saúde, incluindo a prevenção da desnutrição e promoção de campanhas de vacinação (Pedra e cols., 2009).

### **1.1. Etiologia das cardiopatias congênitas**

Sabe-se que o coração é o primeiro órgão a ser formado no embrião, sendo de fundamental importância para o provimento de oxigênio e nutrientes para o desenvolvimento fetal (Ransom e Srivastava, 2007). A sua formação é complexa e ocorre num período de diversas semanas da vida embrionária, tornando-o um órgão muito vulnerável à ocorrência de falhas na sua formação (Thulstrup e Bonde, 2006).

As cardiopatias congênitas são consideradas malformações etiologicamente heterogêneas e pouco compreendidas (Harris e cols., 2003; Fahed e cols., 2013). Diferentes causas podem estar associadas a elas, e incluem anormalidades cromossômicas e gênicas/mendelianas, além de exposições a agentes teratogênicos (Stoll e cols., 1989; Fahed e cols., 2013).

Contudo, apenas cerca de 15 a 20% dos casos de cardiopatia congênita são atribuídos a causas conhecidas, tais como as listadas anteriormente (van der Bom e cols., 2011; Blue e cols., 2012).

Defeitos em um único gene perfazem cerca de 3 a 5% dos casos de cardiopatia congênita, e frequentemente, estão associados com malformações não cardíacas, como a síndrome de Alagille, de Holt-Oram e Noonan (van der Bom e cols., 2011). Genes associados a malformações cardíacas isoladas incluem o *JAG1*, o *TBX5* e o *GATA6* (Fahed e cols., 2013). Poucos teratógenos cardíacos têm sido definidos, sendo que estes são detectados em aproximadamente 2% dos pacientes com cardiopatia congênita (Kuciene e Dulskiene, 2008). Alguns exemplos incluem determinados anticonvulsivantes, o ácido retinóico, o álcool e o lítio (Harris e cols., 2003). Dentre as principais condições da mãe que podem afetar o bebê no período gestacional pode-se citar o diabetes melito (Blue e cols., 2012) e a epilepsia (Jenkins e cols., 2007).

As alterações cromossômicas são mais frequentes em pacientes com cardiopatia congênita do que na população em geral (Marino e Digilio, 2000; Prasad e Chudley, 2002; Harris e cols., 2003). Enquanto elas são observadas em 1 em cada 120 recém-nascidos em geral, elas estão presentes em cerca de 1 em 10 pacientes com cardiopatia congênita. Ou seja, sua frequência é cerca de doze vezes maior entre indivíduos com cardiopatia congênita (Blue e cols., 2012). As aneuploidias cromossômicas foram as primeiras alterações genéticas descritas entre indivíduos com cardiopatia congênita. Hoje, apesar de todos os avanços ocorridos, elas ainda representam a principal causa conhecida desta malformação (Fahed e cols., 2013). A síndrome de Down é observada em 4 a 10% de indivíduos com cardiopatia congênita, sendo considerada ainda hoje a

alteração cromossômica mais encontrada entre esses pacientes. Outras anormalidades cariotípicas comumente observadas podem ser visualizadas nas Tabelas 1, 2 e 3.

Tabela 1. Principais anormalidades cromossômicas associadas com malformações cardíacas potencialmente detectadas através do exame de cariótipo (modificada de Rosa e cols., 2007).

Síndrome	Alteração Cromossômica	Incidência ao nascimento	% com defeitos cardíacos <sup>ψ</sup>	Defeitos cardíacos associados
Down	Trissomia do cromossomo 21	1:660	40 - 50	CIV, DSAV, PCA, CIA e TOF
Edwards	Trissomia do cromossomo 18	1:3.600 - 8.500	80 - 100	CIV, CIA, PCA, CoAo, EP, DVSVd, TOF, doença polivalvular e DSAV
Patau	Trissomia do cromossomo 13	1:5.000 - 12.000	80 - 100	CIA, CIV, PCA, doença polivalvular e dextrocardia
Ullrich-Turner	Monossomia parcial ou total do cromossomo X	1:2.000 - 3.000 (♀)	17 - 60	CoAo, VAB, hipoplasia de VE, PVM e EA
Mosaico da trissomia do cromossomo 9	Mosaicismo para trissomia do cromossomo 9	+/- 30 casos descritos	60	CIA, CIV, PCA, DVSVd e persistência VCSE
Triplóidia	Triplóidia	?	50	CIV, PCA e CIA
Wolf-Hirschorn	Deficiência parcial de 4p	1:50.000	30 - 60	CIA, CIV e EP
Cri-du-chat (Miado do Gato)	Deficiência parcial de 5p	1:50.000	10 - 55	CIV, CIA, PCA e TOF
Deleção 8p	Deficiência parcial de 8p	+/- 40 casos descritos	65 - 75	CIV, EP, CIA e TGA
Deleção 9p	Deficiência parcial de 9p	+/- 100 casos descritos	30 - 65	CIV, PCA e EP
Jacobsen	Deficiência parcial de 11q	+/- 75 casos descritos	65	CIV, Ventriculo único, hipoplasia de VE e CIA
Duplicação 11q	Duplicação parcial de 11q	?	60	Variável
Olho do gato	Tetrassomia ou trissomia parcial do cromossomo 22	1:50.000 - 150.000	30 - 40	Persistência VCSE, DVAPT, TOF, CIV, AT e ausência de VCI
Pallister-Killian	Mosaico para tetrassomia do braço curto do cromossomo 12	?	25	CIV, EA, PCA e cardiomiopatia hipertrofica
Deleção 22q11.2	Deleção 22q11.2	1:2.000	75 - 100	TOF, IAA do tipo B, TA, CIV, AP, EP e arco aórtico à direita

<sup>ψ</sup> Percentagem descrita de defeitos cardíacos congênitos em pacientes com a respectiva anormalidade cromossômica; ♀: indivíduos do sexo feminino; ? : desconhecida.

Nomenclatura: AP: atresia pulmonar; AT: atresia tricúspide; CIA: comunicação interatrial; CIV: comunicação interventricular; CoAo: coarctação de aorta; DVAPT: retorno venoso pulmonar anômalo total; DSAV: defeito de septo atrioventricular; DVSVd: dupla via de saída de ventrículo direito; EA: estenose aórtica; EP: estenose pulmonar; EPP: estenose pulmonar periférica; IAA: interrupção de arco aórtico; PCA: persistência de canal arterial; PVM: prolapso de válvula mitral; TA: *truncus arteriosus*; TGA: transposição de grandes artérias; TOF: tetralogia de Fallot; VAB: válvula aórtica bicúspide; VCI: veia cava inferior; VCSE: veia cava superior esquerda; VE: ventrículo esquerdo. Referências: Marino e Digilio, 2000; Gorfin e cols., 2001; Goldmuntz, 2001; Harris e cols., 2003; Jones, 2006; Rosa e cols., 2007; Fahed e cols., 2013.

Tabela 2. Regiões de deleção cromossômica estatisticamente significantes associadas com malformações cardíacas congênitas específicas (Adaptado de Brewer e cols., 1998).

Malformação cardíaca	Bandas significativamente associadas ( $P < 0,05$ / $P < 0,01$ )	Bandas com associação altamente significativa ( $P < 0,001$ )
Persistência do canal arterial	4q32, 6p25-23, 9q31	-
Comunicação interatrial	4p13, 4p16, 10p12-11, 12q15	-
Comunicação interventricular	1q42-44, 3q24-25, 4q31-34, 11q23-25	4q31, 22q11
Defeito de septo atrioventricular	6q15-21, 6q23, 8p23, 16q13-22	-
Estenose pulmonar	7q31, 8p23, 17p13	20p13-11, 22q11
Hipoplasia do coração esquerdo	-	11q23-25
Estenose aórtica	3p14-11	11q23-24
<i>Truncus arteriosus</i>	2q22-23, 11q23	2q22, 22q11
Tetralogia de Fallot	8p22-21, 22q11	-
Coarctação de aorta	4q31-32, 5q23-31	-

p: braço curto do cromossomo; q: braço longo do cromossomo.

Tabela 3. Malformações cardíacas e suas associações com alterações cromossômicas (Adaptado de Manning e cols., 2005).

Malformação cardíaca	Risco associado (%)	Alteração cromossômica
Tetralogia de Fallot	6 – 10	+21
	10 – 15	+13; +18
	10 – 19	deleção 22q11
Tetralogia de Fallot com atresia pulmonar	26	deleção 22q11
Interrupção do arco aórtico	25 – 50	deleção 22q11
<i>Truncus arteriosus</i>	40	deleção 22q11
Tetralogia de Fallot com ausência de válvula pulmonar	>60	deleção 22q11
Dupla via de saída de ventrículo direito	5	+13; +18
Coarctação de aorta	10	Síndrome de Turner
Defeito de septo atrioventricular (completa ou parcial)	>50	+21
		+13; +18
Atresia pulmonar com comunicação interventricular	22	deleção 22q11
Atresia pulmonar com comunicação interventricular e artérias comunicantes aorto-pulmonares maiores	35	deleção 22q11
Comunicação interventricular de via de saída	20	+21
Comunicação interventricular perimembranosa	20	+21; +18
Comunicação interventricular duplamente acometida	20	deleção 22q11

+21: trissomia livre do cromossomo 21; +13: trissomia livre do cromossomo 13; +18: trissomia livre do cromossomo 18.

## 1.2. O exame de cariótipo

Os cromossomos são estruturas que se localizam dentro do núcleo das células e é onde se encontra a informação genética do indivíduo, ou seja, o DNA. O termo “cromossomo” (do grego Kroma= cor, soma= corpo) foi criado pelo alemão von Waldeyer em 1888 (Smeets, 2004). Eles foram primeiramente observados por Karl Wilhelm von Nägeli, em 1842, em células vegetais. O comportamento dos cromossomos em células animais foi descoberto por Walther Flemming, com a descrição da mitose em 1878. Posteriormente, em 1902, Walter Sutton desenvolveu a teoria da hereditariedade dos cromossomos, local onde os genes estariam localizados. Seis anos depois, o cientista William Bateson utilizou o termo “genética” no sentido de descrever o estudo da variação e hereditariedade. Calvin Bridges, em 1916, sugeriu que um gene específico estava associado a um determinado cromossomo. Sete anos após, em 1923, Teophilus S. Painter sugeriu que o número de cromossomos humanos seria de 48 (Gartler, 2006) (Figura 1).



Figura 1. Desenho realizado através de câmara lúcida de uma metáfase de espermatogônia humana por Theophilus S. Painter. O desenho presumivelmente mostra 48 cromossomos (Imagem retirada de Gartler, 2006).

Tao-Chiuh Hsu, em 1952, desenvolveu o tratamento hipotônico das células no estudo cromossômico. A associação dessa descoberta com o uso da colchicina foi de vital importância para que outra conquista fosse alcançada por Hin Tjio e Albert Levan, em 1956. Esses pesquisadores conseguiram determinar de forma correta o número de cromossomos humanos nas células somáticas, que é de 46 (Tjio e Levan, 1956) (Figura 2). Este achado foi confirmado posteriormente por Ford e Hamerton, os quais observaram a presença de 23 bivalentes em cromossomos meióticos humanos.

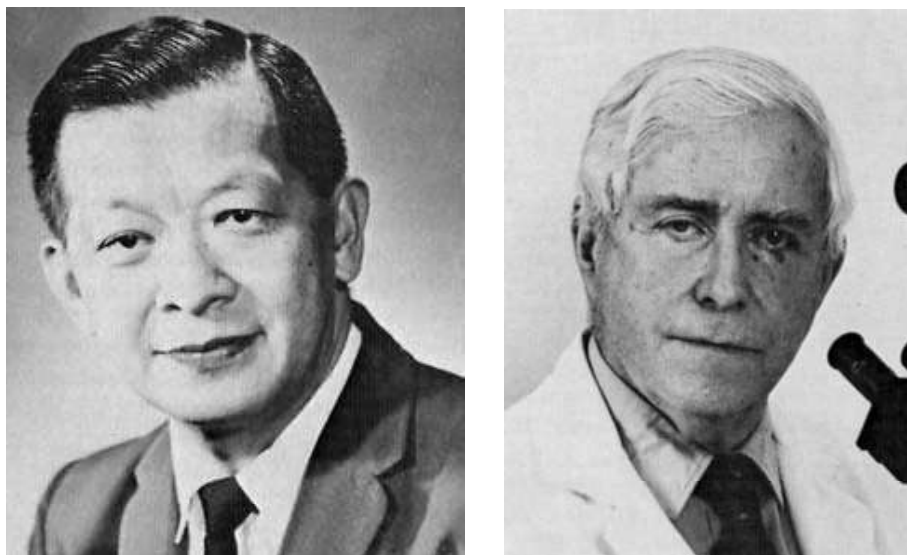


Figura 2. Foto dos pesquisadores Tjio e Levan, que descreveram a correta contagem dos cromossomos em células humanas ( $n= 46$ ) (Imagem retirada de Gartler, 2006).

Muitos pesquisadores se perguntaram qual seria a importância desta descoberta e qual seria a sua real utilidade na prática médica (Gartler, 2006). A resposta para esses questionamentos viria cerca de 3 anos depois, em 1959, com o início da identificação das síndromes cromossômicas. Em 1959, Lejeune e cols. descreveram uma alteração, a primeira trissomia de cromossomos autossômicos, no caso a que leva à síndrome de Down (Figura 3). Na época, porém, apesar de alguns cromossomos serem identificados pelo seu tamanho e posição dos seus centrômeros, eles não eram visualizados individualmente. Sendo assim, o reconhecimento de anormalidades cromossômicas específicas ficava difícil ainda de ser realizada.

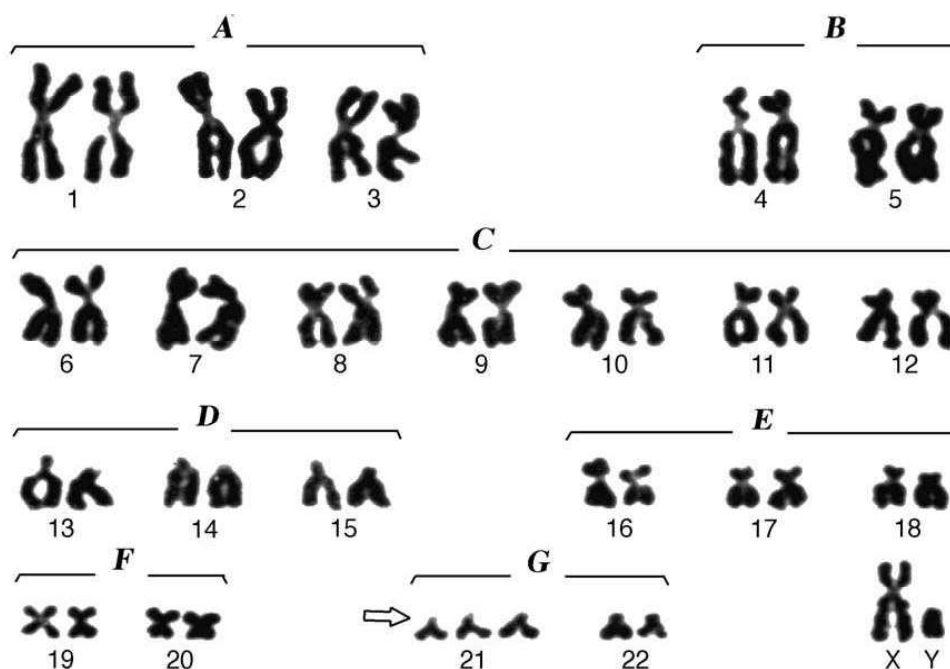


Figura 3. Cariótipo demonstrando a trissomia livre do cromossomo 21 (síndrome de Down) com coloração “sólida” utilizando corante Giemsa (ver seta). O reconhecimento dos cromossomos nesse período era realizado através do seu tamanho e localização do centrômero. Assim, estes eram subdivididos em grupos (A a G e cromossomos sexuais) (Imagem retirada de Smeets, 2004).

