

Universidade de Brasília
Faculdade de Ciências da Saúde
Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde

Aline Saliba de Faria

ALTERAÇÕES GENÉTICAS NAS CARDIOPATIAS CONGÊNITAS
SINDRÔMICAS E NÃO-SINDRÔMICAS:
UMA ABORDAGEM CLÍNICA

Brasília
2019

Aline Saliba de Faria

ALTERAÇÕES GENÉTICAS NAS CARDIOPATIAS CONGÊNITAS
SINDRÔMICAS E NÃO-SINDRÔMICAS:
UMA ABORDAGEM CLÍNICA

Dissertação apresentada ao
programa de Pós-Graduação em
Ciências da Saúde da Universidade
de Brasília para obtenção do título de
Mestra em Ciências

Área de concentração: Fisiopatologia
Médica – prevalência, diagnóstico e
prevenção de doenças crônico-
degenerativas e genéticas

Orientadora: Prof.^a Dr.^a Juliana Forte
Mazzeu de Araújo.

Brasília
2019

Aline Saliba de Faria

ALTERAÇÕES GENÉTICAS NAS CARDIOPATIAS CONGÊNITAS
SINDRÔMICAS E NÃO-SINDRÔMICAS:
UMA ABORDAGEM CLÍNICA

Dissertação apresentada ao
programa de Pós-Graduação em
Ciências da Saúde da Universidade
de Brasília para obtenção do título de
Mestra em Ciências

Banca Examinadora:

Prof.^a Dr.^a Juliana Forte Mazzeu de Araújo (Presidente)

UnB

Prof.^a Dr.^a Karina Nascimento Costa

UnB

Dr. Jorge Youseff Afiune

Instituto de Cardiologia do Distrito Federal

Prof.^a Dr.^a Patrícia Natália Silva Moretti

UnB

Dedico este trabalho à minha sobrinha
e afilhada Maria Eduarda: que a
Ciência te dê asas.

AGRADECIMENTOS

A meus pais, que são a base genética, epigenética, moral, física e financeira da minha inteligência, meu interesse pela ciência e pela academia: meu pai, um gigante em cujos ombros subi para divisar as fronteiras borradas da Medicina; minha mãe que me tornou uma leitora ávida e uma estudante feroz.

À minha irmã, minha grande companheira de museus, que está sempre pronta a torcer e vibrar com minhas alegrias e beber com minhas tristezas!

A meu marido, Carlos Vicente, que caminha a meu lado desde antes da graduação e que apoia, sem caretas, cada sonho maluco, cada residência, cada curso, cada aula. Leva minha vida no colo para que eu possa me perder em artigos e escuta pacientemente minhas conclusões sobre coisas que possivelmente não lhe interessam. Sua admiração ecoa em mim! Te amo!

À minha gata, Glitter, a melhor companheira de estudos que eu já tive na vida.

À minha orientadora, Dra. Juliana Mazzeu, que engoliu o pavor que tem de tatuagens para me guiar, se disponibilizou a me ensinar e abriu para mim as portas da genética, um mundo de conhecimentos que eu jamais imaginaria existir, para que eu pudesse tentar traduzir para nossos olhos míopes de clínicos. Teve paciência com meu tempo escasso, com meus milhões de empregos e minha inevitável enrolação.

À Dra. Aline Pic-Taylor, que não só me ofereceu apoio e conhecimento, como permitiu a honra de lecionar a seu lado. Espero que a França não te roube de nós.

À Ana Carolina Vaqueiro, que me permitiu pegar carona na cauda de cometa que é seu doutorado, seus MLPAs e seus Arrays.

À ilustre banca composta de professores tão queridos, que engradem meu humilde trabalho.

Aos pacientes, que são o início, o fim e o meio.

“A Ciência não pode resolver o mistério maior da natureza. Isso porque, em última análise, nós somos parte do mistério que estamos tentando resolver.”

- Max Planck

Resumo

Cardiopatias congênitas são malformações do coração e/ou dos grandes vasos da base, constituindo a principal classe de malformações congênitas em humanos, podendo ocorrer em até 1% dos nascidos vivos, sendo uma importante causa de morbimortalidade. Classicamente, sua etiologia é definida como multifatorial, porém, cada vez mais as causas genéticas vêm despontando como importante fator a ser considerado, de modo que a avaliação e acompanhamento genético podem desempenhar um papel crucial no manejo clínico e cirúrgico de cardiopatias sindrômicas e não sindrômicas, além de fornecer ferramentas para o entendimento da formação e funcionamento do órgão. Este trabalho foca na organogênese do coração, na divisão anatomo-funcional das cardiopatias e das evidências referentes ao papel da genética como causa de cardiopatia, seja em cromossomopatias ou doenças monogênicas e de como esta visão pode abrir caminhos para melhores prognósticos, orientação dos pacientes afetados e suas famílias e mesmo prevenção destes agravos. Além de revisar as principais causas genéticas de cardiopatias congênitas, avaliamos a contribuição das alterações cromossômicas em uma amostra de 44 pacientes, submetidos à análise de cariótipo, MLPA e análise cromossômica por microarray. Destes, 33% apresentaram alterações genéticas, sendo 13% alterações cromossômicas detectadas ao cariótipo e 20% alterações subcromossômicas. A alta taxa de detecção de alterações cromossômicas condiz com o número elevado de pacientes com malformações extracardíacas na amostra (93% dos casos). No entanto, a maior prevalência de casos sindrômicos evidencia um viés na população de pacientes cardiopatas encaminhados para investigação genética. Ressalta-se a importância da ampliação da cobertura dos métodos de investigação genética e acompanhamento continuado dos pacientes portadores de cardiopatias congênitas e suas famílias.

Palavras-chave: cardiopatias congênitas, epidemiologia; genética; predisposição genética; embriologia; aneuploidia; CNVs

Abstract

Congenital heart diseases are the structural abnormalities of the heart and/or intrathoracic great vessels and are the most common type of birth defects. Traditionally, a multifactorial model was defined as etiology, but as genetic testing evolves, the contribution of the DNA extends beyond a single unified paradigm of polygenic model and interaction with the environment. In such instances, genetic investigation and testing can play an important role in clinical and surgical management of syndromic or non-syndromic heart defects, carrying the potential to improve diagnosis and targeted patient follow-up and to be a tool for the understanding the heart organogenesis. This paper focuses in the heart embryology, the anatomical division of heart defects and the genetic role - with monogenic and complex mechanisms - in the congenital heart disease, drawing attention to biological pathways that brings a better understanding of cardiac development, prognosis, orientation of the affected patients and their families and, in the near future, prevention of new cases. The contribution of chromosomal alterations were evaluated in a sample of 44 patients submitted to karyotype, MLPA and chromosomal microarray analysis, of which 33% presented with genetic alterations, being 13% chromosomal alterations, detected by karyotype, and 20% subchromosomal alterations. The elevated incidence of chromosomal alterations matches the high number of extracardiac malformations in the sample (93% of the patients), which shows a bias in the population of patients referred to genetic investigation.

Key-words: heart defects, congenital/epidemiology; Heart defects,
congenital/genetics; embryology; genetic predisposition to disease; aneuploidy;
CNVs

Resumen

Las cardiopatías congénitas son anomalías estructurales de el corazón y de sus grandes vasos. Son las malformaciones congénitas más frecuentes. Son etiológicamente heterogéneas, pero los avances de las técnicas de investigación genética han proporcionado una nueva perspectiva respecto a la importancia de las anomalías cromosómicas y mutaciones unigénicas. Estos enfoques podrían tener un papel importante en el manejo clínico y quirúrgico de los pacientes. Este trabajo está direccionado en los mecanismos que subyacen la morfogénesis del corazón, en las divisiones anatómicas de los diferentes defectos y en el papel de los diferentes genes cuyas mutaciones pueden producir malformaciones cardíacas pleotrópicas, y, en el futuro, estas informaciones podrían ser instrumentos importantes para el diagnóstico precoz de los defectos cardíacos, permitir una estratificación más efectiva de las subclases de pacientes, así como un direccionamiento específico y una individualización del tratamiento y pronóstico. La contribución genética fue investigada en una muestra de 44 pacientes, sometidos a análisis del cariotipo, MLPA y análisis cromosómico por *microarray*. Treinta y tres porcientos de estos pacientes presentaban alteraciones genéticas, siendo 13% alteraciones cromosómicas y 20% alteraciones su cromosómicas. La elevada tasa de detección de alteraciones cromosómicas es adecuada con el alto numero de pacientes con malformaciones extracardíacas (93% de los casos). La mayor prevalencia de casos sindrómicos parcialidad en la población de pacientes que son referidos hasta investigación genética.

Lista de abreviaturas e siglas

ACD: artéria carótida direita;

ACE: artéria carótida esquerda;

Ao: aorta;

AP: atresia pulmonar;

APD: artéria pulmonar direita;

APE: artéria pulmonar esquerda;

ASD: artéria subclávia direita;

ASE: artéria subclávia esquerda;

AT: atresia tricúspide;

AV: atrioventricular.

Bp: *base pairs* (pares de base)

CA: canal arterial

CGH: do inglês, *comparative genome hybridization*;

CIA: comunicação interatrial;

CIV: comunicação interventricular;

CNC - *Cardiac neural crest* (crista neural cardíaca);

CNV: *copy number variation* - variação no número de cópias.

CoAo: coarctação de aorta;

DAVP: drenagem anômala de veias pulmonares.

DSAV: defeito do septo atrioventricular

DVSVD: Dupla via de saída de ventrículo direito;

EP: estenose pulmonar;

FHF - *first heart field* (campo cardíaco primário);

FOP: forame oval patente;

HVD: hipoplasia de ventrículo direito;

HVE: hipoplasia de ventrículo esquerdo;

IAAo: Interrupção do arco aórtico

MLPA: do inglês, *multiplex ligation-dependent amplification*;

PCA: persistência do canal arterial;

SC: seio coroário;

SHF - *second heart field* (campo cardíaco secundário);

SNP: *single nucleotide polymorphism* - polimorfismo de um único nucleotídeo.

T4F: tetralogia de Fallot;

TCGA: transposição corrigida das grandes artérias;

TGA: transposição das grandes artérias;

TP: tronco pulmonar;

VCI: veia cava inferior

VCS: veia cava superior;

VD: Ventrículo direito;

VE: ventrículo esquerdo;

VU: ventrículo único;

WES: do inglês, *whole exome sequencing*;

WGS: do inglês: *whole genome sequencing*.

Índice

Resúmen	9
Introdução	15
Embriologia Cardíaca	19
Divisão anatomopatológica das cardiopatias congênicas	34
Anomalias de Situs:	34
Conexões anômalas dos retornos venosos sistêmicos:	35
Anomalias de veia cava superior	35
Anomalias da veia cava inferior	35
Defeitos de septação do cone truncal:	36
Dupla via de saída de ventrículo direito (DVSVD)	36
Tetralogia de Fallot (T4F)	38
Atresia pulmonar com comunicação interventricular	38
Janela aortopulmonar	40
Transposição das grandes artérias (TGA)	41
Transposição corrigida das grandes artérias (TCGA)	43
Tronco arterial comum	43
Defeitos dos arcos faríngeos	44
Interrupção do arco aórtico (IAAo)	44
Aneis vasculares	46
Fluxo sanguíneo intracardíaco anormal	47
Comunicação interatrial tipo <i>Ostium Secundum</i> :	47
Comunicação interventricular (CIV)	47
Defeitos de coração esquerdo	49
Síndrome da hipoplasia do coração esquerdo (SHCE)	49
Coarctação de Aorta (CoAo)	50
Defeitos do coração direito:	51
Atresia pulmonar com septo interventricular íntegro	51
Anomalias de morte celular	52
Doença de Ebstein	52
Defeitos de matriz extracelular	54
Defeito do septo atrioventricular (DSAV)	54
Crescimento anormal de tecido-alvo	57
Comunicação interatrial tipo Seio Venoso	57
Drenagem anômala total de veias pulmonares (DAVP)	58
Drenagem anômala parcial das veias pulmonares (DAPVP)	61
Síndrome da cimitarra	61
Cor triatriatum	62
Origem anômala de coronária	64
Persistência do canal arterial	64
Miocardiopatias	66
Cardiomiopatia dilatada	66
Cardiomiopatia hipertrófica	66
Ventrículo esquerdo não compactado	67

Etiologia e manejo clínico	68
Objetivos	71
Capítulo I: revisão das bases genéticas das cardiopatias congênitas	75
Cardiopatias síndrômicas	77
Aneuploidias	78
Trissomia do cromossomo 21 (Síndrome de Down)	78
Trissomia do cromossomo 18 (Síndrome de Edwards)	79
Trissomia do cromossomo 13 (Síndrome de Patau)	79
Monossomia do cromossomo X (Síndrome de Turner)	80
Alterações subcromossômicas	80
Deleção 22q11.2	81
Síndrome da duplicação do 22q11.2	82
Síndrome da deleção distal do 22q11.2	82
Deleção e duplicação 1q21.1	83
Deleção 1p36	83
Deleção 8p23.1	84
Síndrome de Wolf-Hirschhorn (Del4p)	84
Síndrome de Williams-Beuren	85
Síndrome de Kleeftstra	86
Monossomias	87
Síndrome de Noonan e RASopatias	87
Síndrome de Adams-Oliver	90
Síndrome de Holt-Oram	91
Síndrome de Alagille	92
Genes envolvidos no controle epigenético	93
Síndrome de Kabuki	94
Síndrome de Sotos	95
Síndrome de Sifrim-Hitz-Weiss	95
Síndrome CHARGE	95
Síndrome de Koolen-De Vries	96
Cardiopatias não-síndrômicas	97
Mutações na família NK-2	98
Mutações na família TBX	99
Mutações na família GATA	100
Mutações no ZIC3	101
Mutações no PITX2	102
Componentes genéticos do sarcômero cardíaco	102
Genes da via de sinalização Notch	103
Genes ciliares	104
Métodos de investigação genética	105
Capítulo II. Estudo genético-clínico de pacientes com cardiopatia atendidos no Hospital Universitário de Brasília	109
Pacientes e Métodos	109
Resultados	111
Discussão	114
Conclusões	124
Considerações pessoais	125
Referências	127

Introdução

Mortalidade infantil é definida como o óbito de crianças abaixo de um ano de idade para cada mil nascidos vivos em um determinado espaço geográfico no período de um ano.¹ No Brasil, este número tem sofrido consistente queda em todos os estados desde a década de 1990, com importantes avanços no tratamento e prevenção de doenças infectocontagiosas, que acometem principalmente a faixa etária pós-natal (acima de 27 dias de vida) com consequente concentração dos falecimentos nas primeiras semanas após o nascimento, que respondem por 60 a 70% dos desfechos desfavoráveis.^{1, 2, 3}

A despeito do valor social desta análise, sabe-se que no Brasil as malformações congênitas são a segunda principal causa de óbitos na faixa etária infantil e, embora estejam presentes em somente 3 a 5% dos fetos e nascidos vivos, perfazem cerca de 11,2% dos óbitos, principalmente nos falecimentos ocorridos no período neonatal.⁴ São responsáveis ainda por cerca de 60% dos abortos espontâneos no primeiro trimestre bem como 4 a 5% dos abortos mais tardios e 5% dos natimortos.² Essa proporção tende a aumentar à medida que a região estudada torna-se mais economicamente desenvolvida e há melhor acesso à assistência à saúde; estudos retrospectivos mostram que houve um aumento considerável nas mortes atribuíveis às malformações congênitas tanto no coeficiente de mortalidade para cada mil nascidos vivos quanto no número total de óbitos.^{2, 5}

As anomalias ao nascimento, portanto, passam a ganhar importância à medida que causas infecciosas e nutricionais se reduzem em resposta às medidas sanitárias e sociais. No entanto, a atenção específica às anomalias congênitas no Brasil é deficitária, estimando-se que menos de 30% dos pacientes sejam referenciados a

atendimento específico,⁶ demonstrando a reduzida quantidade de profissionais capacitados para absorver esta demanda crescente.

O impacto das malformações congênitas na mortalidade infantil depende de diversos fatores, incluindo a prevalência da anomalia, presença e qualidade da atenção médica e cirúrgica, mas principalmente, do diagnóstico e intervenção precoces e da prevenção primária com aconselhamento genético ou interrupção da gestação, visto que tal agravo pode ser devastador, principalmente em famílias de baixa renda ou aquelas que optam por proles menores, mesmo quando não resulta em óbito ainda na faixa etária infantil.² O aspecto familiar, quando analisado juntamente à magnitude econômica, dada a necessidade de cuidados cirúrgicos e intensivos já nas primeiras horas de vida e a reabilitação naqueles que sobrevivem, torna imperiosa a necessidade de estudos mais detalhados para direcionar tais políticas.