O início da padronização da nomenclatura dos cromossomos e suas alterações ocorreu durante a Conferência de Denver (1960), a Conferência de Londres (1963), e o Terceiro Congresso Internacional de Genética Humana (1966). Uma descoberta também importante ocorrida no mesmo período foi realizada por Peter Nowell, o qual desenvolveu a técnica de cultivo celular a partir de amostras de sangue (antes disto os estudos eram realizados através de culturas de fibroblastos). Esse pesquisador descobriu que a fitohemaglutinina (uma substância extraída do feijão) era capaz de estimular as

células brancas do sangue (em especial os linfócitos) a se dividirem (Nowell, 1960).

Em 1970, a identificação individual de cada cromossomo foi possível utilizando-se de técnicas de coloração longitudinal as quais diferenciavam os cromossomos, hoje conhecidas como “bandamento” cromossômico (Caspersson e cols., 1970). Dessa maneira, cada cromossomo pôde ser identificado por seu padrão único de regiões de coloração mais ou menos intensa (bandas), de modo que tanto as alterações cromossômicas numéricas quanto as estruturais passaram a ser melhor reconhecidas e diagnosticadas. Com o surgimento do uso do corante Giemsa (antes disso, os cromossomos eram corados com material fluorescente, a quinacrina) e das técnicas de alta resolução cromossômica (Yunis, 1976; Yunis, 1981), os cromossomos puderam ser estudados em uma etapa mais precoce da mitose, tendo maior detalhamento das bandas (Figura 4). Assim, anomalias cromossômicas menores puderam ser identificadas e melhor caracterizadas. Nesse mesmo período, em 1978, ocorreu a publicação da primeira versão do ISCN, o *International System for Human Cytogenetic Nomenclature* (a última versão do mesmo é de 2009, sendo este o sistema de nomenclatura atualmente aceito em todo o mundo).

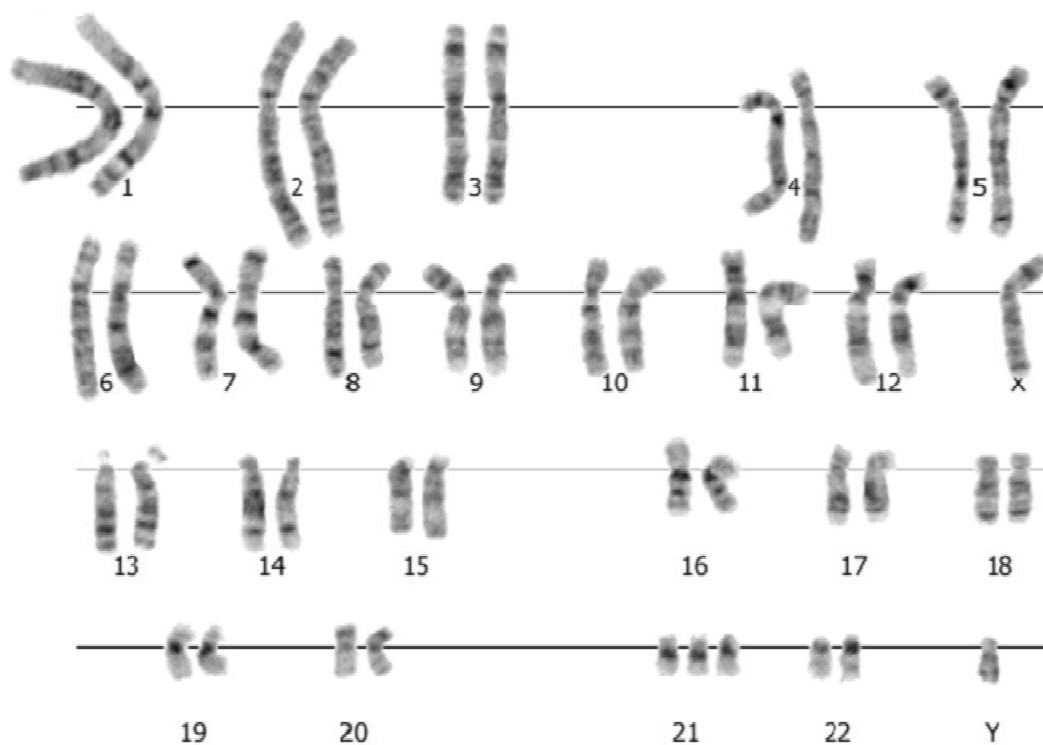


Figura 4. Cariótipo por bandas GTG (banda G por tripsina e Giemsa) demonstrando uma trissomia livre do cromossomo 21, compatível com síndrome de Down. A sua resolução é de aproximadamente 400 bandas (Imagem cedida pelo Laboratório de Citogenética da UFCSPA).

Com o desenvolvimento das sondas de DNA e das técnicas de hibridização *in situ* fluorescente (*Fluorescence In Situ Hybridization* - FISH), criou-se um novo conceito, o de citogenética molecular (Jauch e cols., 1990; Smeets, 2004; Dave e Sanger, 2007; Gouas e cols., 2008). A partir de 1991, estas técnicas passaram a ser aplicadas na detecção pré-natal de aneuploidias, pelo estudo de células tanto metafásicas como interfásicas. Ainda nessa década, foram desenvolvidas a técnica de FISH multicolorido e de cariotipagem espectral, ou SKY (*Spectral Karyotype*). Essas novas técnicas possibilitaram uma melhor identificação de rearranjos estruturais entre os

cromossomos, especialmente em casos complexos (Schrock e cols., 1996; Speicher e cols., 1996; Stumm e cols., 1999). Novas descobertas posteriores, como o surgimento da hibridização genômica comparativa (conhecida como CGH devido à sua definição em inglês - *Comparative Genomic Hybridization*) e do MLPA (*Multiplex Ligation-dependent Probe Amplification*), possibilitaram também a identificação de alterações muito sutis que podem escapar à análise cromossômica padrão (Kallionemi e cols., 1992; Shaffer e Bejjani, 2004; Smeets, 2004; Shaffer e Bejjani, 2006; Dave e Sanger, 2007; Bejjani e Shaffer, 2008; Gouas e cols., 2008).

Contudo, apesar de todos estes avanços ocorridos nas últimas décadas, o exame de cariótipo continua sendo, atualmente, uma ferramenta fundamental na avaliação genética dos pacientes, incluindo aqueles com cardiopatia congênita. Como visto anteriormente, cerca de 15 a 20% dos pacientes com esta malformação apresentam uma etiologia conhecida, sendo que dentre elas se destacam as alterações cromossômicas identificadas através do cariótipo. Estas correspondem à cerca de 10% dos casos, ou seja, metade das causas conhecidas de cardiopatia congênita (van der Bom e cols., 2011; Blue e cols., 2012). O cariótipo também é, em nosso meio, o único exame de avaliação dos cromossomos disponível pela rede pública de atendimento em saúde (o Sistema Único de Saúde – SUS). Infelizmente, a disponibilidade de realização de cariótipo no âmbito do SUS é muito aquém das necessidades da população brasileira.

### **1.3. Estudos que avaliaram a frequência de anormalidades cromossômicas identificadas através do exame de cariótipo em pacientes com cardiopatia congênita**

Vários pesquisadores avaliaram, em diferentes estudos, a presença de anormalidades cromossômicas detectadas através do exame de cariótipo em pacientes portadores de cardiopatia congênita. Porém, a maioria se constitui de trabalhos retrospectivos desenvolvidos na Europa e onde nem todos os pacientes das amostras estudadas foram submetidos à avaliação cariotípica (a maioria não descreve quantos pacientes foram avaliados através deste exame). Em nossa revisão, encontramos apenas um estudo desenvolvido na América Latina, no Brasil (Amorim e cols., 2008). Estudos mais antigos, realizados principalmente antes da década de 80, apresentam também importantes limitações, pois foram desenvolvidos em uma época onde ainda não existia a avaliação dos cromossomos através de técnicas de bandamento e de alta resolução. A seguir descrevemos os principais estudos que avaliaram a frequência de anormalidades cromossômicas identificadas através do exame de cariótipo em pacientes com cardiopatia congênita (Tabela 4).

Ferencz e cols. realizaram em 1989 um estudo retrospectivo em uma amostra de pacientes com cardiopatia congênita com idade inferior a um ano (n= 2.102). Estes fizeram parte do *Baltimore-Washington Infant Study*, realizado nos Estados Unidos da América (EUA). O diagnóstico de cardiopatia congênita foi realizado através da ecocardiografia, cateterismo cardíaco, cirurgia ou autópsia. Anormalidades cromossômicas foram identificadas em 271 indivíduos (12,9%), sendo que a maior parte delas era numérica (95,6%). A

principal alteração observada foi a síndrome de Down (n= 218), porém os autores não descreveram as anormalidades cromossômicas que deram origem a essa síndrome. Além disso, a trissomia livre do cromossomo 18 (n= 17), a trissomia do cromossomo 13 (n=16) e a monossomia do cromossomo X (n= 7) foram também descritas. Com relação às alterações estruturais, os autores observaram em um paciente uma deleção do braço curto do cromossomo quatro e em outro uma deleção do braço curto do cromossomo 5. Os pacientes da amostra não chegaram a ser classificados como sindrômicos ou não.

No mesmo ano, Stoll e cols. (1989) estudaram 801 casos com cardiopatia congênita, de forma retrospectiva, em uma cidade da França. Os autores incluíram no estudo natimortos e fetos a partir de 26 semanas de gestação. O diagnóstico de cardiopatia congênita foi confirmado por ecocardiografia, cateterização cardíaca, descrição da cirurgia ou autópsia, sendo que esses indivíduos não foram classificados em sindrômicos ou não. Dos 801 pacientes, 153 foram submetidos à avaliação através do cariótipo, sendo que os autores não deixam claro os critérios para realização desse exame. As anormalidades cromossômicas foram identificadas em 72 indivíduos, a maioria delas sendo numérica (95,8%). As principais alterações descritas foram a trissomia livre do cromossomo 18 (n= 15) e a trissomia livre do cromossomo 13 (n= 17). No trabalho, os autores descreveram 45 casos como sendo de síndrome de Down. Porém, eles não especificaram qual seria a alteração cromossômica que teria levado a esse diagnóstico.

Posteriormente, Pradat, em 1992, revisou, retrospectivamente, os dados de 1.605 pacientes com defeitos cardíacos obtidos a partir dos registros de cardiologia e de malformações congênitas da Suécia entre os anos de 1981 e

1986. Incluíram-se nesse estudo todos os pacientes que foram submetidos à ecocardiografia, cateterismo, cirurgia cardíaca ou autópsia. Anormalidades cromossômicas foram observadas em 202 pacientes (13%). Os autores relataram a presença de síndrome de Down em 167 casos, porém não descreveram qual anormalidade cromossômica estava associada a esse diagnóstico. A trissomia do cromossomo 18 e a trissomia do cromossomo 13 foram observadas em 15 e seis pacientes, respectivamente. Anormalidades cromossômicas envolvendo os cromossomos sexuais foram observadas em três pacientes. Contudo, nesse estudo os pacientes não foram classificados como sindrômicos ou não.

Em 1994, Hanna e cols. avaliaram, utilizando um banco de dados, 388 pacientes com cardiopatia congênita. Nesse estudo retrospectivo foram incluídas crianças com até sete anos de idade, com o diagnóstico de cardiopatia realizado por cateterismo, cirurgia ou autópsia. Dos pacientes avaliados, 12 indivíduos (3%) apresentavam anormalidade cromossômica, porém os autores não deixam claro quais seriam essas alterações. Além disso, a classificação dos pacientes em sindrômico ou não, não foi realizada.

Goodship e cols. (1998), em seu estudo prospectivo, avaliaram 207 crianças atendidas pelo departamento de cardiologia pediátrica de um hospital de uma cidade da Inglaterra entre os anos de 1994 e 1995. Deste total, 173 foram submetidos ao cariótipo. Alterações cromossômicas foram observadas em 21 pacientes (12,1%), das quais a maioria se caracterizava por ser uma alteração do tipo numérica (90,5%). Dentre as alterações numéricas, destacaram-se a trissomia livre do cromossomo 21 (n= 15), a monossomia do cromossomo X (n= 2) e a trissomia livre do cromossomo 18 (n= 1). Nesse

estudo os pacientes também não chegaram a ser classificados como sindrômicos ou não.

Um ano depois, Grech e Gatt (1999) estudaram, retrospectivamente, 231 pacientes com cardiopatia congênita em Malta. Nesse estudo foram incluídas crianças com até um ano de idade com diagnóstico de cardiopatia congênita confirmado por ecocardiografia, cateterismo, cirurgia ou autópsia. Os autores observaram que 21 crianças (9%) apresentavam anormalidades cromossômicas, sendo que 20 desses pacientes (95,2%) apresentavam alteração do tipo numérica. Nesse estudo, os autores classificaram os indivíduos como sindrômicos, correspondendo estes a 11% do total da amostra. O trabalho não especifica, contudo, se esta classificação foi realizada por um médico geneticista clínico.

Meberg e cols. (2000), em um estudo retrospectivo realizado na Noruega, avaliaram 360 indivíduos com idade até 18 anos entre os anos de 1982 e 1996. Esses pacientes realizaram confirmação de cardiopatia congênita por ecocardiografia, cateterismo, cirurgia ou autópsia. Alterações cromossômicas foram observadas em 24 pacientes (6,7%), sendo a maioria delas (83,3%) alterações cromossômicas numéricas. Dentre as alterações numéricas observadas, 15 pacientes apresentavam trissomia livre do cromossomo 21, três trissomia livre do cromossomo 18, um trissomia livre do cromossomo X e outro monossomia do mesmo cromossomo. Com relação às alterações cromossômicas estruturais, observou-se em dois pacientes a deleção do braço curto do cromossomo 4 e em um paciente a deleção do braço curto do cromossomo 5. Os pacientes deste estudo não foram classificados em sindrômicos ou não.

No Irã, em 2002, Roodpeyma e cols. realizaram um estudo retrospectivo, avaliando 346 pacientes com cardiopatia congênita com idade até 14 anos. O diagnóstico da alteração cardíaca foi realizado por exame físico, ecocardiografia ou cateterismo. Neste estudo, os autores classificaram os pacientes em sindrômicos, os quais representaram 10% do total da amostra. Alterações cromossômicas foram observadas em 31 pacientes (9%), sendo que todos apresentaram alterações cromossômicas do tipo numérica. Desses pacientes, 30 apresentavam trissomia livre do cromossomo 21 e um trissomia livre do cromossomo 18.

No estudo de Bosi e cols. (2003) foram coletados os dados do *Emilia-Romagna Congenital Malformation Registry* (IMER), que faz parte do *European Registry of Congenital Anomalies and Twins* (EUROCAT). Os autores investigaram, de forma retrospectiva, 2.442 nascidos vivos com cardiopatia congênita, no período de 1980 a 2000, na região de Emilia-Romagna, na Itália. O diagnóstico da cardiopatia foi realizado por exame físico, ecocardiografia, cateterismo, cirurgia ou autópsia. Cerca de um quarto da amostra (23,5%) foi classificada como sindrômica. Dos 2.442 pacientes com cardiopatia congênita, 222 deles (9,1%) apresentavam uma alteração cromossômica, sendo que em 198 era do tipo numérica (89,2%). As anormalidades numéricas mais frequentemente descritas foram a trissomia livre do cromossomo 21 (n= 168), a trissomia livre do cromossomo 18 (n= 14), a trissomia livre do cromossomo 13 (n= 7) e a monossomia do cromossomo X (n= 9).