Cardiopatias congênitas são definidas como alterações anatômicas e funcionais do coração e/ou dos grandes vasos da base, sendo o tipo de malformação congênita mais comum, afetando 8 a cada 1000 nascidos vivos e até 30% dos fetos abortados (de forma espontânea ou provocada) perfazendo 40.000 novos casos anualmente nos Estados Unidos da América,^{7,8,9} sendo que um terço destes pacientes pode ser classificado como portadores de cardiopatias graves e demandam intervenção cirúrgica ainda no primeiro ano de vida.¹⁰ No Brasil, não há dados atualizados sobre a epidemiologia deste agravo, muito provavelmente subestimados pela sobreposição dos sintomas com outras doenças graves acometendo recém-nascidos e lactentes.¹¹ Em países desenvolvidos, as cardiopatias são a principal causa de mortalidade dentre as malformações congênitas. Estima-se que cerca de 6% dos óbitos infantis sejam em decorrência de cardiopatias congênitas ou de complicações associadas ao seu tratamento e até 39,5% dos óbitos fetais estão relacionados a este agravo, a depender

da idade gestacional em que ocorreu a perda, estimando-se que a incidência total de cardiopatias poderia ser cinco vezes maior em natimortos e conceptos que não chegaram a termo que em nascidos vivos.¹¹ O uso mais frequente do ecocardiograma fetal e a melhor resolução das ultrassonografias gestacionais realizadas no primeiro semestre corroboram esses achados.⁷

Pela potencial morbimortalidade configurada pelas cardiopatias congênitas, testes de triagem pré e pós-natais tem sido implementados na tentativa de permitir intervenções clínicas ou cirúrgicas antes que a criança apresente sintomas e alterações funcionais, resultando em melhor manejo e qualidade de vida. No entanto, questões como possibilidade de complicações no pós-operatório imediato, alterações anatômicas ou funcionais que não são necessariamente diagnosticadas em um primeiro momento (déficit intelectual, alterações pulmonares ou mesmo aparecimento de arritmias cardíacas e cardiomiopatias) além da possibilidade de recorrência na família do paciente - principalmente em sua prole futura, visto que a história natural das cardiopatias congênitas foi dramaticamente alterada pela implementação de correções cirúrgicas paliativas ou curativas, permitindo maior sobrevida e chegada à idade reprodutiva - não são contempladas pelos exames complementares atuais, abrindo imenso potencial para a investigação genética dentro da prática clínica, com elucidação não apenas etiológica, mas também quanto a prognóstico, terapêutica e recorrência.¹⁰

O manejo dos pacientes sobreviventes também representa um desafio, visto que 13,6% daqueles com cardiopatias corrigidas ou paliadas apresentam malformações extra-cardíacas associadas, além de um risco mais elevado de arritmias, disfunção miocárdica e atraso no desenvolvimento neuropsicomotor.¹⁰

Tradicionalmente, devido à amplitude de fenótipos - variando desde lesões pequenas com resolução espontânea até cardiopatias complexas e incompatíveis com a vida - um modelo poligênico definido pela interação de múltiplos genes com fatores ambientais foi, por muitos anos, a principal hipótese etiológica; no entanto, modelos monogênicos e anomalias cromossômicas também têm sido repetidamente implicadas em sua gênese, tanto em formas isoladas quanto na vigência de uma constelação de alterações anatômicas e funcionais, endossando a necessidade de uma investigação mais aprofundada por parte dos neonatologistas, pediatras e cardiologistas que lidam com estes pacientes, independente de sua faixa etária.

Embriologia Cardíaca

O entendimento da morfogênese do sistema cardiovascular e sua correlação com a complexa rede regulatória e hierárquica, incluindo fatores de transcrição, vias de sinalização, genes de transdução intracelular, genes receptores, microRNAs e fatores epigenéticos é fundamental para compreender as diversas cardiopatias e suas possíveis consequências para melhor interpretação terapêutica e prognóstica.¹²

O sistema cardiovascular é o primeiro sistema importante a funcionar no embrião, cujo crescimento rápido prontamente suplanta a difusão como única forma de distribuição de nutrientes.^{12, 13} O estabelecimento precoce da função cardíaca é condição essencial para a viabilidade do conceito.¹³

O desenvolvimento anatômico do coração é o resultado de eventos morfogênicos contínuos e os distúrbios precoces são tão graves que quase invariavelmente se acompanham da morte do embrião e só raramente são observados como causas de cardiopatias congênitas. Por outro lado, os distúrbios dos eventos tardios, embora graves, com frequência não representam ameaça imediata à sobrevivência no ambiente intrauterino.¹³

O embrião humano consiste de um disco composto por duas camadas de células: o epiblasto, que contém precursores dos tecidos embrionários, e o hipoblasto, que origina parte das membranas extraembrionárias.¹³

No início da gastrulação, com o surgimento da fenda primitiva, há o aparecimento dos novos folhetos embrionários: endoderma e mesoderma e do nó, uma estrutura arredondada semelhante a uma fossa na porção mais rostral do embrião, através da qual as células ingressam a partir do epiblasto e dão origem a novos tecidos.¹³

Em mamíferos, três linhagens celulares cooperam para a morfogênese cardíaca: as células do mesoderma cardíaco, o pró-epicárdio e as células da crista neural.¹⁴

Assim, definem-se dois campos dos quais se originam as células mesodérmicas pró-cardíacas: o campo cardíaco primário, cujas células derivam do mesoderma esplâncnico anterior, tornando-se o citado crescente e posteriormente acompanhando o tubo endocárdico; e o campo cardíaco secundário, com células advindas do mesoderma faríngeo que posteriormente vão dar origem à parte do ventrículo direito (principalmente via de saída) e átrios, cujas alterações podem explicar a elevada incidência de malformações extracardíacas em pacientes com cardiopatias congênicas (figura 1).^{14,15}

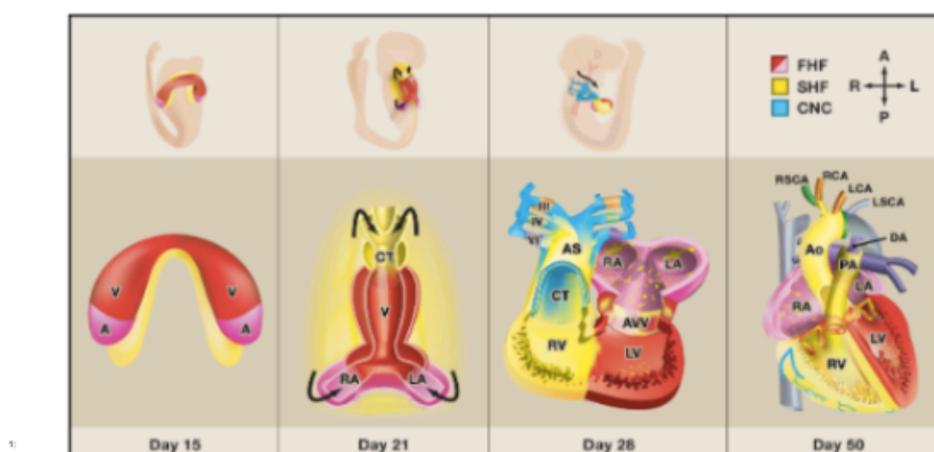


Figura 1:

Figura 1: desenvolvimento cardíaco em mamífero: acima, visões oblíquas dos embriões e abaixo, visão frontal dos precursores cardíacos. As células do campo cardíaco primário (FHF - *first heart field*, em vermelho/rosa) formam um crescente na porção anterior do embrião com as células do campo cardíaco secundário (SHF - *second heart field*, em amarelo) medialmente. O SHF mantém-se posterior ao tubo cardíaco e migra conforme as setas para as regiões anteriores do tubo cardíaco para formar o ventrículo direito, região conotruncal e parte dos átrios. Após o dobramento do tubo cardíaco, células da crista neural (CNC - *cardiac neural crest*, em azul) migram para formar as vias de saída e o padrão simétrico das artérias do arco aórtico. (V: ventrículos; A: átrios; CT: conotruncus; AD: átrio direito; AE: átrio esquerdo; VD: ventrículo direito; VE: ventrículo esquerdo; VAV: válvula atrioventricular; Ao: aorta; ASD: artéria subclávia direita; ACD: artéria carótida direita; ACE: artéria carótida esquerda; ASE: artéria subclávia esquerda; CA: canal arterial) - modificado de SRIVASTAVA, Deepak. *Making or breaking the heart: from lineage determination to morphogenesis*. Cell, vol 126, ed 6., 2006.

À medida que o tubo cardíaco se forma, o campo cardíaco secundário migra para a linha média do embrião e se posiciona dorsalmente ao tubo, compreendendo o

aspecto dorso-medial do coração primitivo, enquanto o campo cardíaco primário compreende o aspecto ventral e se diferencia no crescente cardíaco.¹⁵ Ambas linhagens parecem ser controladas por *feedbacks* positivos e negativos de vias sinalizadoras como proteínas morfogênicas ósseas (BMPs, do inglês, *bone morphogenetic proteins*), fatores de crescimento de fibroblastos (FGF, do inglês, *fibroblast growth factors*), Sonic Hedgehog (SHH), WNT e NOTCH.^{12, 14, 15}

Células no mesoderma lateral se diferenciam em linhagens independentes de células: endocárdicas e miocárdicas e irão compor uma bomba circulatória primitiva: o coração tubular, sendo que aquelas localizadas na porção mais lateral do epiblasto darão origem aos átrios e ao seio venoso e as localizadas na porção mais medial, os ventrículos. E só após o estabelecimento de um plano circulatório básico onde o coração recebe, em sua porção posterior, um compartimento de influxo e em sua porção anterior um compartimento de efluxo, é que o bombeamento cardíaco se inicia. Um par de cordões endoteliais - cordões angioblásticos - aparece a partir do mesoderma cardiogênico durante a terceira semana de vida embrionária e se canalizam para formar os tubos cardíacos, que se fundem em um tubo endocárdico (Figura 2) único.^{13, 16}

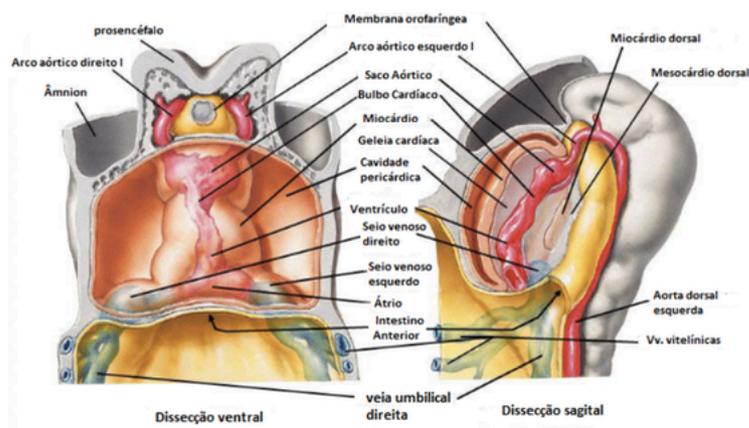


Figura 2: formação do tubo cardíaco a partir dos cordões angioblásticos provenientes do mesoderma. Na figura, a visão ventral e sagital do disco embrionário no 21º dia pós-concepção. (Modificado de COCHARD, R. Larry. *Netter's Atlas of human embryology*, Saunders Elsevier, 2002)

As células do epiblasto mais próximas à fenda primitiva darão origem ao tronco arterial, assumindo posições mais anteriores, ao passo que os precursores ventriculares ficam em posições intermediárias e os atriais, mais posteriores (Figura 2).^{13, 15} O estabelecimento desta polaridade é fundamental para que se organizem as regiões de influxo e efluxo, possibilitando a inserção efetiva do coração na circulação.

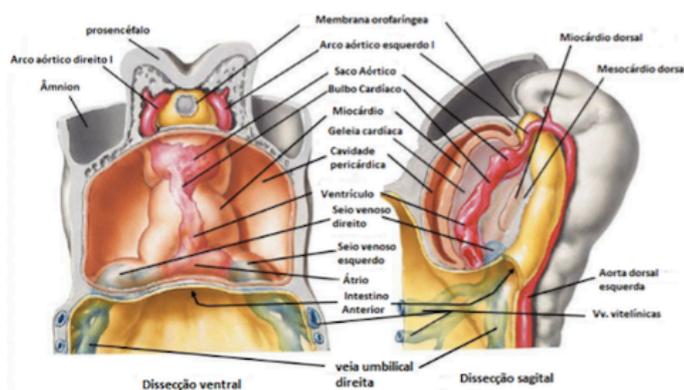


Figura 3: organização do tubo cardíaco, com precursores arteriais mais anteriores, ventriculares em posição intermediária e atriais, mais posteriores. Visão ventral e sagital do disco embrionário no 23º dia pós concepção (Modificado de COCHARD, R. Larry. *Netter's Atlas of human embryology*, Saunders Elsevier, 2002)

O miocárdio primitivo, portanto, é derivado do mesoderma esplâncnico (campo cardíaco primário) que circunda o celoma pericárdico; o tubo endocárdico, que ao

derivar do mesoderma perde a expressão de moléculas de adesão como a N-caderina e se descola, sendo separado do miocárdio por um tecido conjuntivo gelatinoso denominado geleia cardíaca, composta por colágeno, proteoglicanos, glicosaminoglicanos e várias outras proteínas estruturais (figura 4).^{13, 14, 16} A interação entre o epicárdio e o miocárdio mediada pela geleia cardíaca é fundamental para a maturação das câmaras e crescimento muscular ventricular.^{12,14} O pericárdio é formado de células mesoteliais que se originam da superfície externa do seio venoso.¹³

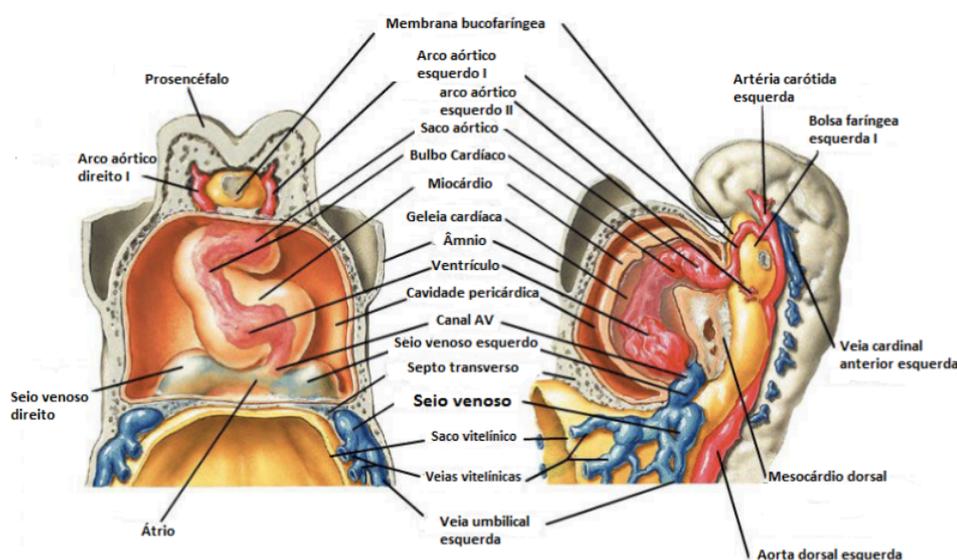


Figura 4: dissecção ventral e sagital do disco embrionário com aproximadamente 23 dias pós-concepção demonstrando a geleia cardíaca e a cavidade pericárdica. (Modificado de: COCHARD, R. Larry. *Netter's Atlas of human embryology*, Saunders Elsevier, 2002)

Para o tubo cardíaco primordial, drenam três pares de veias:

- Veias vitelinas: levam sangue pouco oxigenado a partir do saco vitelínico, primeiro elemento a ser visualizado no embrião, importante para as primeiras trocas sanguíneas, que posteriormente será incorporado ao intestino primitivo; as veias vitelínicas esquerdas desaparecem enquanto à direita formam as veias hepáticas e a veia porta.¹³

- Veias umbilicais: levam sangue oxigenado a partir do saco coriônico, precursor da placenta. As veias umbilicais direita e a parte cranial da veia umbilical esquerda degeneram, enquanto a parte caudal forma a veia umbilical, que se comunica com a veia cava inferior através do ducto venoso.¹³
- Veias cardinais comuns: levam sangue pouco oxigenado do restante do embrião para o coração. As veias cardinais constituem o principal sistema de drenagem venosa do embrião; seus componentes anteriores e posteriores drenam as partes cefálica e caudal do embrião, respectivamente. Estas se unem às veias cardinais comuns, que entram no seio venoso. A veia cava superior se forma a partir da fusão da veia cardinal anterior direita e a veia cardinal comum direita. As veias sub e supra cardinais gradativamente substituem as veias cardinais posteriores, cujos únicos derivados que permanecem são as bases das veias ázigo e íliaca comum. As veias subcardinais surgem primeiro e vão originar a veia renal esquerda, as veias suprarrenais e gonadais; as supracardinais cranialmente formam as veias ázigos e hemiázigo, além da porção inferior da veia cava inferior, que é formada pela porção caudal da veia supracardinal direita.¹³

As células da crista neural se originam do tubo neural dorsal e migram para 3º, 4º e 6º arcos faríngeos, formando a via de saída distal e as células musculares lisas do tronco aortopulmonar (Figura 5), além da inervação autonômica do coração. As células da crista neural são essenciais na maturação e septação do polo arterial e contribuem para a formação septal e valvar.^{13, 14}

Inicialmente, um par de aortas dorsais corre por toda a extensão do embrião, se fundindo posteriormente para formar uma aorta abdominal/torácica única (Figura 5). Suas únicas ramificações ventrais suprem a vesícula umbilical, o alantoide, o córion e

posteriormente tornam-se o tronco celíaco e as artérias mesentéricas superior e inferior.¹³