Em 2003, Calzolari e cols. realizaram um estudo retrospectivo com 1.549 nativos ou natimortos (com pelo menos 28 semanas de gestação) com cardiopatia congênita, na mesma região da Itália que o estudo anteriormente

descrito, realizado por Bosi e cols. (2003). Os dados foram obtidos também a partir do IMER. O diagnóstico da cardiopatia foi confirmado através de ecocardiografia, cirurgia, cateterismo ou autópsia. Do total de 1.549 nativos ou natimortos, apenas 300 foram submetidos ao exame de cariótipo. Anormalidades cromossômicas foram observadas em 152 indivíduos (9,8%). Dentre as alterações observadas, 132 (86,8%) eram numéricas, sendo que se destacou a trissomia livre do cromossomo 21 (n= 115), a trissomia livre do cromossomo 18 (n= 11) e a trissomia do cromossomo 13 (n= 6). Neste estudo 25,8% dos pacientes foram classificados como sindrômicos.

Ainda no mesmo ano, Harris e cols. (2003) estudaram a associação entre os tipos de defeitos cardíacos e as anormalidades cromossômicas em uma amostra envolvendo pacientes dos EUA, França e Suécia. Esse estudo foi conduzido de forma retrospectiva, avaliando registros de 12.932 casos de natimortos e crianças com até um ano de idade com diagnóstico de cardiopatia congênita realizado por ecocardiografia, cirurgia, cateterismo ou autópsia. Foram observadas alterações cromossômicas em 2.334 casos (18%), sendo que a grande maioria (n= 2.151) era do tipo numérica. Destas alterações, 305 consistiram de trissomia livre do cromossomo 18, 147 da trissomia livre do cromossomo 13, 34 de monossomia do cromossomo X, 7 de síndrome de Klinefelter e 6 de triploidia. Os autores não classificaram os indivíduos da amostra em sindrômicos ou não.

No trabalho retrospectivo utilizando um grupo controle, realizado por Amorim e cols. (2008), foram investigados 277 nativos com cardiopatia congênita, diagnosticados entre 1990 e 2003, em um hospital universitário de Minas Gerais, no Brasil. A cardiopatia foi confirmada por ecocardiografia pós-

natal ou autópsia. Na avaliação dos pacientes, 23,1% foram classificados como sindrômicos. De todos os pacientes com cardiopatia, 64 (23,1%) apresentavam alteração no cariótipo, sendo que em 79,7% (n= 51) era do tipo numérica. Os autores descreveram que 31 pacientes apresentavam síndrome de Down, porém não mencionaram o tipo de alteração cromossômica que levou a esse diagnóstico. Por outro lado, 16 apresentavam trissomia livre do cromossomo 18, três a trissomia livre do cromossomo 13 e um paciente, monossomia do cromossomo X.

No trabalho retrospectivo de Dadvand e cols. (2009) foram estudados 5.715 casos com cardiopatia congênita no período de 1985 a 2003 na Inglaterra. Este estudo incluiu abortos, nativos e natimortos. O diagnóstico de cardiopatia congênita foi realizado por ecocardiografia, cirurgia, cateterismo ou autópsia. Os autores não classificaram os indivíduos em sindrômicos ou não. De todos os indivíduos avaliados, 665 (11,6%) apresentavam alguma alteração cromossômica, sendo que destes, 365 consistiram em trissomia livre do cromossomo 21, 80 em trissomia livre do cromossomo 18 e 32 em trissomia do cromossomo 13.

Dois anos após, Hartman e cols. (2011) realizaram um estudo retrospectivo, na região metropolitana de Atlanta, nos EUA, avaliando registros de 1994 a 2005. Nesse estudo foram incluídos 4.430 indivíduos (que incluíram abortos, nativos e natimortos) com diagnóstico de cardiopatia congênita. Os autores não mencionaram a classificação em sindrômico ou não. Do total de casos, 480 apresentavam alteração cromossômica, representando 10,8% do total da amostra. Os autores observaram que 418 indivíduos (89,2%) apresentavam alterações cromossômicas do tipo numérica, sendo as mais

observadas a trissomia livre do cromossomo 21 (n= 289), a trissomia livre do cromossomo 18 (n= 73), a trissomia livre do cromossomo 13 (n= 31), a monossomia do cromossomo X (n= 6), a síndrome de Klinefelter (n= 4) e a triploidia (n= 1). Com relação às alterações estruturais, estas foram observadas em 62 indivíduos (10,8%). Dois deles consistiram de casos de isocromossomo do braço longo do cromossomo 21, compatíveis com o diagnóstico de síndrome de Down, e um de deleção do braço curto do cromossomo 4.

Ressaltamos que, nos estudos descritos anteriormente, não houve algum que avaliou do mesmo modo todos os pacientes. Apesar da classificação de sindrômico ou não observada em alguns estudos, em nossa revisão bibliográfica não encontramos trabalhos que descreveram a realização de exame físico dismorfológico por um geneticista clínico. A Tabela 4 resume as características principais desses trabalhos.

Tabela 4. Comparação entre os diferentes estudos descritos na literatura mundial.

Autor e ano de publicação	Ferencz e cols., 1989	Stoll e cols., 1989	Pradat 1992	Hanna e cols., 1994	Goodship e cols., 1998	Grech e Gatt, 1999	Meberg e cols., 2000	Roodpeyma e cols., 2002	Bosi e cols., 2003	Calzolari e cols., 2003	Harris e cols., 2003	Amorim e cols., 2008	Daadvand e cols., 2009	Hartman e cols., 2011
Delineamento	R	R	R	R	P	R	R	R	R	R	R	R	R	R
Período	1981-86	1979-86	1981-86	1974-78	1994-95	1990-94	1982-96	1995-2000	1980-2000	1980-94	1981-92	1990-2003	1985-2003	1994-2005
Local	EUA	França	Suécia	Irlanda do Norte	Inglaterra	Malta	Noruega	Irã	Itália	Itália	EUA, França, Suécia	Brasil	Inglaterra	EUA
N total	2.102	801	1.605	388	207	231	360	346	2.442	1.549	12.932	277	5.715	4.430
N com cariótipo	ND	153	ND	ND	173	ND	ND	ND	ND	300	ND	ND	ND	ND
Idade	Até 1 ano	ABOs, NVs e NMs	NMs e NVs até 6 meses	Até 7 anos	Crianças	Até 1 ano	Até 18 anos	Até 14 anos	Até 2 anos	NMS e RN	NMs e NVs até 1 ano	RNs	ABOs, NMs e NVs	ABOs, NMs e NV
Diagnóstico cardiológico	ECO, CAT, CIR ou AUT	ECO, CAT, CIR ou AUT	ECO, CAT, CIR ou AUT	CAT, CIR ou AUT	ND	ECO, CAT, CIR ou AUT	ECO, CAT, CIR ou AUT	EF, ECO, CAT	EF, ECO, CAT, CIR ou AUT	ECO, CIR ou AUT	ECO, CAT, CIR ou AUT	ECO, AUT	ECO, CAT, CIR ou AUT	ND
Classificação em síndromico (%)	-	-	-	-	-	11	-	10	23,5	25,8	-	23,1	-	-
Alteração cromossômica total (N) (%)	271 (12,9)	72 (9)	202 (13)	12 (3)	21 (12,1)	21 (9)	24 (6,7)	31 (9)	222 (9,1)	152 (9,8)	2.334 (18)	64 (23,1)	665 (11,6)	480 (10,8)
Alterações numéricas (%)	259 (95,6)	69 (95,8)	ND	ND	19 (90,5)	20 (95,2)	20 (83,3)	31 (100)	198 (89,2)	132 (86,8)	2.151 (92,2)	51 (79,7)	ND	418 (89,2)
+21	ND	ND	ND	ND	15	ND	15	30	168	115	ND	ND	365	289
+18	17	15	15	ND	1	1	3	1	14	11	305	16	80	73
+13	16	7	6	ND	-	-	-	-	7	6	147	3	32	31
45,X	7	1	ND	ND	2	-	1	-	9	ND	34	1	ND	6
Síndrome de Klinefelter	-	-	-	ND	-	-	-	-	-	ND	7	ND	ND	4
Triploidia	-	-	-	ND	-	-	-	-	-	ND	6	ND	ND	1
Outras	1	46	ND	ND	1	19	1	-	-	ND	ND	ND	ND	14
Alterações estruturais (%)	12 (4,4)	3 (4,2)	ND	ND	2 (9,5)	1 (4,8)	4 (16,7)	-	-	ND	ND	ND	ND	62 (10,8)
del(4p)	ND	1	ND	ND	-	-	2	-	ND	ND	ND	ND	ND	1
del(5p)	ND	1	ND	ND	-	-	1	-	ND	ND	ND	ND	ND	-
i(21q)	ND	-	ND	ND	-	-	-	-	ND	ND	ND	ND	ND	2
Outras	ND	1	ND	ND	2	1	1	-	ND	ND	ND	ND	ND	59

R: retrospectivo; P: prospectivo; ND: não descrito; EUA: Estados Unidos da América; N: número de pacientes; %: percentual de pacientes; ABOs: abortos; NVs: nativos; NMs: recém-nascidos; EF: exame físico; ECO: ecocardiografia; CAT: cateterismo; CIR: cirurgia; AUT: autópsia; -: ausente; +21: trissomia livre do cromossomo 21; +18: trissomia livre do cromossomo 18; +13: trissomia livre do cromossomo 13; 45,X: monossomia do cromossomo X; del(4p): deleção do braço curto do cromossomo 4; del(5p): deleção do braço curto do cromossomo 5; i(21q): síndrome de Down secundária a isocromossomo do braço longo do cromossomo 21

#### **1.4. Importância da identificação de anormalidades cromossômicas entre pacientes com cardiopatia congênita**

Como vimos pelos trabalhos constantes na Tabela 4, anormalidades cromossômicas identificadas através do cariótipo são frequentes entre indivíduos portadores de cardiopatia congênita. Na média, cerca de um em cada 10 pacientes possui uma alteração cromossômica, o que salienta a importância da realização do exame de cariótipo nesta população.

Sabe-se que pacientes com cardiopatia congênita portadores de anormalidades cromossômicas frequentemente apresentam malformações extracardíacas associadas, sendo que isso faz com que esses indivíduos tenham um maior risco de morbidade e mortalidade, tornando a cirurgia cardíaca ainda mais arriscada (Grech e Gatt, 1999; Marino e Digilio, 2000; Begić e cols., 2003; Clark, 2004; Meberg e cols., 2007; Gonzalez e cols., 2009). Além disso, esses pacientes podem necessitar de procedimento cirúrgico ou intensivo clínico independentemente da doença cardíaca (Grech e Gatt, 1999). Assim, nestes casos, usualmente há necessidade de uma avaliação e acompanhamento multidisciplinar, envolvendo não só as áreas da Cardiologia e da Genética Médica. Isto é fundamental para o adequado diagnóstico e manejo dos pacientes.

A importância de se estabelecer um diagnóstico preciso para a etiologia da cardiopatia congênita reside também no fato de que as famílias necessitam de aconselhamento genético com informação acurada sobre os riscos de recorrência (Prasad e Chudley, 2002). Estudos mais antigos sobre a

recorrência da doença cardíaca congênita sugeriam uma herança multifatorial (Marino e Digilio, 2000; Gill e cols., 2003), pois simplesmente mensuravam a agregação familiar e não distinguiram entre os fatores genéticos e não genéticos que poderiam contribuir para um risco aumentado para os familiares (Maestri e cols., 1989). No caso das alterações cromossômicas, a sua identificação e definição são de extrema importância, pois dependendo do tipo de anormalidade observada pode haver necessidade de avaliação também de outros membros da família e um risco aumentado de recorrência para a prole. Desta forma, como alterações cromossômicas são frequentes dentro da população de pacientes com cardiopatia congênita, a avaliação cariotípica dos mesmos possui uma grande importância para o adequado aconselhamento genético da família (Blue e cols., 2012).

Assim, esse trabalho visou determinar a frequência, os tipos e as características clínicas de anormalidades cromossômicas identificadas através do cariótipo de alta resolução entre pacientes com cardiopatia congênita hospitalizados em uma unidade de tratamento intensivo (UTI) cardíaca de um hospital pediátrico de referência do Sul do Brasil.

## 1.5. Referências Bibliográficas

Acharya G, Sitras V, Maltau JM, Dahl LB, Kaaresen PI, Hanssen TA, *et al.* Major congenital heart disease in Northern Norway: shortcomings of pre- and postnatal diagnosis. *Acta Obstet Gynecol Scand.* 2004;83(12):1124-9.

Amorim LF, Pires CA, Lana AM, Campos AS, Aguiar RA, Tibúrcio JD, *et al.* Presentation of congenital heart disease diagnosed at birth: analysis of 29,770 newborn infants. *J Pediatr (Rio J).* 2008;84(1):83-90.

Anderson RN, Smith BL. Deaths: Leading causes for 2002. *Natl Vital Stat Rep.* 2005;53(17):1-92.

Begić H, Tahirović H, Mesihović-Dinarević S, Ferković V, Atić N, Latifagić A. Epidemiological and clinical aspects of congenital heart disease in children in Tuzla Canton, Bosnia-Herzegovina. *Eur J Pediatr.* 2003;162(3):191-3.

Bejjani BA, Shaffer LG. Clinical utility of contemporary molecular cytogenetics. *Annu Rev Genomics Hum Genet.* 2008;9:71-86.

Blue GM, Kirk EP, Sholler GF, Harvey RP, Winlaw DS. Congenital heart disease: current knowledge about causes and inheritance. *Med J Aust.* 2012;197(3):155-9.

Bosi G, Garani G, Scorrano M, Calzolari E; IMER Working Party. Temporal variability in birth prevalence of congenital heart defects as recorded by a general birth defects registry. *J Pediatr.* 2003;142(6):690-8.

Brasil, Ministério da Saúde, DATASUS. Sistema de informações sobre mortalidade, 2008. Disponível em: <http://tabnet.datasus.gov.br>. Acessado em: 19 de Julho de 2013.

Brewer C, Holloway S, Zawalnyski P, Schinzel A, FitzPatrick D. A chromosomal deletion map of human malformations. *Am J Hum Genet.* 1998;63(4):1153-9.

Calzolari E, Garani G, Cocchi G, Magnani C, Rivieri F, Neville A, *et al.* IMER Working Group. Congenital heart defects: 15 years of experience of the Emilia-Romagna Registry (Italy). *Eur J Epidemiol.* 2003;18(8):773-80.

Caspersson T, Zech L, Johansson C. Differential binding of alkylating fluorochromes in human chromosomes. *Exp Cell Res.* 1970;60(3):315-9.

Clark EB. Evolution, genetics, and the etiology of congenital cardiovascular malformations. *J Pediatr.* 2004;144(4):416-7.

Dadvand P, Rankin J, Shirley MD, Rushton S, Pless-Mullooli T. Descriptive epidemiology of congenital heart disease in Northern England. *Paediatr Perinat Epidemiol*. 2009;23(1):58-65.

Dave BJ, Sanger WG. Role of cytogenetics and molecular cytogenetics in the diagnosis of genetic imbalances. *Semin Pediatr Neurol*. 2007;14(1):2-6.

Dolk H, Loane M, Garne E, European Surveillance of Congenital Anomalies (EUROCAT) Working Group. Congenital heart defects in Europe prevalence and perinatal mortality, 2000 to 2005. *Circulation*. 2011;123(8):841-9.

Emmanouilides GC, Allen HD, Riemenschneider TA, Gutgesell HP. Moss e Adams' doenças do coração na criança e no adolescente. Rio de Janeiro: MEDSI; 2000.

Fahed AC, Gelb BD, Seidman JG, Seidman CE. Genetics of congenital heart disease: the glass half empty. *Circ Res*. 2013;112(4):707-20.

Ferencz C, Neil CA, Boughman JA, Rubin JD, Brenner JI, Perry LW. Congenital cardiovascular malformations associated with chromosome abnormalities: an epidemiologic study. *J Pediatr*. 1989;114(1):79-86.

Ferencz C, Rubin JD, McCarter RJ, Brenner JI, Neill CA, Perry LW, *et al*. Congenital heart disease: prevalence at livebirth. The Baltimore-Washington Infant Study. *Am J Epidemiol*. 1985;121(1):31-6.

Gartler SM. The chromosome number in humans: a brief history. *Nat Rev Genet*. 2006;7(8):655-60.

Gill HK, Splitt M, Sharland GK, Simpson JM. Patterns of recurrence of congenital heart disease: an analysis of 6,640 consecutive pregnancies evaluated by detailed fetal echocardiography. *J Am Coll Cardiol*. 2003;42(5):923-9.

Goldmuntz E. The epidemiology and genetics of congenital heart disease. *Clin Perinatol*. 2001;28(1):1-10.

Gonzalez JH, Shirali GS, Atz AM, Taylor SN, Forbus GA, Zybiewski SC, *et al*. Universal screening for extracardiac abnormalities in neonates with congenital heart disease. *Pediatr Cardiol*. 2009;30(3):269-73.

Goodship J, Cross I, Liling J, Wren C. A population study of chromosome 22q11 deletions in infancy. *Arch Dis Child*. 1998;79(4):348-51.

Gorlin RJ, Cohen MM, Levin LS. Syndromes of the head and neck. New York: Oxford University Press; 2001.

Gouas L, Goumy C, Véronèse L, Tchirkov A, Vago P. Gene dosage methods as diagnostic tools for the identification of chromosome abnormalities. *Pathol Biol (Paris)*. 2008;56(6):345-53.

Grech V, Gatt M. Syndromes and malformations associated with congenital heart disease in a population-based study. *Int J Cardiol*. 1999;68(2):151-6.

Grech V. The evolution of diagnostic trends in congenital heart disease: a population-based study. *J Paediatr Child Health*. 1999;35(4):387-91.

Guitti JC. Epidemiological characteristics of congenital heart diseases in Londrina, Paraná south Brazil. *Arq Bras Cardiol*. 2000;74(5):395-404.

Hagemann LL, Zielinsky P. Rastreamento populacional de anormalidades cardíacas fetais por ecocardiografia pré-natal em gestações de baixo risco no município de Porto Alegre. *Arq Bras Cardiol*. 2004;82(4):313-9.

Hanna EF, Norman CN, Nelson J. Genetic study of congenital heart defects in Northern Ireland (1974-1978). *J Med Genet*. 1994;31(11):858-63.

Harris JA, Francannet C, Pradat P, Robert E. The epidemiology of cardiovascular defects, part 2: a study based on data from three large registries of congenital malformations. *Pediatr Cardiol*. 2003;24(3):222-35.

Hartman RJ, Rasmussen SA, Botto LD, Riehle-Colarusso T, Martin CL, Cragan JD, *et al*. The contribution of chromosomal abnormalities to congenital heart defects: a population-based study. *Pediatr Cardiol*. 2011;32(8):1147-57.

Hoffman JI, Kaplan S. The incidence of congenital heart disease. *J Am Coll Cardiol*. 2002;39(12):1890-900.

Hoyme HE. Minor anomalies: diagnostic clues to aberrant human morphogenesis. *Genetica*. 1993;89:307-15.

Jauch A, Daumer C, Lichter P, Murken J, Schroeder-Kurth T, Cremer T. Chromosomal "in situ" suppression hybridization of human gonosomes and autosomes and its use in clinical cytogenetics. *Hum Genet*. 1990;85(2):145-50.

Jenkins KJ, Correa A, Feinstein JA, Botto L, Britt AE, Daniels SR, *et al*. American Heart Association Council on Cardiovascular Disease in the Young. Noninherited risk factors and congenital cardiovascular defects: current knowledge: a scientific statement from the American Heart Association Council on Cardiovascular Disease in the Young: endorsed by the American Academy of Pediatrics. *Circulation*. 2007;115(23):2995-3014.

Jones KL. Smith's recognizable patterns of human malformation. Philadelphia: Elsevier Saunders; 2006.

Kallionemi A, Kallionemi O-P, Sudar D, Rutowitz D, Gray JW, Waldman FM, *et al.* Comparative genomic hybridization for molecular cytogenetic analysis of solid tumors. *Science*. 1992;258(5083):818-21.

Kapil D, Bagga A. The profile and outcome of patients admitted to a pediatric intensive care unit. *Indian J Pediatr*. 1993;60(1):5-10.

Kramer HH, Majewski F, Trampisch HJ, Rammos S, Bourgeois M. Malformation patterns in children with congenital heart disease. *Am J Dis Child*. 1987;141(7):789-95.

Kuciene R, Dulskiene V. Selected environmental risk factors and congenital heart defects. *Medicina (Kaunas)*. 2008;44(11):827-32.

Lejeune J, Gautier M, Turpin R. Étude des chromosomes somatiques de neuf enfants mongoliens. *C R Hebd Seances Acad Sci*. 1959;248(11):1721-2.

Maestri NE, Beaty TH, Boughman JA. Etiologic heterogeneity in the familial aggregation of congenital cardiovascular malformations. *Am J Hum Genet*. 1989;45(4):556-64.

Manning N, Kaufman L, Roberts P. Genetics of cardiological disorders. *Semin Fetal Neonatal Med*. 2005;10(3):259-69.

Marino B, Digilio MC. Congenital heart disease and genetic syndromes: specific correlation between cardiac phenotype and genotype. *Cardiovasc Pathol*. 2000;9(6):303-15.

Meberg A, Hals J, Thaulow E. Congenital heart defects – chromosomal anomalies, syndromes and extracardiac malformations. *Acta Paediatrica*. 2007;96(8):1142-5.

Meberg A, Otterstad JE, Froland G, Lindberg H, Sorland SJ. Outcome of congenital heart defects – a population-based study. *Acta Paediatr*. 2000;89(11):1344-51.

Merks JH, van Karnebeek CD, Caron HN, Hennekam RC. Phenotypic abnormalities: terminology and classification. *Am J Med Genet A*. 2003;123A(3):211-30.

Mitchell SC, Korones SB, Berendes HW. Congenital heart disease in 56,109 births. Incidence and natural history. *Circulation*. 1971;43(3):323-32.

Nowell, Peter C. Phytohemagglutinin: an initiator of mitosis in cultures of normal human leukocytes. *Cancer Res*. 1960;20:462-6.

Pedra CA, Haddad J, Pedra SF, Peirone A, Pilla CB, Marin-Neto JA. Paediatric and congenital heart disease in South America: an overview. *Heart*. 2009;95(17):1385-92.

Pinto VC Jr, Daher CV, Sallum FS, Jatene MB, Croti UA. Situação das cirurgias cardíacas congênitas no Brasil. *Braz J Cardiovasc Surg*. 2004;19(2):3-6.

Pradat P. Epidemiology of major congenital heart defects in Sweden, 1981-1986. *J Epidemiol Community Health*. 1992;46(3):211-5.

Prasad C, Chudley AE. Genetics and cardiac anomalies: the heart of the matter. *Indian J Pediatr*. 2002;69(4):321-32.

Ransom J, Srivastava D. The genetics of cardiac birth defects. *Semin Cell Dev Biol*. 2007;18(1):132-9.

Richmond S, Wren C. Early diagnosis of congenital heart disease. *Semin Neonatol*. 2001;6(1):27-35.

Robinson A, Linden MG. *Clinical genetic handbook*. Boston: Blackwell Scientific Publications, 1993.

Roodpeyma S, Kamali Z, Afshar F, Naraghi S. Risk factors in congenital heart disease. *Clin Pediatr*. 2002;41(9):653-8.

Rosa RFM, Roman T, Paskulin GA. Incidência e caracterização clínica de pacientes com cardiopatia congênita que internam na Unidade de Tratamento Intensivo Cardiológica do Hospital da Criança Santo Antônio e detecção da síndrome de deleção 22q11.2 através de exame de cariótipo sincronizado e de técnica de hibridização in situ fluorescente (FISH) [dissertação]. Porto Alegre (RS): Fundação Faculdade Federal de Ciências da Saúde de Porto Alegre; 2007.

Rothstein P, Johnson P. Pediatric intensive care: factors that influence outcome. *Crit Care Med*. 1982;10(1):34-7.

Schröck E, du Manoir S, Veldman T, Schoell B, Wienberg J, Ferguson-Smith MA, *et al*. Multicolor spectral karyotyping of human chromosomes. *Science*. 1996;237(5274):494-7.

Shaffer LG, Bejjani BA. A cytogeneticist's perspective on genomic microarrays. *Hum Reprod Update*. 2004;10(3):221-6.

Shaffer LG, Bejjani BA. Medical applications of array CGH and the transformation of clinical cytogenetics. *Cytogenet Genome Res*. 2006;115(3-4):303-9.

Smeets DF. Historical prospective of human cytogenetics: from microscope to microarray. *Clin Biochem*. 2004;37(6):439-46.

Speicher MR, Ballard SG, Ward DC. Karyotyping human chromosomes by combinatorial multi-fluor FISH. *Nature Genet*. 1996;12(4):368-75.

Stoll C, Alembik Y, Roth MP, Dott B, De Geeter B. Risk factors in congenital heart disease. *Eur J Epidemiol*. 1989;5(3):382-91.

Stumm M, Tönnies H, Wieacker PF. Molecular cytogenetic techniques for the diagnosis of chromosomal abnormalities in childhood disease. *Eur J Pediatr*. 1999;158(7):531-6.

Terai M, Niwa K, Nakazawa M, Tatsuno K, Segami K, Hamada H, *et al*. Mortality from congenital cardiovascular malformations in Japan, 1968 through 1997. *Circ J*. 2002;66(5):484-8.

Thulstrup AM, Bonde JP. Maternal occupational exposure and risk of specific birth defects. *Occup Med (Lond)*. 2006;56(8):532-43.

Tjio HJ, Levan A. The chromosome numbers of man. *Hereditas*. 1956;42:1-6.

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

van der Bom T, Zomer AC, Zwinderman AH, Meijboom FJ, Bouma BJ, Mulder BJ. The changing epidemiology of congenital heart disease. *Nat Rev Cardiol*. 2011;8(1):50-60.

Yunis JJ. High resolution of human chromosomes. *Science*. 1976;191(4233):1268-70.

Yunis JJ. New chromosomes techniques in the study of human neoplasia. *Hum Pathol*. 1981;12(6):540-9.

## 2. Objetivos

Anormalidades cromossômicas identificadas através do cariótipo são frequentes entre indivíduos portadores de cardiopatia congênita, sendo identificadas em cerca de 1 em cada 10 pacientes. Sabe-se que pacientes com estas alterações frequentemente apresentam malformações extracardíacas associadas, sendo que isso pode levar a um aumento da morbidade e mortalidade.

Adicionalmente, o Serviço de Cardiologia do Hospital da Criança Santo Antônio (HCSA) é um centro de referência no Sul do Brasil na avaliação e tratamento de crianças com cardiopatia congênita. Além disso, conforme nossa revisão da literatura utilizando-se dos bancos de dados PubMed, Lilacs e Scielo, são escassos os dados referentes à frequência e à caracterização clínica de pacientes com anormalidades cromossômicas entre pacientes com cardiopatia congênita não só no Brasil, como na América Latina. Desta forma, nosso objetivo foi:

- a) Determinar a frequência de indivíduos portadores de anormalidades cromossômicas identificadas através do cariótipo de alta resolução entre pacientes com cardiopatia congênita hospitalizados em uma unidade de tratamento intensivo (UTI) cardíaca de um hospital pediátrico de referência do Sul do Brasil.
- b) Verificar os tipos de anormalidades cromossômicas observadas na amostra de pacientes com cardiopatia congênita, juntamente com as características clínicas apresentados pelos seus portadores.

### 3. Artigo científico

#### **“Anormalidades cromossômicas entre pacientes com cardiopatia congênita”**

Patrícia Trevisan

Tatiana Diehl Zen

Rafael Fabiano Machado Rosa

Juliane Nascimento da Silva

Dayane Bohn Koshiyama

Giorgio Adriano Paskulin

Paulo Ricardo Gazzola Zen

Aceito para publicação na Revista “Arquivos Brasileiros de Cardiologia”. Seguindo as normas da revista, o artigo foi enviado na língua Portuguesa, sendo que a tradução para a língua Inglesa será realizada posteriormente pela própria Revista.

**Anormalidades cromossômicas entre pacientes com cardiopatia congênita****Chromosomal abnormalities among patients with congenital heart disease**

**Título reduzido:** Anomalias cromossômicas e cardiopatias congênitas

**Palavras-chave:** cardiopatias congênitas; cariótipo; síndrome de Down; trissomia; aberrações cromossômicas.

**Keywords:** heart defects, congenital; karyotype; Down syndrome; trisomy; chromosome aberrations.

## Resumo

Fundamento: Anormalidades cromossômicas (ACs) representam um importante causa de cardiopatia congênita (CC).

Objetivo: Determinar a frequência, os tipos e as características clínicas de ACs identificadas em uma amostra prospectiva e consecutiva de pacientes com CC.

Método: Nossa amostra foi composta por pacientes com CC avaliados em sua primeira hospitalização em uma unidade de tratamento intensivo cardíaca de um hospital pediátrico de referência do Sul do Brasil. Todos os pacientes foram submetidos à avaliação clínica e citogenética, através do cariótipo de alta resolução. Os defeitos cardíacos foram classificados segundo Botto et al. Na análise estatística utilizou-se do qui-quadrado, teste exato de Fisher e *odds ratio* ( $P < 0,05$ ).

Resultados: Nossa amostra foi composta de 298 pacientes, 53,4% do sexo masculino, com idades variando de 1 dia a 14 anos. Anormalidades cromossômicas foram observadas em 50 pacientes (16,8%), sendo que 49 deles eram sindrômicos. Quanto às ACs, 44 delas (88%) eram numéricas (40 pacientes com +21, 2 com +18, 1 com triplo X e 1 com 45,X) e 6 (12%), estruturais [2 pacientes com der(14;21),+21, 1 com i(21q), 1 com dup(17p), 1 com del(6p) e 1 com add(18p)]. O grupo de CCs mais associado a ACs foi o do defeito de septo atrioventricular.

Conclusões: ACs detectadas pelo cariótipo são frequentes entre pacientes com CC. Assim, profissionais, especialmente aqueles que trabalham em Serviços de Cardiologia Pediátrica, devem estar cientes das implicações que a realização do cariótipo pode trazer tanto para o diagnóstico, tratamento e prognóstico desses pacientes como para o seu aconselhamento genético.

**Abstract**

Background: Chromosomal abnormalities (CA) are an important cause of congenital heart disease (CHD).

Objective: Determine the frequency, types and clinical characteristics of CAs identified in a sample of prospective and consecutive patients with CHD.

Method: Our sample consisted of patients with CHD evaluated in their first hospitalization in a cardiac intensive care unit of a pediatric referral hospital in the Southern Brazil. All patients underwent a clinical and cytogenetic through the high resolution karyotype. CHDs were classified according to Botto et al. Chi-square, Fisher exact test and *odds ratio* were used in the statistical analysis ( $P < 0.05$ ).

Results: Our sample consisted of 298 patients, 53.4% were male, ages ranging from 1 day to 14 years. CAs were observed in 50 patients (16.8%), and 49 of them were syndromic. As for CAs, 44 (88%) were numeric (40 patients with +21, 2 with +18, 1 with triple X and one with 45,X) and 6 (12%), structural [2 patients with der(14,21),+21, 1 with i(21q), 1 with dup(17p), 1 with del(6p) and 1 with add(18p)]. The group of CHDs more associated to CAs was atrioventricular septal defect.