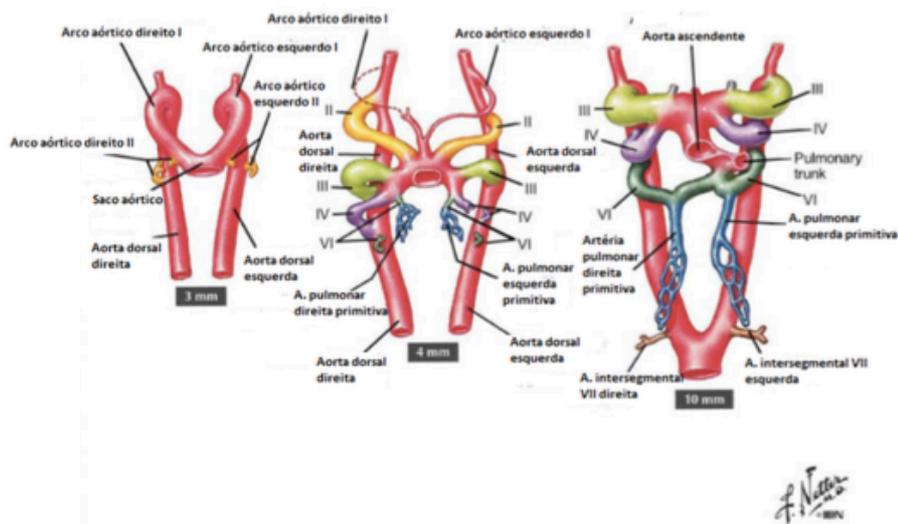


Figura 5: formação dos arcos aórticos a partir do segundo, terceiro, quarto e sexto arcos faríngeos (Modificado de: COCHARD, R. Larry. *Netter's Atlas of human embryology*, Saunders Elsevier. 2002)

As partes proximais das artérias umbilicais tornam-se as artérias ilíacas internas e as artérias vesicais superiores, enquanto sua parte distal é obliterada, formando os ligamentos umbilicais medianos.¹³

O tronco arterial tubular é contínuo com o saco aórtico. O seio venoso recebe as veias umbilicais, vitelínicas e cardinais. As extremidades venosa e arterial do coração estão fixadas respectivamente pelos arcos faríngeos e pelo seio transverso. Por causa do crescimento do bulbo cardíaco e do ventrículo em relação às outras regiões, o coração se dobra sobre si próprio, formando uma alça bulboventricular, e o átrio e o seio venoso passam a se localizar dorsalmente (figura 6).^{13, 16}

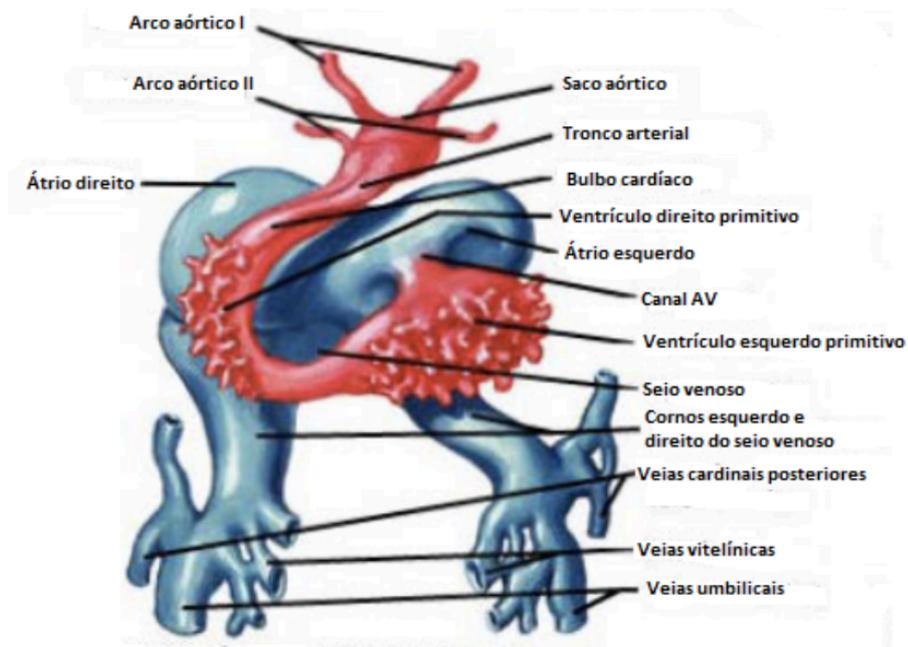


Figura 6: tubo endocárdico com o miocárdio removido para visualização do dobramento, demonstrando o bulbo cardíaco com os ventrículos primitivos anteriormente e os átrios dorsalmente. (Modificado de: COCHARD, R. Larry. *Netter's Atlas of human embryology*, Saunders Elsevier, 2002)

O coração é o primeiro órgão a quebrar a simetria embrionária quando o tubo cardíaco começa a se dobrar para a direita, refletindo mais uma vez a complexa interação entre vias de sinalização, especialmente NODAL (restrita ao lado esquerdo do embrião) NOTCH, SHH, BMP e FGF.¹² O primeiro dobramento cardíaco posiciona os precursores do ventrículo pulmonar, aorta e tronco pulmonar para o lado direito e os precursores do ventrículo sistêmico do lado esquerdo, alinhando os segmentos de entrada e saída do coração no mesmo plano craniocaudal: a face ventral do tubo cardíaco é rotacionada, tornando-se a curva externa, região de amplo crescimento, enquanto a face dorsal torna-se a curvatura interna, cujo remodelamento alinha as vias de entrada e saída.^{13, 15}

Com o dobramento da região cefálica do embrião, o coração e a cavidade pericárdica passam a localizar-se ventralmente ao intestino anterior e caudalmente à membrana orofaríngea (figura 7), alongando-se e desenvolvendo dilatações e constrictões alternadas: o bulbo cardíaco (composto do tronco arterial, cone arterial e cone

cardíaco) o ventrículo, o átrio e o seio venoso. O dobramento cefalocaudal é, portanto, um dos mais importantes movimentos da embriogenia cardíaca tardia, pois alinha os coxins atrioventriculares e o tronco arterial, garantindo assim as bases para o processo de septação cardíaca.^{13, 16}

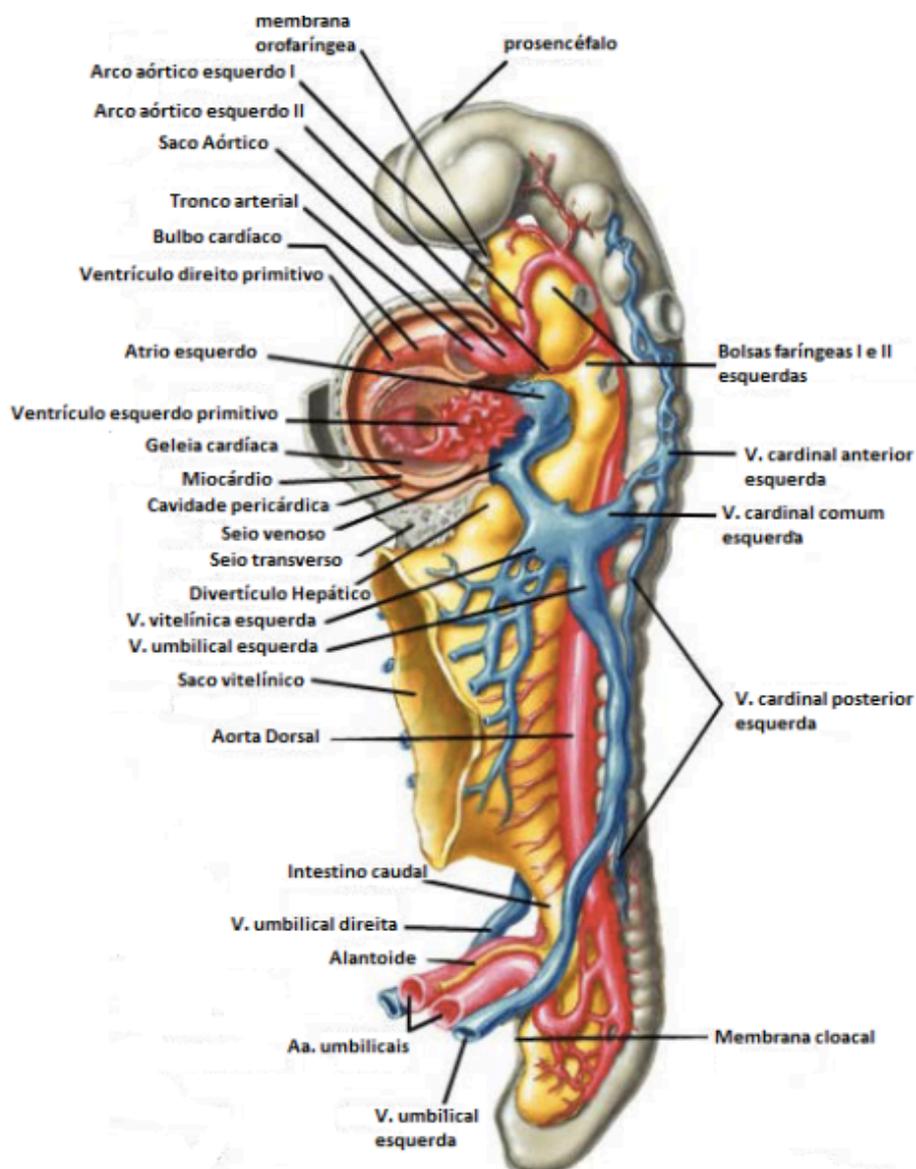


Figura 7: posição do coração primitivo em relação às demais estruturas embrionárias após dobramento de todo embrião. (Modificado de: COCHARD, R. Larry. *Netter's Atlas of human embryology*, Saunders Elsevier, 2002)