Conclusions: CAs detected through karyotype are frequent among patients with CHD. Thus, professionals, especially those working in Pediatric Cardiology Services, must be aware of the implications that the performance of the karyotype can bring both to the diagnosis, treatment and prognosis and for their genetic counseling.

## Introdução

As malformações cardíacas são defeitos encontrados com uma incidência que varia de 4 a 50 por 1000 nascimentos<sup>1,2</sup>. Elas são definidas como um conjunto de alterações que acometem o coração e os grandes vasos<sup>2</sup>. Dependendo do tipo e da severidade da alteração, os pacientes poderão necessitar de diferentes intervenções<sup>3</sup>, sendo que a necessidade de hospitalização em unidades de tratamento intensivo é frequente entre os mesmos<sup>4</sup>. Além disso, estudos demonstram o grande impacto que os defeitos cardíacos congênitos apresentam com relação à mortalidade em crianças<sup>5</sup>.

A etiologia das malformações cardíacas ainda é pouco compreendida<sup>6</sup>, sendo que sua determinação é um fator bastante importante para o adequado manejo e tratamento dos pacientes. Dentre as causas conhecidas de cardiopatia congênita destacam-se as anormalidades cromossômicas<sup>7</sup>. Foi a partir da segunda metade do século XX, com o desenvolvimento de novas técnicas de cultivo celular associadas à utilização da colchicina e de soluções hipotônicas no tratamento das metáfases, que a citogenética, que é o estudo dos cromossomos, difundiu-se. Em 1970, Caspersson et al. desenvolveram uma técnica de coloração que proporcionou a identificação mais precisa de cada cromossomo através do seu padrão único de regiões de coloração mais ou menos intensa (bandas)<sup>8</sup>. Além disso, com o surgimento de técnicas de alta resolução cromossômica por Yunis<sup>9</sup> em 1981, os cromossomos puderam ser estudados em uma etapa mais precoce da mitose (pró-metáfase), fazendo com que as bandas cromossômicas pudessem ser mais detalhadas.

Vários estudos foram desenvolvidos nas últimas décadas, com o objetivo de avaliar a frequência e os tipos de alterações cromossômicas identificadas através do cariótipo entre pacientes com cardiopatia congênita. Os índices observados usualmente variam entre 3 e 18%. Contudo, a maior parte destes trabalhos são retrospectivos e

baseados em bancos de dados<sup>3,6,10-21</sup>. Além disso, chama a atenção a quase inexistência de estudos relacionados desenvolvidos na América Latina<sup>19</sup>.

Assim, o nosso estudo teve como objetivo determinar a frequência, os tipos e as características clínicas de anormalidades cromossômicas identificadas através do cariótipo de alta resolução em uma amostra prospectiva e consecutiva de pacientes com cardiopatia congênita.

## **Métodos**

### **Pacientes**

Nossa amostra foi composta pelos pacientes pertencentes aos estudos de Rosa et al.<sup>22</sup> e Zen et al.<sup>23</sup> Estes consistiram de uma coorte prospectiva e consecutiva de pacientes com cardiopatia congênita hospitalizados em uma unidade de tratamento intensivo cardíaca de um hospital pediátrico de referência do Sul do país. Foram incluídos apenas aqueles pacientes em sua primeira hospitalização. O período total de avaliação foi de 1 ano e 6 meses. Este estudo foi aprovado pelos Comitês de Ética em Pesquisa do Hospital e da Universidade. Somente foram incluídos pacientes cujos familiares consentiram em participar no estudo.

### **Protocolo Clínico**

Para cada paciente foi preenchida uma ficha de avaliação por geneticistas clínicos participantes do estudo. Isto foi realizado através de entrevista direta com os familiares, da revisão do prontuário hospitalar e da avaliação clínica dos pacientes. Em nosso estudo, foram utilizados dados gerais como sexo, idade dos pacientes, motivo da internação, procedência e aspecto sindrômico. Quanto à procedência, os

pacientes foram divididos em: procedentes de Porto Alegre (cidade onde foi desenvolvido o estudo), grande Porto Alegre, restante do Rio Grande do Sul e outros Estados. O diagnóstico sindrômico foi realizado antes do resultado da análise citogenética, e definido com base exclusivamente no exame físico, levando-se em consideração tanto dados quantitativos (número de distorções menores e maiores) como qualitativos (tipos e padrão das distorções, presença de alterações neurológicas)<sup>24</sup>.

O diagnóstico cardiológico foi obtido a partir dos resultados dos exames ecocardiográficos, cirurgia e/ou cateterismo cardíaco. As cardiopatias congênitas foram então definidas e classificadas de acordo com Botto et al.<sup>25</sup>. Além disso, as cardiopatias congênitas foram classificadas em complexas e cianóticas.

### **Estudo citogenético através do cariótipo de alta resolução**

Uma amostra de sangue foi coletada de cada paciente, sendo realizado o cariótipo de alta resolução ( $\geq 550$  bandas) conforme a técnica modificada de Yunis<sup>9</sup>. Esta técnica, diferentemente do cariótipo convencional, permite com que os cromossomos possam ser analisados em uma etapa mais precoce da mitose, na pró-metáfase, quando os cromossomos estão menos condensados. Assim, ela permite a melhor identificação de anormalidades cromossômicas estruturais menores, como pequenas deleções. Em resumo, esta técnica se baseia no procedimento de cultivo celular de linfócitos estimulados com fitohemaglutinina por 72 horas, sincronização com o uso de metotrexato/timidina e coloração por bandamento GTG. A análise das lâminas para cada caso foi realizada em microscópio Axioskop Zeiss utilizando uma contagem de 25 placas metafásicas, a qual exclui um grau de mosaicismos de até 12% para um limite de confiança de 95%<sup>26</sup>.

## **Análise Estatística**

O processamento e a análise dos dados foram realizados através dos programas SPSS para Windows (versão 18.0), Microsoft® Excel 2002 e PEPI (versão 4.0). Os testes estatísticos utilizados foram o qui-quadrado e teste exato de Fisher bicaudado para comparação de frequências e o *odds ratio* para avaliar a associação entre defeitos cardíacos e anormalidades cromossômicas. Foram considerados como significantes valores de  $P < 0,05$ .

## **Resultados**

### **Dados Gerais da Amostra**

Num período de 1 ano e 4 meses, 333 pacientes portadores de cardiopatia congênita preencheram o critério de inclusão no estudo. Porém, 31 deles não participaram do mesmo, ou por terem ido a óbito (N= 12), ou por terem tido alta hospitalar antes da aplicação do termo de consentimento informado (N= 4), ou porque os pais não consentiram em participar (N= 15). Dos 302 pacientes com consentimento, o cariótipo foi realizado com sucesso em 298, sendo que estes compuseram a nossa amostra final. Destes 298 pacientes, 159 (53,4%) eram do sexo masculino e idade variando de 1 dia de vida até 14 anos, sendo que pouco mais da metade deles (58,7%) encontrava-se no primeiro ano de vida. O principal motivo de internação foi a cirurgia cardíaca (76,2%); enquanto que entre os demais pacientes, cerca de metade o fizeram para avaliação cardiológica e metade para realização de cateterismo cardíaco.

Quanto à procedência, 13,8% eram de Porto Alegre, 21,1% da grande Porto Alegre, 55% do restante do Rio Grande do Sul e 10,1% de outros Estados. Quanto

ao exame físico, 29,5% dos pacientes foram classificados como sindrômicos. Destes, 70,5% possuíam fenótipo de uma síndrome clássica.

Os tipos anatômicos de malformação cardíaca observados encontram-se expostos na Tabela 1. A comunicação interventricular (CIV) e interatrial (CIA) foram as alterações mais frequentes, observadas cada uma em 14,8% dos casos. Segundo a classificação de Botto et al.<sup>25</sup>, o principal grupo de defeitos cardíacos observado foi o septal (29,5%) (Tabela 1). Cardiopatia complexa foi observada em 34,6% dos casos e cianótica em 35,2%.

### **Alterações cromossômicas**

Anormalidades cromossômicas foram observadas em 50 indivíduos (16,8%), sendo a trissomia livre do cromossomo 21 a mais frequente delas (N=40). Dos demais casos, 4 apresentavam alterações numéricas e 6, alterações estruturais (Figura 1, Tabelas 1 e 2). Apesar da maioria dos pacientes com alterações cromossômicas serem originários do interior do estado, não verificamos uma diferença estatisticamente significativa ( $P= 0,998$ ) quando avaliamos a presença ou não destas alterações em relação à procedência.

A maioria dos pacientes com anormalidades cromossômicas foi hospitalizada na UTI para realização de cirurgia cardíaca (76,2%) e avaliação cardiológica (11,7%). As principais características clínicas dos 50 pacientes com alterações cromossômicas encontram-se expostas nas Tabelas 1 e 2. Segundo a classificação de Botto et al.<sup>25</sup>, o grupo de defeitos cardíacos de nossa amostra mais associado a alterações cromossômicas foi o do defeito de septo atrioventricular (66,7%) (OR: 16,929; 95% IC: 7,434-38,55;  $P < 0,001$ ). As malformações septais foram frequentes (19,3%), contudo não chegaram a apresentar uma associação estatisticamente

significante (OR: 1,284; 95% IC: 0,673-2,452; P= 0,448). Os grupos dos defeitos cardíacos obstrutivos direitos e esquerdos, por outro lado, apresentaram uma associação inversa, ou seja, foram estatisticamente não associados a alterações cromossômicas. Quando se avaliou os tipos anatômicos pertencentes aos grupos classificados conforme Botto et al.<sup>25</sup> de forma separada, verificamos que os defeitos de septo atrioventricular (66,7%) (OR: 16,929; 95% IC: 7,434-38,55; P< 0,001) e os defeitos de septo ventricular (31,8%) (OR: 2,826; 95% IC: 1,368-5,839; P= 0,005) foram os mais associados com as anormalidades cromossômicas (Figura 2). Todos os casos de alteração cromossômica associados ao defeito de septo atrioventricular foram compostos de pacientes com síndrome de Down. Por outro lado, a D-transposição das grandes artérias foi estatisticamente não associada a alterações cromossômicas (nenhum dos casos deste defeito era portador da mesma) (P= 0,0310) (Tabela 1). Ao exame físico, 49 dos 50 pacientes com anormalidades cromossômicas foram considerados sindrômicos (somente a paciente com triplo X era não-sindrômica) (Tabela 2).

### **Discussão**

Em nossa revisão da literatura, utilizando-se dos bancos de dados PubMed e SciELO, identificamos 14 estudos similares ao nosso, que avaliaram a frequência e os tipos de anormalidades cromossômicas identificadas através do cariótipo entre pacientes com cardiopatia congênita<sup>3,6,10-21</sup>. Estudos como o de Schellberg et al.<sup>27</sup>, que excluíram pacientes com alterações cromossômicas frequentes (como a trissomia do cromossomo 21) da amostra, não foram incluídos na nossa análise. A grande maioria dos estudos similares foi desenvolvida nos Estados Unidos da América e na Europa. Apenas um deles (Amorim et al.<sup>19</sup>) foi realizado na América Latina e no Brasil. Contudo, chama a

atenção que, diferentemente de nós, a maior parte dos estudos (incluindo o de Amorim et al.<sup>19</sup>) foi realizada de forma retrospectiva, a partir, principalmente, de bancos de dados. Devido a isto, em muitos estudos, o cariótipo não foi realizado de forma padronizada (a sua testagem muitas vezes pareceu se limitar principalmente àqueles casos com suspeita de uma anormalidade cromossômica)<sup>11,17</sup>. Além disso, o nosso estudo foi o único onde um geneticista examinou e realizou uma classificação sindrômica dos pacientes com base nos dados do exame físico e dismorfológico (Tabela 2).

A frequência das cromossomopatias identificadas através do cariótipo em nosso estudo (16,8%) foi similar aos trabalhos de Ferencz et al.<sup>10</sup>, Pradat<sup>12</sup>, Harris et al.<sup>18</sup> e Amorim et al.<sup>19</sup>, que encontraram índices entre 12,9 e 23,1%. Diferenças significativas foram verificadas em relação aos trabalhos de Stoll et al.<sup>11</sup>, Hanna et al.<sup>13</sup>, Goodship et al.<sup>14</sup>, Grech e Gatt<sup>3</sup>, Meberg et al.<sup>15</sup>, Roodpeyma et al.<sup>6</sup>, Bosi et al.<sup>16</sup>, Calzolari et al.<sup>17</sup>, Dadvand et al.<sup>20</sup> e Hartman et al.<sup>21</sup> que apresentaram índices de 3 a 12,1% ( $P < 0,05$ ). Estes se caracterizaram por possuir amostras distintas, tanto pelo número como pelas características clínicas de seus pacientes. Em nossa amostra, a frequência de anormalidades cromossômicas não diferiu quanto à procedência dos pacientes, sugerindo que talvez não tenha havido uma seleção associada às cromossomopatias. Isto é, não houve diferença entre a frequência de pacientes com uma alteração grave advinda da capital em relação ao interior do Estado.

A síndrome de Down, especialmente através da trissomia livre do cromossomo 21, foi a anormalidade cromossômica mais observada em nossa série de pacientes (14,4%), o que é concordante com a literatura. A trissomia livre do cromossomo 18 constituiu-se na segunda alteração mais frequente e recorrente entre os pacientes com cardiopatia congênita. Outra condição frequentemente descrita nos estudos, mas

ausente em nossa amostra, foi a trissomia do cromossomo 13<sup>10-12,15-21</sup>. Quanto às alterações estruturais, somente a deleção do braço curto do cromossomo 6 foi observada também em outro estudo<sup>21</sup>. O paciente com duplicação do braço curto do cromossomo 17 foi descrito em detalhes por Paskulin et al.<sup>28</sup>. A frequência de alterações estruturais observada em nossa amostra (12%) foi similar à da maioria dos demais estudos (4,2 a 16,7%), diferindo apenas em relação a Ferencz et al.<sup>10</sup>, que encontrou uma frequência inferior (4,4%). Chama a atenção que este estudo foi o mais antigo, desenvolvido no início da década de 1980, em uma época em que a técnica de alta resolução estava sendo descrita<sup>9</sup>. Em nossa série, apesar da contagem de 25 placas metafásicas (à qual excluí um grau de mosaicismo de até 12% para um limite de confiança de 95%)<sup>26</sup>, não observamos casos de mosaicismo. Estes foram descritos em uma baixa frequência apenas nos estudos de Goodship et al.<sup>14</sup> e Hartman et al.<sup>21</sup>. Apesar disso, a frequência total de alterações cromossômicas foi inferior a de nosso estudo.

Quanto à relação das cromossomopatias com os tipos de defeitos cardíacos, observamos, de acordo com Botto et al.<sup>25</sup>, uma associação bastante significativa com o defeito do septo atrioventricular, às custas, principalmente, dos pacientes com síndrome de Down (nossa frequência foi de 66,7%). Este achado é concordante com a literatura, que descreve índices de 40 a 50%<sup>29</sup>. Assim, quando estamos diante de um paciente com defeito de septo atrioventricular, existe uma grande probabilidade (que chega a ser de cerca de 1 em 2) de que ele tenha a síndrome de Down.

Chamou-nos atenção a ausência de associação de cromossomopatias com alguns grupos de defeitos, no caso obstrutivos direitos e esquerdos (que incluem defeitos como a estenose pulmonar e a coarctação de aorta). Isoladamente, observamos isto apenas em relação a um defeito de via de saída, a D-transposição das grandes

artérias. Apesar de não termos observado uma associação entre cromossomopatias e defeitos septais, separadamente encontramos uma relação com defeitos do septo ventricular. Na literatura, anormalidades cromossômicas foram descritas em cerca de 4,6 a 18,2% dos pacientes com defeitos do septo ventricular<sup>10,17,18</sup> e em nossa amostra esta frequência foi de 31,8%.