A septação do canal atrioventricular, do átrio e do ventrículo primitivos se inicia em torno da metade da quarta semana. Ao final da quarta semana, os coxins

endocárdicos se formam a partir da matriz extracelular especializada relacionada ao endocárdio das paredes dorsal - este de origem extracardíacas, proveniente do campo cardíaco secundário - e ventral do canal atrioventricular, crescem em direção um ao outro e fundem-se formando os canais atrioventriculares direito e esquerdo, ocupando uma posição central no coração em desenvolvimento, separando parcialmente o átrio do ventrículo primitivos e servindo de ponto de inserção para os septos intercamerais (figura 8).^{13, 16}

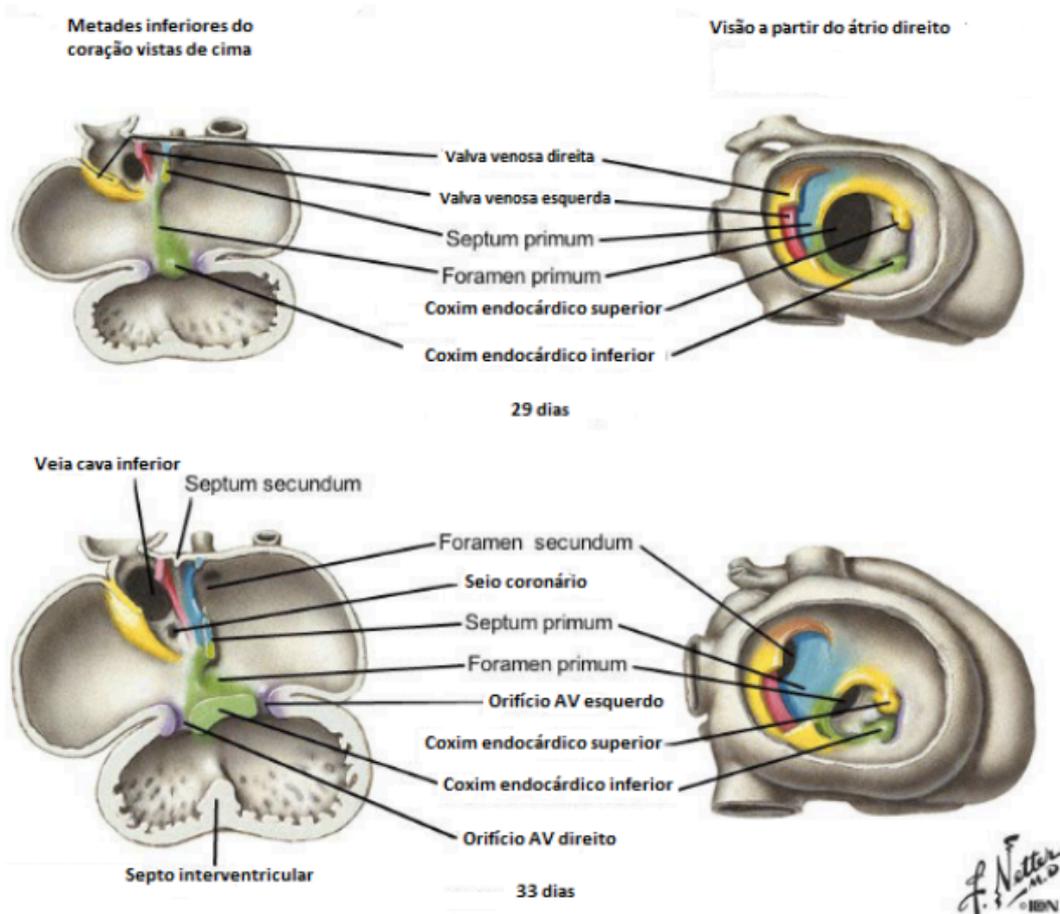


Figura 8: formação do coxim endocárdico para ancoragem dos septos intercamerais. (Modificado de: COCHARD, R. Larry. *Netter's Atlas of human embryology*, Saunders Elsevier, 2002)

O Septo Primum cresce a partir do teto do endocárdio em direção aos coxins endocárdicos, dividindo parcialmente o átrio primitivo em metades direita e esquerda; à medida que ele cresce, uma grande abertura se forma entre sua borda livre e os

coxins endocárdicos, o chamado *ostium primum*, que torna-se progressivamente menor e desaparece, concomitante ao aparecimento de pequenas perfurações no recém formado septo atrial, que se formam por apoptose programada das células na parte central e coalescem, formando o *ostium secundum*, que antes do nascimento permite o desvio de sangue oxigenado proveniente da placenta do átrio direito para o esquerdo. O septo secundum é uma dobra da parede do átrio situada entre os orifícios de entrada da veia cava superior e da veia pulmonar, e o colapso do teto nesta região gera uma divisão muscular, que forma a porção superior de outro orifício interatrial, a fossa oval, mais inferior e à direita (figura 9).^{13, 16} Como resultado, até o nascimento, o septo interatrial se torna uma divisão incompleta entre os átrios que mantém o fluxo unidirecional do sangue e o aporte de oxigênio para a circulação esquerda. Normalmente, a porção inferior do septo primum se sobrepõe ao orifício da fossa oval enquanto o dobramento da parede atrial cobre o *ostium secundum*, gerando o mecanismo de válvula que mantém o fluxo sanguíneo unidirecional.^{13, 16}

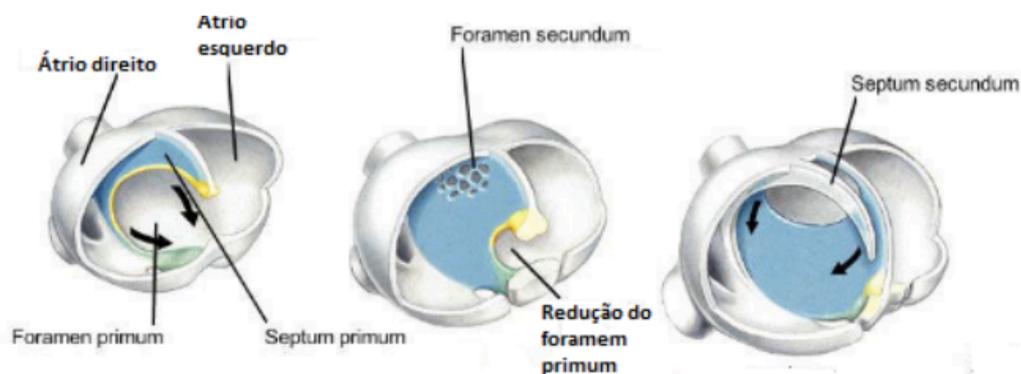


Figura 9: septação atrial (Modificado de: COCHARD, R. Larry. *Netter's Atlas of human embryology*, Saunders Elsevier, 2002)

Inicialmente, o seio venoso se abre na parede posterior do átrio primitivo, no orifício sinoatrial, e se divide em dois cornos: esquerdo e direito. Ao longo da vida fetal, o corno direito se desenvolve mais e desloca o orifício sinoatrial para a direita, recebendo o sangue da cabeça e do pescoço através da veia cava superior e da

placenta e regiões caudais do corpo através da veia cava inferior, sendo posteriormente incorporado pela parede posterior do átrio direito. O corno esquerdo torna-se o seio coronário.^{13, 16}