Apesar de o nosso estudo ser o único a ter descrição de classificação sindrômica por um geneticista clínico, baseado apenas nos achados do exame físico dismorfológico dos pacientes, nossa frequência de pacientes síndrômicos (29,5%) foi similar à descrita por Calzolari et al.<sup>17</sup> e Amorim et al.<sup>19</sup>. Diferentemente de nós, nestes estudos os pacientes foram retrospectivamente divididos em síndrômicos ou não após o conhecimento do resultado da avaliação cariotípica e da presença de outras anormalidades em órgãos internos. Alterações cromossômicas são frequentes entre indivíduos síndrômicos. Em nossa amostra, somente 1 dos 50 pacientes com anormalidades cromossômicas foi considerado como não síndrômico. Este consistiu em um indivíduo com triplo X. Este achado é condizente com a literatura, uma vez que indivíduos com triplo X muitas vezes passam despercebidos em meio à população em geral, pois usualmente não apresentam achados maiores associados. Em nosso caso, não podemos descartar a possibilidade de que a associação com cardiopatia congênita possa ter sido mera coincidência, uma vez que ambas as condições são relativamente frequentes (o triplo X ocorre em 1 em 1000 nascidos vivos do sexo feminino)<sup>30</sup>.

Apesar dos avanços ocorridos na citogenética nas últimas décadas, com o desenvolvimento de técnicas moleculares como a hibridização *in situ* fluorescente (FISH) e a hibridização genômica comparativa (CGH), o cariótipo continua sendo uma ferramenta fundamental e básica dentro da avaliação genética<sup>8</sup>. Em nosso meio, ele se constitui um dos poucos exames disponíveis para a avaliação de pacientes atendidos

pelo Sistema Único de Saúde, o sistema de saúde público do Brasil. Apesar de suas limitações na detecção de pequenos rearranjos cromossômicos, como microdeleções ou microduplicações, é marcante a frequência de anormalidades cromossômicas detectadas através do cariótipo entre pacientes portadores de cardiopatia congênita. Assim, profissionais, especialmente aqueles que trabalham em Serviços de Cardiologia Pediátrica, devem estar cientes das implicações que a realização do cariótipo pode trazer tanto para o diagnóstico, tratamento e prognóstico desses pacientes como para o aconselhamento genético de suas famílias.

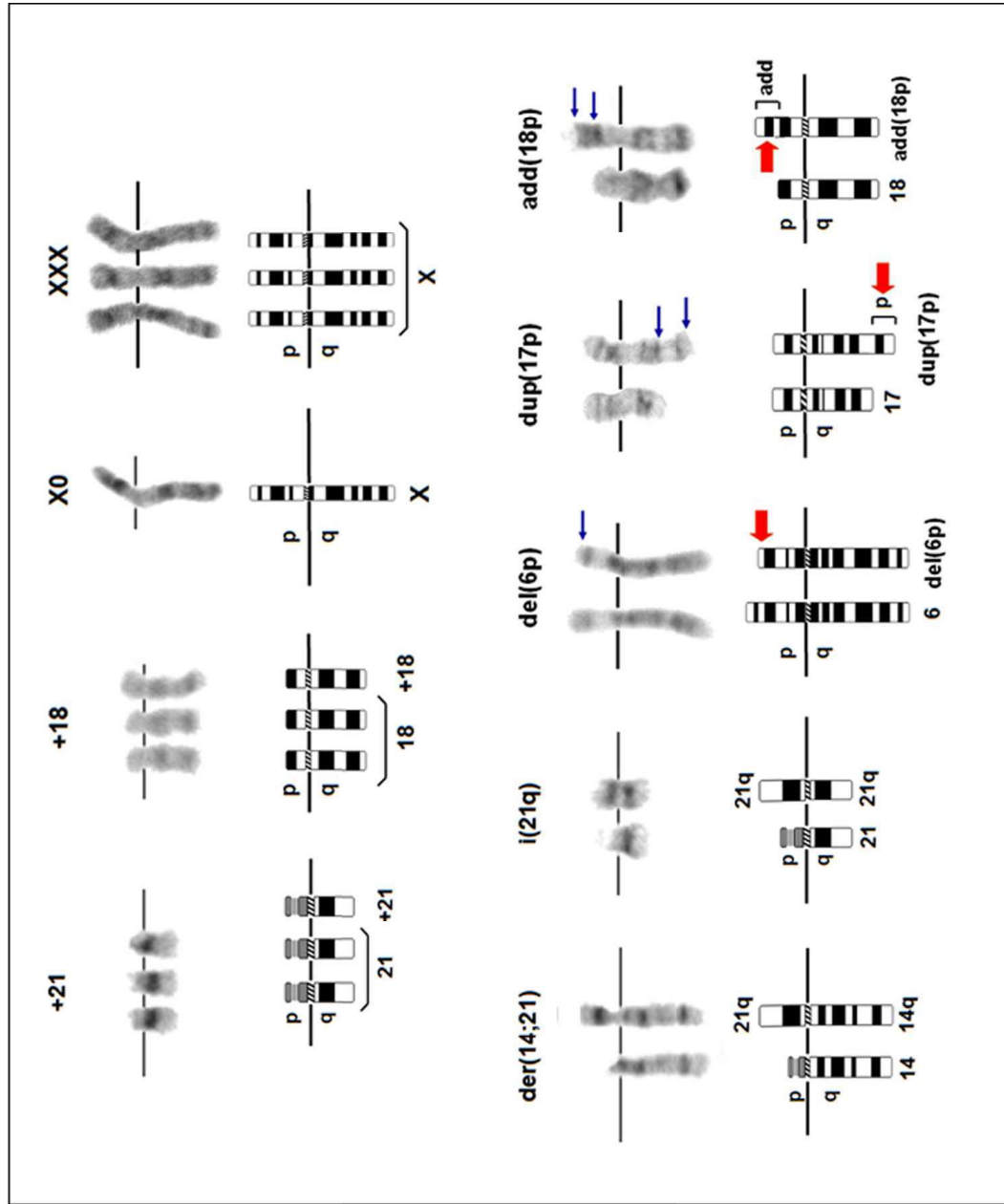


Figura 1. Cariótipos parciais por banda GTG e ideogramas das anomalias cromossômicas observadas na amostra.

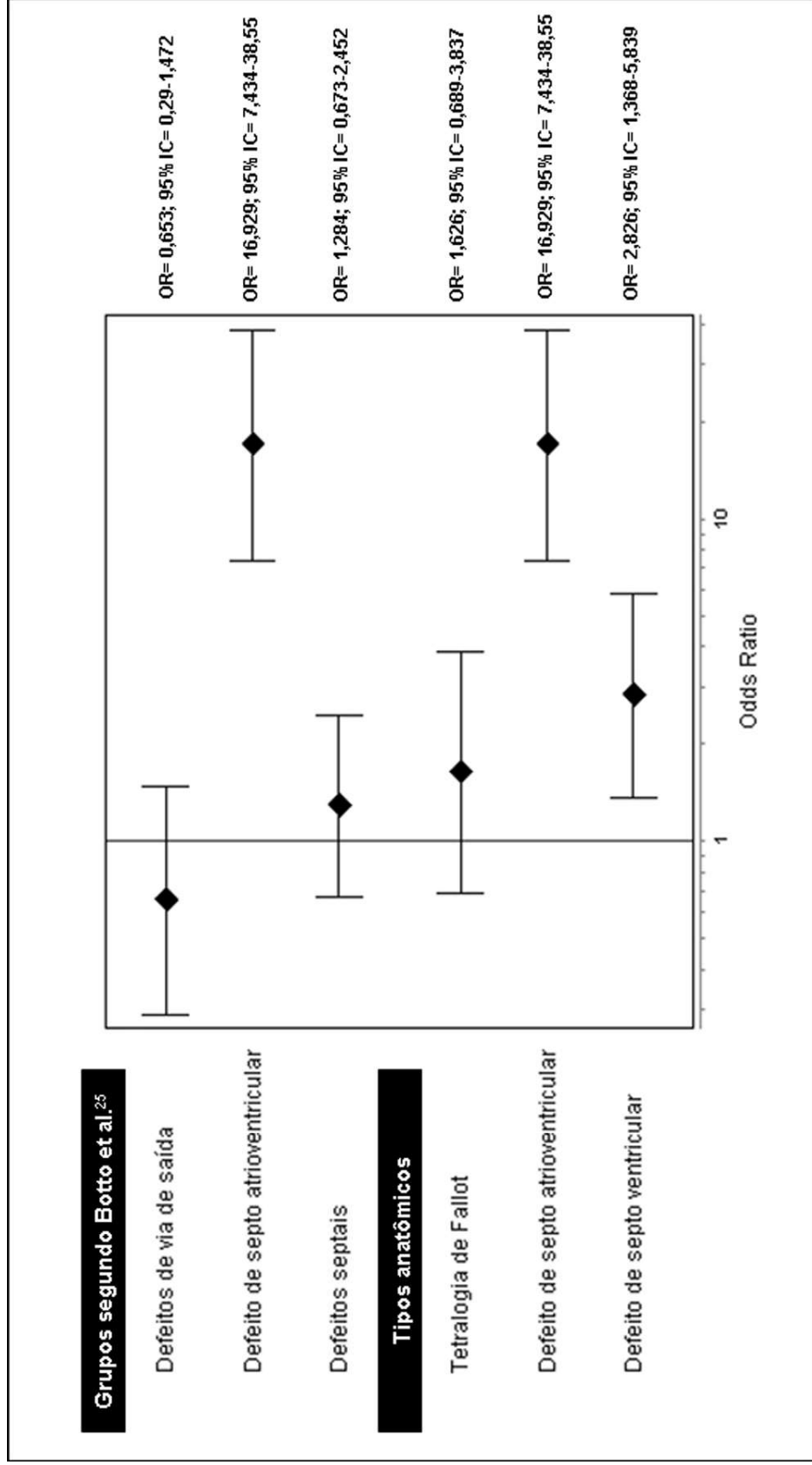


Figura 2. Gráfico mostrando os valores de *odds ratio*, com seus intervalos de confiança (95%), dos principais grupos e tipos anatômicos de defeitos cardíacos observados na amostra em relação à presença de anormalidades cromossômicas.

Tabela 1. Defeitos cardíacos congênitos, classificados segundo Botto et al.<sup>25</sup>, e achados cariotípicos observados nos pacientes da amostra.

Defeitos cardíacos	Cariótipo Normal	Alteração Cromossômica										Total	Total (%)	
		Numérica					Estrutural							
		+21	+18	XXX	45,X		dup(17p)	add(18p)	i(21q)	del(6p)	der(14;21),+21			
Defeitos de via de saída	56	6	1									1	64	21,5
Tetralogia de Fallot	(26)	(6)	(1)									(1)	(34)	
Defeito de septo atrioventricular	11	21										1	33	11,1
Anomalia de Ebstein	3	1											4	1,3
Defeitos obstructivos esquerdos	45	1		1									47	15,8
Coarctação de aorta	(28)	(1)											(29)	
Estenose de válvula aórtica	(4)			(1)									(5)	
Defeitos septais	71	11	1	1				1	1			1	88	29,5
Defeitos de septo ventricular	(30)	(9)	(1)					(1)	(1)			(1)	(44)	
Defeitos de septo atrial	(41)	(2)		(1)									(44)	
Outros defeitos cardíacos	<b>62</b>												62	20,8
<b>Total</b>	<b>248</b>	40	2	1	1	1	1	1	1	1	1	2	298	100

+21: trissomia livre do cromossomo 21; +18: trissomia livre do cromossomo 18; XXX: trissomia do cromossomo X; 45,X: monossomia do cromossomo X; der(14;21),+21: trissomia do cromossomo 21 secundária à translocação entre os cromossomos 14 e 21; i(21q): síndrome de Down secundária a isocromossomo do braço longo do cromossomo 21; dup(17p): duplicação do braço curto do cromossomo 17; del(6p): deleção do braço curto do cromossomo 6; add(18p): material adicional junto à extremidade do braço curto do cromossomo 18.

Tabela 2. Classificação quanto ao aspecto sindrômico, baseando-se somente no exame físico.

Alteração cromossômica	Síndrome Clássica	Síndrome não definida	Cardiopatía + dismorfias	Cardiopatía isolada	Total
+21	40	0	0	0	40
+18	1	1	0	0	2
XXX	0	0	1	0	1
45,X	1	0	0	0	1
der(14;21),+21	2	0	0	0	2
i(21q)	1	0	0	0	1
dup(17p)	0	1	0	0	1
del(6p)	0	1	0	0	1
add(18p)	0	1	0	0	1
Total	44	5	1	0	50

+21: trissomia livre do cromossomo 21; +18: trissomia livre do cromossomo 18; XXX: trissomia do cromossomo X; 45,X: monossomia do cromossomo X; der(14;21),+21: trissomia do cromossomo 21 secundária à translocação entre os cromossomos 14 e 21; i(21q): síndrome de Down secundária a isocromossomo do braço longo do cromossomo 21; dup(17p): duplicação do braço curto do cromossomo 17; del(6p): deleção do braço curto do cromossomo 6; add(18p): material adicional junto à extremidade do braço curto do cromossomo 18.

## Referências

1. Hoffman JI. Incidence of congenital heart disease: I. Postnatal incidence. *Pediatr Cardiol.* 1995;16(3):103-13.
2. Hoffman JI, Kaplan S. The incidence of congenital heart disease. *J Am Coll Cardiol.* 2002;39(12):1890-900.
3. Grech V, Gatt M. Syndromes and malformations associated with congenital heart disease in a population-based study. *Int J Cardiol.* 1999;68(2):151-6.
4. Kapil D, Bagga A. The profile and outcome of patients admitted to a pediatric intensive care unit. *Indian J Pediatr.* 1993;60(1):5-10.
5. Boneva RS, Botto LD, Moore CA, Yang Q, Correa A, Erickson JD. Mortality associated with congenital heart defects in the United States: trends and racial disparities, 1979-1997. *Circulation.* 2001;103(19):2376-81.
6. Roodpeyma S, Kamali Z, Ashar F, Naraghi S. Risk factors in congenital heart disease. *Clin Pediatr (Phila).* 2002;41(9):653-8.
7. Johnson MC, Hing A, Wood MK, Watson MS. Chromosome abnormalities in congenital heart disease. *Am J Med Genet.* 1997;70(3):292-8.
8. Smeets DF. Historical prospective of human cytogenetics: from microscope to microarray. *Clin Biochem.* 2004;37(6):439-46.
9. Yunis, JJ. New chromosomes techniques in the study of human neoplasia. *Hum Pathol.* 1981;12(6):540-9.
10. Ferencz C, Neil CA, Boughman JA, Rubin JD, Brenner JI, Perry LW. Congenital cardiovascular malformations associated with chromosome abnormalities: an epidemiologic study. *J Pediatr.* 1989;114(1):79-86.
11. Stoll C, Alembik Y, Roth MP, Dott B, De Geeter B. Risk factors in congenital heart disease. *Eur J Epidemiol.* 1989;5(3):382-91.

12. Pradat P. Epidemiology of major congenital heart defects in Sweden, 1981-1986. *J Epidemiol Community Health*. 1992;46(3):211-5.
13. Hanna EF, Norman CN, Nelson J. Genetic study of congenital heart defects in Northern Ireland (1974-1978). *J Med Genet*. 1994;31(11):858-63.
14. Goodship J, Cross I, Liling J, Wren C. A population study of chromosome 22q11 deletions in infancy. *Arch Dis Child*. 1998;79(4):348-51.
15. Meberg A, Otterstad JE, Frøland G, Lindberg H, Sørland SJ. Outcome of congenital heart defects--a population-based study. *Acta Paediatr*. 2000;89(11):1344-51.
16. Bosi G, Garani G, Scorrano M, Calzolari E, IMER Working Party. Temporal variability in birth prevalence of congenital heart defects as recorded by a general birth defects registry. *J Pediatr*. 2003;142(6):690-8.
17. Calzolari E, Garani G, Cocchi G, Magnani C, Rivieri F, Neville A, et al. Congenital heart defects: 15 years of experience of the Emilia-Romagna Registry (Italy). *Eur J Epidemiol*. 2003;18(8):773-80.
18. Harris JA, Francannet C, Pradat P, Robert E. The Epidemiology of cardiovascular defects, Part 2: A study based on data from three large registries of congenital malformations. *Pediatr Cardiol*. 2003;24(3):222-35.
19. Amorim LF, Pires CA, Lana AM, Campos AS, Aguiar RA, Tibúrcio JD, et al. Presentation of congenital heart disease diagnosed at birth: analysis of 29,770 newborn infants. *J Pediatr*. 2008;84(1):83-90.
20. Dadvand P, Rankin J, Shirley MD, Rushton S, Pless-Mulloli T. Descriptive epidemiology of congenital heart disease in Northern England. *Paediatr Perinat Epidemiol*. 2009;23(1):58-65.

21. Hartman RJ, Rasmussen SA, Botto LD, Riehle-Colarusso T, Martin CL, Cragan JD, et al. The contribution of chromosomal abnormalities to congenital heart defects: a population-based study. *Pediatr Cardiol.* 2011;32(8):1147-57.
22. Rosa RF, Pilla CB, Pereira VL, Flores JA, Golendziner E, Koshiyama DB, et al. 22q11.2 deletion syndrome in patients admitted to a cardiac pediatric intensive care unit in Brazil. *Am J Med Genet A.* 2008;146A(13):1655-61.
23. Zen TD, Rosa RF, Zen PR, Trevisan P, da Silva AP, Ricachinevsky CP, et al. Gestational and family risk factors for carriers of congenital heart defects in southern Brazil. *Pediatr Int.* 2011;53(4):551-7.
24. Neuhäuser G, Vogl J. Minor craniofacial anomalies in Children. Comparative study of a qualitative and quantitative evaluation. *Eur J Pediatr.* 1980;133(3):243-50.
25. Botto LD, Correa A, Erickson JD. Racial and temporal variations in the prevalence of heart defects. *Pediatrics.* 2001;107(3):E32.
26. Hook EB. Exclusion of chromosomal mosaicism: Tables of 90%, 95%, and 99% confidence limits and comments on use. *Am J Hum Genet.* 1977;29(1):94-7.
27. Schellberg R, Schwanitz G, Grävingshoff L, Kallenberg R, Trost D, Raff R, et al. New trends in chromosomal investigation in children with cardiovascular malformations. *Cardiol Young.* 2004;14(6):622-9.
28. Paskulin GA, Zen PR, Rosa RF, Manique RC, Cotter PD. Report of a child with a complete de novo 17p duplication localized to the terminal region of the long arm of chromosome 17. *Am J Med Genet A.* 2007;143A(12):1366-70.
29. Marino B, Digilio MC. Congenital heart disease and genetic syndromes: specific correlation between cardiac phenotype and genotype. *Cardiovasc Pathol.* 2000;9(6):303-15.

30. Jones KL. Smith's recognizable patterns of human malformation. 6th ed. Philadelphia, PA: Elsevier Saunders; 2006.

#### 4. Considerações finais

O presente estudo é derivado de dois projetos intitulados **“Incidência e Caracterização Clínica de Pacientes com Cardiopatia Congênita que Internam na Unidade de Tratamento Intensivo Cardiológica do Hospital Da Criança Santo Antônio e Detecção da Síndrome de Deleção 22q11.2 Através de Exame de Cariótipo Sincronizado e de Técnica de Hibridização *in situ* fluorescente (FISH)”**, e **“Identificação de fatores de risco gestacionais e familiares para cardiopatia congênita em pacientes admitidos na unidade de tratamento intensivo (UTI) de um hospital pediátrico de Porto Alegre”**, aprovados pelos Comitês de Ética em Pesquisa (CEP) da UFCSPA (Pareceres N° 153-06 e N° 666/08).

Apesar das limitações do exame do cariótipo na detecção de pequenos rearranjos cromossômicos, como microdeleções ou microduplicações, é marcante a frequência de anormalidades cromossômicas entre pacientes portadores de cardiopatia congênita. E isto pôde ser comprovado através do nosso estudo. Assim, profissionais, especialmente aqueles que trabalham em Serviços de Cardiologia Pediátrica, devem estar cientes das implicações que a realização do cariótipo pode trazer tanto para o diagnóstico, tratamento e prognóstico desses pacientes como para o aconselhamento genético de suas famílias.

O artigo científico originado do presente projeto de mestrado já foi aceito para publicação pela Revista Arquivos Brasileiros de Cardiologia (ver Anexos). Além disso, realizou-se, a partir da revisão bibliográfica utilizada na

confeção da introdução da dissertação de mestrado, um artigo de revisão que foi submetido à Revista Paulista de Pediatria, a qual é indexada ao PubMed.

Sendo assim, além do presente projeto, e também derivado do primeiro estudo descrito acima, será iniciado o desenvolvimento de uma tese de doutorado. Esta utilizará as amostras de DNA coletadas anteriormente submetendo-as a investigação utilizando a técnica de MLPA.

## 5. Anexos

## **5.1. Protocolo de análise citogenética por meio do cariótipo de alta resolução**

A. Cultivo celular com sincronização pelo método metotrexato/timidina para obtenção de cromossomos pró-metafásicos de alta resolução:

1) Cerca de 0,2 mL de sangue periférico são adicionadas a tubo de cultura descartável, estéril de 15 mL, contendo 5 mL de meio de cultura RPMI 1640, suplementado com 20% de soro fetal bovino e 50  $\mu$ L de fitohemaglutinina M e levados à estufa a 37°C por 72 horas;

2) Após 48 horas de cultivo, metotrexato é adicionado à cultura, numa concentração final de  $10^{-7}$  M levando-se à estufa por mais 14-17 horas;

3) Na manhã seguinte, o conteúdo do cultivo celular é centrifugado por 5 minutos, desprezando-se o sobrenadante;

4) As células do precipitado são ressuspensas em novo meio de cultivo, com adição de timidina, numa concentração final de  $10^{-5}$  M;

5) O cultivo é levado à estufa por mais 4 horas;

6) Adiciona-se colcemide, para uma concentração final de 0,01  $\mu$ g/mL, centrifugando-se imediatamente, por 5 minutos;

7) O sobrenadante é desprezado e o precipitado celular é ressuspenso em 10 mL de solução hipotônica de KCl (0,075M) e levado ao banho-maria a 37°C por 10 minutos;

8) São adicionados 0,5 mL de fixativo (metanol:ácido acético glacial - 3:1). Inverte-se o tubo de cultura 2-3 vezes, levando-se à centrífuga por mais 5 minutos;

9) O sobrenadante é desprezado e o precipitado é ressuspenso com toques leves no tubo, com posterior fixação das células pela adição de 5-8 mL de fixativo, misturando-se com pipeta Pasteur;

10) A amostra fixada é levada ao freezer (-20°C), onde é armazenada para posterior preparação de lâminas para coloração.

#### B. Coloração (banda GTG):

1) As lâminas preparadas com as suspensões de células cultivadas são passadas em frascos sequenciais contendo, solução tamponada de tripsina, álcool 70%, corante de Giemsa em tampão fosfato, e frascos com água destilada para lavagem das lâminas.

#### C. Análise ao microscópio:

1) A análise das lâminas de cada caso foi realizada em microscópio Axioskop Zeiss sendo que foram analisadas, no mínimo, 25 metáfases, à qual exclui um grau de mosaicismo de até 12% para um limite de confiança de 95% [Hook, 1977]. A Análise foi realizada de acordo com as normas presentes no International System for Human Cytogenetic Nomenclature (ISCN) 2005;

2) Três metáfases representativas da amostra foram microfotografadas em câmera digital;

3) As imagens foram processadas em computador, através de programa Adobe-Photoshop, com posterior montagem dos cariótipos.

**Referências**

Hook EB. Exclusion of chromosomal mosaicism: Tables of 90%, 95%, and 99% confidence limits and comments on use. *Am J Hum Genet.* 1977;29(1):94-7.

ISCN 2005. An International System for Human Cytogenetic Nomenclature. Shaffer LG, Tommerup N (eds.). Basel: S. Karger.

## **5.2. Parecer do Comitê de Ética da UFCSPA**



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO  
FUNDAÇÃO FACULDADE FEDERAL DE CIÊNCIAS MÉDICAS DE PORTO ALEGRE  
COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA

APROVADO PELA CARTA Nº 880/2004-CONEP/CNS/MS  
RUA SARMENTO LEITE, 245 – FONE: (51) 3224.8822  
CEP 90050-170 – PORTO ALEGRE – RS - cep@fffcmpa.tche.br

Of. 192/06-CEP

Porto Alegre, 13 de abril de 2006.

Ilmo. Sr.

Prof. Giorgio Adriano Paskulin


Nesta Faculdade

Senhor Professor

Informamos que seu projeto “Prevalência e Caracterização Clínica dos Pacientes que Internam na Unidade de Tratamento Intensivo Cardiológica do Hospital da Criança Santo Antônio e Detecção da Síndrome de Deleção 22q11 Através de Exame de Cariótipo Sincronizado e de Técnica de Hibridização in situ Fluorescente (FISH).”, Processo nº 048/05, foi avaliado pelo Comitê de Ética em Pesquisa, na reunião de 13 de abril de 2006, sendo o projeto aprovado, conforme parecer consubstanciado nº 153-06, em anexo.

Outrossim informamos que de acordo com o Art. 4º, letra c, do Regulamento do CEP, V. Sa. deverá nos encaminhar relatórios semestrais do desenvolvimento do projeto.

Atenciosamente,



Prof. José Geraldo Vernet Taborda  
Coordenador do CEP/FFFCMPA



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO  
FUNDAÇÃO UNIVERSIDADE FEDERAL DE CIÊNCIAS DA SAÚDE DE PORTO ALEGRE  
COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA  
RUA SARMENTO LEITE, 245 – FONE: (51) 33038804  
CEP 90050-170 – PORTO ALEGRE – RS - [cep@ffcmipa.edu.br](mailto:cep@ffcmipa.edu.br)

Of. 620/08-CEP

Porto Alegre, 14 de agosto de 2008

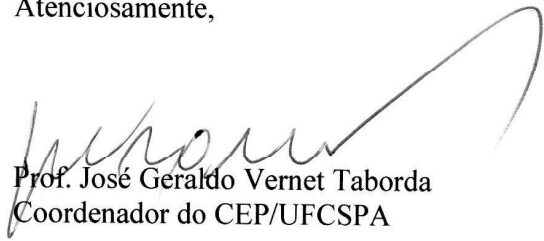
Ilmo. Sr.  
Prof. Giorgio Adriano Paskulin  
Nesta Universidade

Prezado Pesquisador

Informamos que seu projeto “Identificação de fatores de risco gestacionais e familiares para cardiopatia congênita em pacientes admitidos na unidade de tratamento intensivo do Hospital da Criança Santo Antônio”, Processo nº 382/08, foi avaliado pelo Comitê de Ética e Pesquisa, na reunião do dia 14 de agosto de 2008, sendo o projeto considerado aprovado, conforme parecer consubstanciado nº 666/08, anexo.

Outrossim, informamos que de acordo com o art. 4º, letra c do Regulamento do CEP, V.Sa. deverá nos encaminhar relatórios semestrais do desenvolvimento do projeto.

Atenciosamente,



Prof. José Geraldo Vernet Taborda  
Coordenador do CEP/UFCSPA

### **5.3. Aceite do periódico Arquivos Brasileiros de Cardiologia**

25/07/13

(5 não lidos) - patricia.trevisan - Yahoo! Mail

----- Mensagem encaminhada -----

De: "Arquivos Brasileiros de Cardiologia" <abc@cardiol.br>

Para: rfmr@terra.com.br, rosilandin@yahoo.com.br

CC: abc@cardiol.br

Assunto: Publicação de Artigos - 5405

Data: 24/06/2013 12h57min56s UTC

Prezado(a) Dr(a). Rafael Fabiano Machado Rosa

Seu artigo "Anormalidades cromossômicas entre pacientes com cardiopatia congênita", foi aprovado para publicação nos Arquivos Brasileiros de Cardiologia e deverá ser publicado oportunamente.

Cordialmente,

Os Editores

Para entrar no seu artigo clique no link abaixo:

[http://publicacoes.cardiol.br/pub\\_abc/autor/mostra\\_artigo.asp?id=5405](http://publicacoes.cardiol.br/pub_abc/autor/mostra_artigo.asp?id=5405)

#### **5.4. Certificados de apresentação em eventos**



www.cardiol.br

# Arquivos Brasileiros de CARDIOLOGIA

SOCIEDADE BRASILEIRA DE CARDIOLOGIA  
ISSN 0006-792X Volume 25, Nº 4, Supl. 3, Outubro 2012

## RESUMO DAS COMUNICAÇÕES

### SOCERGS 2012 CONGRESSO DA SOCIEDADE DE CARDIOLOGIA DO ESTADO DO RIO GRANDE DO SUL

GRAMADO - RS

**28100****Anormalidades cromossômicas entre portadores de cardiopatia congênita com necessidade de cuidados intensivos**

LUCIANO PEREIRA BENDER, RAFAEL FABIANO MACHADO ROSA, PATRÍCIA TREVISAN, DAYANE BOHN KOSHIYAMA, ALESSANDRA PAWELEC DA SILVA, JULIANE NASCIMENTO DA SILVA, CARLA GRAZIADIO, PAULO RICARDO GAZZOLAZEN, GIORGIO ADRIANO PASKULIN e ROSANA CARDOSO MANIQUE ROSA.

Hospital Materno Infantil Presidente Vargas, Porto Alegre, RS, BRASIL - Universidade Federal de Ciências da Saúde de Porto Alegre, Porto Alegre, RS, BRASIL - Complexo Hospitalar Santa Casa de Porto Alegre, Porto Alegre, RS, BRASIL.

**Fundamento:** Anormalidades cromossômicas representam um importante causa de cardiopatia congênita (CC). **Objetivo:** Determinar a incidência e os tipos de alterações cromossômicas identificados em pacientes com CC hospitalizados na Unidade de Tratamento Intensivo (UTI) cardíaca de um hospital pediátrico. **Delineamento:** Estudo prospectivo e observacional. **Pacientes e Métodos:** A avaliação foi realizada através do cariótipo de alta resolução. Foram incluídas no estudo somente crianças hospitalizadas pela primeira vez nesta UTI. **Resultados:** Do grupo inicial de 333 pacientes, 31 não entraram no estudo, ou por terem ido a óbito (n= 12) ou por terem tido alta antes da avaliação (n= 4), ou pelo fato dos pais terem optado em não participar do estudo (n= 15). Dos 302 pacientes com consentimento, em 298 o exame de cariótipo pôde ser realizado com sucesso. Destes, 152 eram do sexo masculino, idades variando entre 1 dia a 13 anos. Anormalidades cromossômicas foram observadas em 46 pacientes (15%), sendo 41 delas (89%) numéricas (37 pacientes com trissomia livre do cromossomo 21, 2 com trissomia livre do cromossomo 18, 1 com triplo X e 1 com monossomia do cromossomo X) e 5 (11%) estruturais [2 pacientes com síndrome de Down por translocação entre cromossomos 14 e 21, 1 com síndrome de Down por isocromossomo do braço longo do cromossomo 21, 1 com duplicação do braço curto do cromossomo 17 e 1 com material adicional junto ao braço curto do cromossomo 18]. O principal diagnóstico foi o de síndrome de Down (13%). **Conclusão:** Anormalidades cromossômicas são frequentes entre indivíduos com CC, sendo que nossa frequência (15%) foi similar à descrita na maior parte dos trabalhos da literatura (9 a 13%). Sua identificação tem importância tanto para o diagnóstico e o tratamento de anormalidades associadas como para o aconselhamento genético à família.

28210

**Fatores de risco gestacionais e familiares para portadores de cardiopatias congênitas no Sul do Brasil**

LUCIANO PEREIRA BENDER, RAFAEL FABIANO MACHADO ROSA, PAULO RICARDO GAZZOLA ZEN, PATRÍCIA TREVISAN, ALESSANDRA PAWELEC DA SILVA, ROSANA CARDOSO MANIQUE ROSA, JULIANE NASCIMENTO DA SILVA, CARLA GRAZIADIO e GIORGIO ADRIANO PASKULIN.

Hospital Materno Infantil Presidente Vargas, Porto Alegre, RS, BRASIL - Universidade Federal de Ciências da Saúde de Porto Alegre, Porto Alegre, RS, BRASIL - Complexo Hospitalar Santa Casa de Porto Alegre, Porto Alegre, RS, BRASIL.

**Fundamento:** Apesar das malformações cardíacas representarem um verdadeiro problema de saúde pública, a maioria delas não apresenta quaisquer fatores de risco conhecidos. **Objetivo:** Estudar uma amostra de pacientes oriundos de um hospital pediátrico do Sul do Brasil, procurando identificar fatores de risco gestacionais e familiares para as cardiopatias congênitas. **Delineamento:** Caso e controle. **Pacientes e Métodos:** Avaliou-se uma amostra prospectiva e consecutiva de pacientes com e sem doença cardíaca congênita, hospitalizada em uma unidade de tratamento intensivo cardíaca de um hospital pediátrico, procurando identificar fatores de risco gestacionais e familiares. Todos os pacientes com cardiopatia congênita foram submetidos ao cariótipo por bandas GTG. Anormalidades cromossômicas foram observadas em 47 pacientes (15,8%), e estes foram excluídos do estudo. A amostra final foi composta de 250 casos. Seus dados foram comparados aos de 303 controles. **Resultados:** Dos pacientes com cardiopatia congênita, aproximadamente metade (52%) eram do sexo masculino e suas idades variaram de 1 a 174 meses (mediana de 7 meses). A cirurgia cardíaca foi a principal causa de admissão na UTI (77%). Após análise estatística, utilizando regressão logística, encontramos que as variáveis idade, origem rural, perdas gestacionais, e uso de drogas anti-hipertensivas, antibióticos e álcool durante o primeiro trimestre de gestação foram todas independentemente associadas às cardiopatias congênitas. Estes resultados foram similares a alguns estudos e diferentes de outros. Entretanto, deveria ser notado que, para diversas variáveis, os dados encontrados tanto na literatura como em nosso estudo são insuficientes para determinar um risco. **Conclusão:** Algumas diferenças encontradas podem ser explicadas por fatores relacionados à constituição genética dos indivíduos e à sua diversidade sociocultural. Por outro lado, como as cardiopatias congênitas são representadas por um grupo heterogêneo de lesões, elas podem apresentar diferentes associações etiológicas.

## 28214

### Síndrome de deleção 22q11 e cardiopatias congênitas: relato de dois casos e revisão da literatura

LUCIANO PEREIRA BENDER, REINALDO LUNA DE OMENA FILHO, RAFAEL FABIANO MACHADO ROSA, PAULO RICARDO GAZZOLA ZEN, ROSANA CARDOSO MANIQUE ROSA, PATRÍCIA TREVISAN, ALESSANDRA PAWELEC DA SILVA, GIORGIO ADRIANO PASKULIN, CARLA GRAZIADIO e VINÍCIUS FREITAS DE MATTOS.

Hospital Materno Infantil Presidente Vargas, Porto Alegre, RS, BRASIL - Universidade Federal de Ciências da Saúde de Porto Alegre, Porto Alegre, RS, BRASIL - Complexo Hospitalar Santa Casa de Porto Alegre, Porto Alegre, RS, BRASIL.

**Fundamento:** A síndrome de deleção 22q11 (ou síndrome velocardiofacial/DiGeorge) (SD22q11) é atualmente considerada a segunda causa genética mais conhecida de cardiopatia congênita (CC). Ela tem sido observada em cerca de 2% dos pacientes com CC, sendo que sua frequência aumenta de forma significativa entre alguns defeitos específicos, em especial os de vias de saída do coração ou conotruncais. **Objetivo:** Relatar dois pacientes com diferentes tipos de cardiopatia apresentando a SD22q11. **Delineamento:** Relato de caso. **Pacientes e Métodos:** Realizou-se uma descrição clínica e citogenética dos dois pacientes, juntamente com uma revisão da literatura. **Resultados:** A primeira paciente é uma menina de 3 anos e 4 meses. Ela veio encaminhada inicialmente com 23 dias de vida devido a diagnóstico ecocardiográfico de interrupção do arco aórtico do tipo A. Este foi logo confirmado, sendo que a paciente foi submetida à cirurgia cardíaca pouco tempo depois. A criança evoluiu poucos dias após a cirurgia com hipocalcemia de difícil controle, tendo recebido na época diagnóstico de hipoparatiroidismo. O ultrassom abdominal realizado durante a internação evidenciou também agenesia do rim à esquerda. No exame físico, realizado aos 23 dias de vida, a paciente apresentava estrabismo intermitente, palato alto, micrognatia, orelha direita rotada para trás e esquerda em fano, e pequena hérnia umbilical. O resultado do cariótipo foi 46,XX feminino normal. Contudo, a avaliação adicional através da técnica de hibridização in situ fluorescente (FISH) confirmou a suspeita clínica de SD22q11. A segunda paciente é uma menina que veio primeiramente à avaliação com 2 dias de vida. Possuía ecocardiografia com evidência de truncus arteriosus do tipo I. Já havia sido submetida à avaliação cariotípica durante o período pré-natal por apresentar uma translucência nucal aumentada. Esta foi normal (46,XX). Em sua avaliação clínica evidenciou-se também blefarofimose, orelhas rotadas posteriormente e baixo implantadas, e pé torto congênito à direita. A avaliação citogenética complementar através do FISH foi compatível com o diagnóstico de SD22q11. **Conclusão:** A SD22q11 apresenta uma importante associação com CCs, em especial as conotruncais. Cerca de metade dos pacientes com interrupção do arco aórtico do tipo A e um terço daqueles com truncus arteriosus, anormalidades estas observadas em nossos pacientes, apresentam a SD22q11. Por isso, pacientes com estas CCs deveriam ser sempre cuidadosamente avaliados quanto à possível presença da síndrome. Outro aspecto importante é quanto à identificação destes pacientes. Eles apresentam, na grande maioria dos casos, uma deleção muito pequena do cromossomo 22 que não é visualizada através do exame de cariótipo e sim por técnicas de citogenética molecular, como o FISH. Como estas técnicas são de uso restrito, devido especialmente ao seu alto custo, muitos pacientes com a SD22q11 acabam infelizmente sendo subdiagnosticados em nosso meio.

# Certificado

Certificamos que o trabalho

## INCIDÊNCIA E TIPOS DE ANORMALIDADES CROMOSSÔMICAS IDENTIFICADAS EM UMA AMOSTRA DE PORTADORES DE CARDIOPATIA CONGÊNITA COM NECESSIDADE DE CUIDADOS INTENSIVOS

dos autores: Patrícia Trevisan; Tatiana Diehl Zen; Rafael Fabiano Machado Rosa; Luciano Pereira Bender; Dayane Bohn Koshiyama; Alessandra Pawelec da Silva; Juliane Nascimento da Silva; Carla Graziadio; Paulo Ricardo Gazzola Zen; Giorgio Adriano Paskulin, foi apresentado na modalidade PÔSTER no XXIV Congresso Brasileiro de Genética Médica, ocorrido de 12 a 16 de junho de 2012, no Centro de Eventos Hotel Plaza São Rafael, em Porto Alegre/RS.

Porto Alegre, 16 de junho de 2012.



  
**Dr. Lavinia Schüler Facchini**  
Presidente do XXIV Congresso Brasileiro  
de Genética Médica

  
**Dr. Marcial Francis Galera**  
Presidente da Sociedade Brasileira de  
Genética Médica

Patrocínio  
**ACTELION**

Realização  
**SBGM**  
Sociedade Brasileira de  
Genética Médica

Gerenciamento  
**CCM**  
Worldwide  
Medical Congresses  
TEL: 30366 9100



**1er. Congreso Nacional de Servicios Farmacéuticos**  
**XVIII Jornadas de Farmacia Hospitalaria**  
**IX Jornadas Académicas del Diploma de Especialista en Farmacia Hospitalaria**  
**II Congreso Sudamericano de Biofarmacia y Farmacocinética**

Asociación de Química y Farmacia DEL TERCER  
 UDELAR - Uruguay  
 Organización de Farmacólogos de Uruguay - Linfoarmatología  
 Diploma Especialista en Farmacia Hospitalaria

*"Mejora de la Salud desde la práctica farmacéutica.  
 Garantía del uso seguro y adecuado de medicamentos"*

15 y 16 de Noviembre de 2012  
 Radisson Montevideo Victoria Plaza Hotel, Uruguay

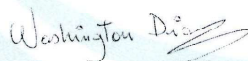
Montevideo, 16 de Noviembre de 2012.

Por la presente dejamos constancia que en el **1er. Congreso Nacional de Servicios Farmacéuticos, XVIII Jornadas de Farmacia Hospitalaria, IX Jornadas Académicas del Diploma de Especialista en Farmacia Hospitalaria y II Congreso Sudamericano de Biofarmacia y Farmacocinética**, que se llevaron a cabo el 15 y 16 de Noviembre del presente año, en el Centro de Convenciones del Radisson Montevideo Victoria Plaza Hotel, se presentó el trabajo sobre:

**ANORMALIDADES CROMOSSÔMICAS ENTRE INDIVÍDUOS SINDRÔMICOS COM  
 CARDIOPATIA CONGÊNITA**

Cuyos autores son:

Dorneles JC, Mesquita CS, Zen PRG, Rosa RCM, Rosa RFM, Graziadio C, Trevisan P, Nascimento J, Varella-Garcia M, Paskulin GA.  
 Universidade Federal de Ciências da Saúde de Porto Alegre (UFCSA) e  
 Complexo Hospitalar Santa Casa de Porto Alegre (CHSCPA), Porto Alegre, RS, Brasil, e University of Colorado Denver, Aurora, Colorado, EUA.



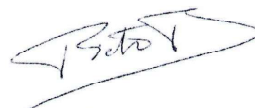
Q. F. Washington Diaz  
 Presidente OFIL



Dra. Q.F. Virginia Olmos  
 Presidente AQFU



Dr. Q.F. Eduardo Savio  
 Presidente DEFH  
 Facultad de Química



Dr. Q.F. Pietro Fagiolino  
 Presidente Congreso Sudamericano  
 de Biofarmacia y Farmacocinética

Secretaria e Informes: Atenea Eventos S.R.L.  
 Av. 8 de Octubre 2254 of. 405  
 Montevideo - Uruguay  
 Telefax: (+598) 24005444  
 farmaciahospitalaria2012@atenea.com.uy  
 www.ofiluguay.org.uy



## SOCERGS 2012

Congresso da Sociedade de Cardiologia  
do Estado do Rio Grande do Sul

Simposias de Especialidades em Cardiologia  
Enfermagem | Fisioterapia | Nutrição |  
Educação Física | Psicologia

## Evidências na Saúde Cardiovascular: Prevenção e Tratamento.

2 a 4 de agosto de 2012

Centro de Convenções Serrano Resort  
Centro de Eventos Hotel Serra Azul  
Gramado | RS

# CERTIFICADO

Certificamos que o trabalho

### **Anormalidades cromossômicas entre portadores de cardiopatia congênita com necessidade de cuidados intensivos**

DOS AUTORES Luciano Pereira Bender, Rafael Fabiano Machado Rosa, Patrícia Trevisan,  
Dayane Bohn Koshiyama, Alessandra Pawelec Da Silva, Juliane Nascimento Da Silva, Carla  
Graziadio, Paulo Ricardo Gazzola Zen, Giorgio Adriano Paskulin E Rosana Cardoso Manique  
Rosa

Foi apresentado na forma de **PÔSTER**  
na **Categoria Cardiologia Geral**

no **CONGRESSO DA SOCIEDADE DE CARDIOLOGIA DO ESTADO DO RIO GRANDE DO SUL**  
**SOCERGS 2012.**

Realizado no período de 02 a 04 de agosto de 2012,  
no Centro de Convenções Serrano Resort & SPA - Gramado, Rio Grande do Sul.



**Justo Antero Sayão Lobato Leivas**  
Presidente da Sociedade de Cardiologia  
do Estado do Rio Grande do Sul  
SOCERGS 2012/2013



**Enio Leite Casagrande**  
Presidente do SOCERGS 2012



**Gilberto Lahorgue Nunes**  
Diretor Científico da Sociedade de Cardiologia  
do Estado do Rio Grande do Sul  
SOCERGS 2012/2013



**Maurício Pimentel**  
Coordenador de Temas Livres do  
SOCERGS 2012

Promoção e Realização:



[www.socergs.org.br/congresso](http://www.socergs.org.br/congresso)

## SOCERGS 2012

Congresso da Sociedade de Cardiologia  
do Estado do Rio Grande do Sul

Simposios de Especialidades em Cardiologia  
Enfermagem | Fisioterapia | Nutrição |  
Educação Física | Psicologia

**Evidências na  
Saúde Cardiovascular:  
Prevenção e Tratamento.**

**2 a 4 de agosto de 2012**  
Centro de Convenções Serrano Resort  
Centro de Eventos Hotel Serra Azul  
Gramado | RS



# CERTIFICADO

Certificamos que o trabalho  
**Fatores de risco gestacionais e familiares para portadores de cardiopatias  
congênitas no Sul do Brasil**

DOS AUTORES Luciano Pereira Bender, Rafael Fabiano Machado Rosa, Paulo Ricardo Gazzola  
Zen, Patrícia Trevisan, Alessandra Pawelec Da Silva, Rosana Cardoso Manique Rosa, Juliane  
Nascimento Da Silva, Carla Graziadio E Giorgio Adriano Paskulin

Foi apresentado na forma de PÔSTER  
na **Categoria Cardiologia Geral**

no **CONGRESSO DA SOCIEDADE DE CARDIOLOGIA DO ESTADO DO RIO GRANDE DO SUL  
SOCERGS 2012.**

Realizado no período de 02 a 04 de agosto de 2012,  
no Centro de Convenções Serrano Resort & SPA - Gramado, Rio Grande do Sul.

**Justo Antero Sayão Lobato Leivas**  
Presidente da Sociedade de Cardiologia  
do Estado do Rio Grande do Sul  
SOCERGS 2012/2013

**Enio Leite Casagrande**  
Presidente do SOCERGS 2012

**Gilberto Lahorgue Nunes**  
Diretor Científico da Sociedade de Cardiologia  
do Estado do Rio Grande do Sul  
SOCERGS 2012/2013

**Maurício Pimentel**  
Coordenador de Temas Livres do  
SOCERGS 2012

Promoção e Realização:



[www.socergs.org.br/congresso](http://www.socergs.org.br/congresso)