A divisão do ventrículo primitivo inicia-se em seu assoalho, próximo ao ápice, com o septo interventricular muscular, havendo contribuição dos miócitos de ambos ventrículos para a sua formação. Até a sétima semana de gestação, existe uma abertura em formato de crescente entre a borda livre do septo e os coxins fundidos. A formação da parte membranosa do septo interventricular e o conseqüente fechamento desta abertura resultam da fusão de tecidos provenientes da crista bulbar direita, esquerda e dos coxins endocárdicos, levando à divisão conotruncal com a ligação do tronco pulmonar com o ventrículo direito e da aorta com o ventrículo esquerdo (figura 10). No ventrículo direito, o bulbo cardíaco é incorporado como infundíbulo do tronco pulmonar; no ventrículo esquerdo, forma a parede do vestíbulo aórtico.^{13, 14}

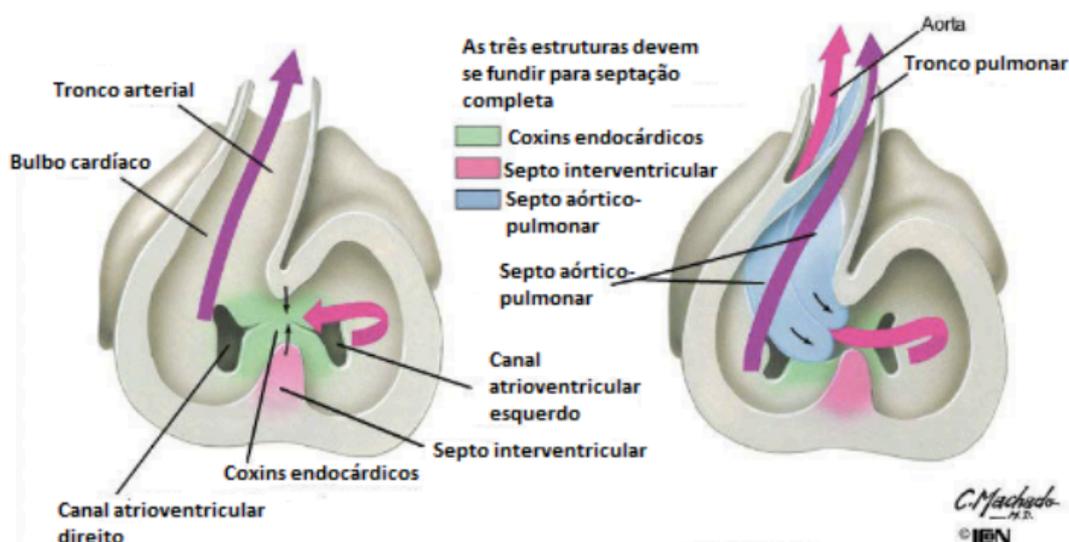


Figura 10: septação ventricular (Modificado de: COCHARD, R. Larry. *Netter's Atlas of human embryology*, Saunders Elsevier, 2002)

A parede miocárdica ventricular inicia um processo de maturação e proliferação durante o encurvamento do tubo cardíaco, que culmina com a muscularização do órgão e posterior de cavitação, formando uma massa esponjosa de feixes musculares,

que permanecem como as trabéculas cárneas - que facilitam a difusão do oxigênio para as células até o completo desenvolvimento da circulação coronária - músculos papilares e cordas tendíneas, além de ter papel fundamental na morfogênese do septo interventricular. Esta sequência, no entanto, depende da integridade do epicárdio, que gera uma sinalização bioquímica através da eritropoietina e do ácido retinoico.

Inicialmente, o espessamento dos coxins cria válvulas primitivas que vão auxiliar na manutenção de um fluxo unidirecional até que as estruturas definitivas se desenvolvam. As válvulas semilunares desenvolvem-se a partir de três tumefações de tecido subendocárdico ao redor dos orifícios da aorta e do tronco pulmonar. As válvulas atrioventriculares aparecem de modo similar, a partir de proliferações localizadas nos tecidos ao redor dos canais atrioventriculares.^{13, 14}

A via de saída é um tubo miocárdico que se inicia com base ampla na saída do ventrículo direito, o cone cardíaco, e continua como um tubo retorcido até o início do saco aórtico, um limite marcado de modo preciso pela inserção do pericárdio. Durante a quinta semana, a proliferação ativa das células mesenquimais nas paredes do bulbo cardíaco resulta na formação das cristas bulbares. Cristas similares se formam no tronco arterial, ambas derivadas principalmente do mesênquima da crista neural; concomitantemente, as cristas bulbares e do tronco se submetem a uma espiralização de 180° possivelmente causada pelo fluxo de sangue proveniente dos ventrículos e quando as cristas se fundem, dividem o bulbo cardíaco e o tronco arterial em dois canais: a aorta e o tronco pulmonar (figura 11).¹³

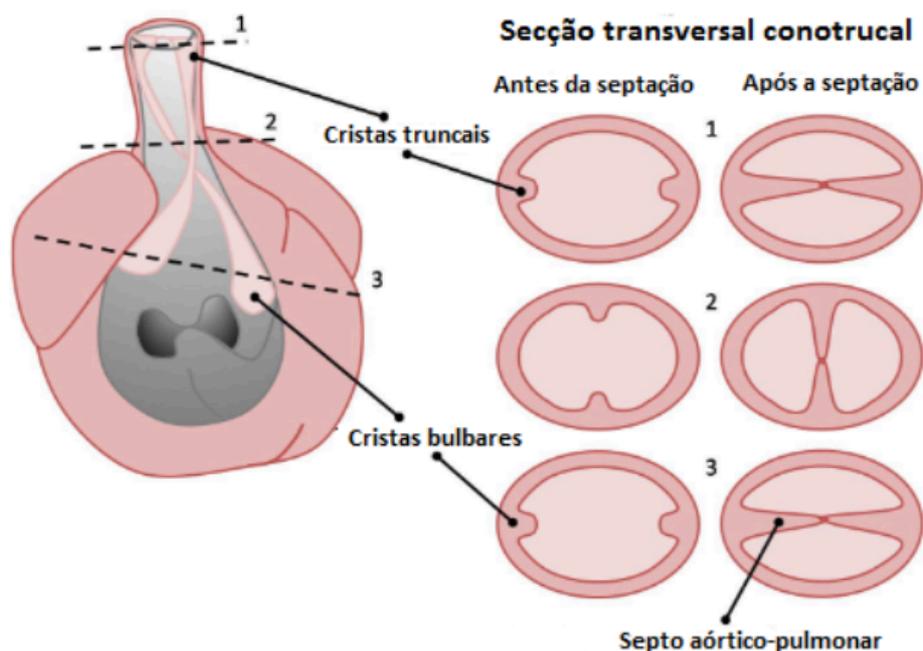


Figura 11: septação conotruncal a partir das cristas bulbares e do tronco. (Modificado de: Hill, M.A. (2018, July 24) **Embryology Main Page**. Disponível em https://embryology.med.unsw.edu.au/embryology/index.php/Main_Page, acesso em 24 de julho de 2018, às 15h45).

A circulação coronariana se forma por meio de vasculogênese, a partir de precursores do pró-epicárdio, uma população de células mesodérmicas multipotentes provenientes uma estrutura transitória que se localiza entre o seio venoso e o primórdio hepático.^{13, 14} Estas células migram para a cavidade pericárdica e aderem-se à região da junção atrioventricular, deslocando-se sobre a superfície do miocárdio e diferenciando-se nos precursores coronarianos.^{13, 14}

Quanto ao ritmo cardíaco, o átrio primitivo age inicialmente como um marcapasso provisório do coração visto que todos os miócitos epitelióide são capazes de contração rítmica, mas o seio venoso, quando incorporado ao átrio direito, dá origem ao nó sinoatrial durante a quinta semana de vida, com um pequeno grupo de células que se localizam posteriormente; células de sua parede esquerda migram para o septo interatrial, onde formam o nódulo atrioventricular e o feixe atrioventricular, que possuem rica inervação simpática e parassimpática. Estabelece-se uma alternância

entre segmentos de condução lenta (seio venoso, septo atrioventricular e cone cardíaco) e condução rápida (átrio e ventrículo) para prevenção do fluxo retrógrado. O sistema de condução se desenvolve a partir do recrutamento de miócitos embrionários multipotentes em diferentes momentos do desenvolvimento cardíaco.¹³

Divisão anatomopatológica das cardiopatias congênitas

Ao se estudar as cardiopatias congênitas, há de se considerar que as diversas estruturas que formam o coração e os grandes vasos originam-se de diferentes tecidos embrionários e respondem a uma grande variedade de vias de sinalização bioquímica. Desta forma, faz-se mister uma divisão dos principais defeitos quanto à sua anatomia e fisiopatologia, conforme segue:

Anomalias de *Situs*:

O corpo possui uma assimetria anatômica, que permite distinguir os lados direito e esquerdo. A lateralização ocorre em fases muito precoces do desenvolvimento embrionário e é comandado por uma complexa engrenagem genético-molecular, que culminam na expressão assimétrica do fator de transcrição Pitx2, que não só regula a proliferação celular via ciclina D2 como também controla a migração celular.¹⁵ As anomalias de situs ou heterotaxia consistem no arranjo anormal dos órgãos internos em todo e qualquer padrão que esteja fora do usual (*situs solitus*), normalmente gerando simetria dos apêndices atriais acompanhada de posicionamento e estrutura anormal de outras vísceras e conexões venosas anômalas.¹⁷

- a) Isomerismo direito: acompanha-se geralmente de asplenia com ambos os apêndices e ambos os brônquios de morfologia direita;

- b) Isomerismo esquerdo: poliesplenia com brônquios e apêndices atriais de morfologia esquerda bilateralmente.
- c) *Situs inversus*: embora haja lateralização, existe uma inversão no posicionamento dos órgãos, de modo que estruturas normalmente localizadas no lado direito do corpo encontram-se do lado esquerdo e vice-versa. O *Situs inversus* per se não acarreta problemas a seus portadores, porém a incidência de cardiopatias congênitas é três vezes maior que na população geral. ¹⁷

O isomerismo, seja direito ou esquerdo, é anomalia complexa, diagnosticada em aproximadamente 0,4 a 2% das crianças com doenças congênitas do coração.¹⁷

Conexões anômalas dos retornos venosos sistêmicos:

Anomalias de veia cava superior

A anomalia mais comum de veia cava superior é a presença de dupla veia cava superior, com a remanescência da veia cava superior esquerda conectada ao seio coronário, advinda da veia cardinal superior. Raramente afeta a hemodinâmica. Outras anomalias incluem hipoplasia da veia cava superior, de modo que o retorno venoso procedente da cabeça e do pescoço chega ao átrio direito através da veia cava esquerda remanescente ou das veias inominadas que se conectam ao seio coronário ou, o que é mais raro, ao átrio esquerdo.¹⁷

Anomalias da veia cava inferior

A principal anomalia de veia cava inferior é a ausência do segmento intra-hepático desta veia que passa a se comunicar com a veia cava superior direita pelo sistema ázigo ou pelo sistema hemiáximo para veia cava superior esquerda. Normalmente

está associada a outras malformações cardíacas complexas, em particular o isomerismo atrial esquerdo.¹⁷

Defeitos de septação do cone truncal:

Dupla via de saída de ventrículo direito (DVSVD)

Quando os dois vasos da base do coração estão conectados ao mesmo ventrículo, denomina-se dupla via de saída ventricular (figura 12); na maioria das vezes, esta malformação está relacionada ao

ventrículo direito; presume-se, neste caso, a existência de uma comunicação interventricular (CIV) como única saída do ventrículo esquerdo, que pode estar relacionada a um, a ambos ou a nenhum vaso da base (figura 13), embora haja

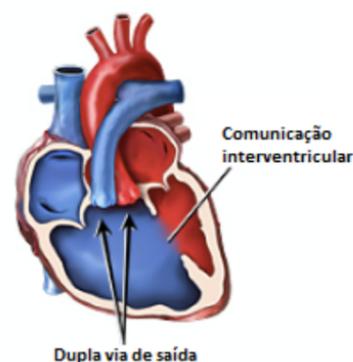


Figura 12: dupla via de saída de ventrículo direito. (Modificado de A.D.A.M images, 2018)

raros casos descritos com septo interventricular íntegro.¹⁷ As vias de saída dos vasos podem ou não estar estenóticas e um tronco arterial é considerado conectado a um ventrículo quando mais de 50% de sua circunferência - no nível da valva arterial - estiver relacionado a ele.¹⁷ A dupla via de saída pode coexistir com *situs* normal, invertido, isomerismo atrial e com todas as variações de conexões atrioventriculares. O quadro clínico é variável e depende da relação da CIV com os vasos da base, presença de obstrução na via de saída pulmonar ou sistêmica, resistência vascular pulmonar e presença de outros defeitos. A cianose central é a manifestação predominante dos pacientes com estenose pulmonar, enquanto sinais e sintomas de insuficiência cardíaca são típicos dos casos de hiperfluxo pulmonar.¹⁷

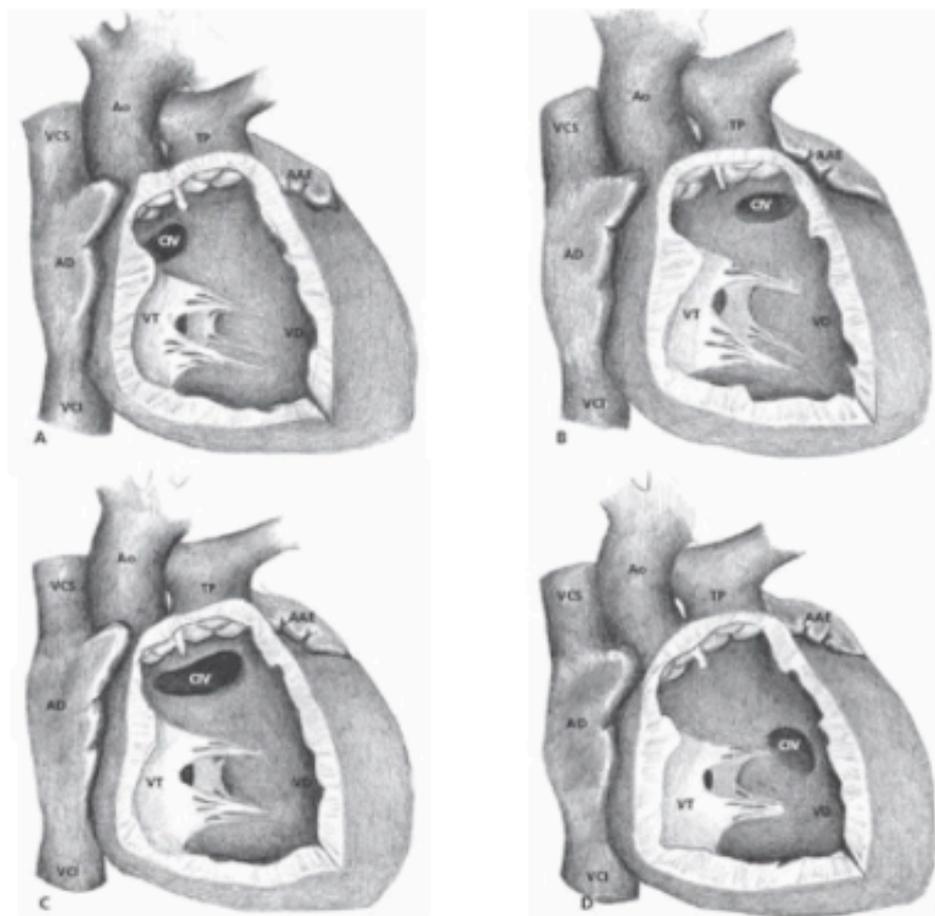


Figura 13: desenho esquemático das posições da CIV em relação aos vasos da base na DVSVD: (A) CIV subaórtica; (B) CIV subpulmonar; (C) CIV duplamente relacionada e (D) CIV não relacionada. AD: átrio direito; AAE: aurícula do átrio esquerdo; CIV: comunicação interventricular; TP: tronco pulmonar; Ao: Aorta; VCS: veia cava superior; VCI: veia cava inferior; VD: ventrículo direito; VT: valva tricúspide. (Modificado de CROTI, Ulisses Alexandre et. al. *Cardiologia e Cirurgia Cardiovascular Pediátrica*, 2ª Ed. Roca, 2013)

Tetralogia de Fallot (T4F)

A tetralogia de Fallot é a cardiopatia cianogênica mais comum, ocorrendo em 3 a 5% dos pacientes cardiopatas,¹⁸ é caracterizada anatomicamente pelo desvio anterior do septo infundibular em relação ao restante do septo interventricular, gerando mau alinhamento do septo e do cone truncal (figura 14)¹⁷, resultando em:

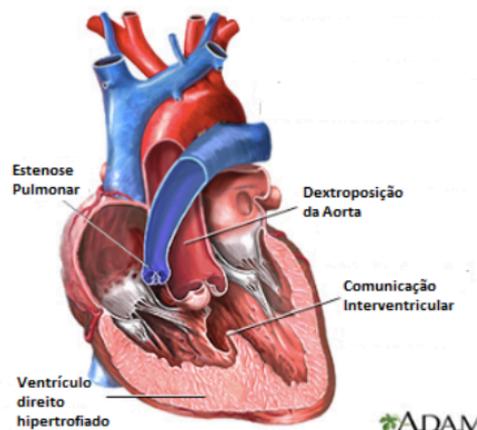


Figura 14: Alterações morfológicas na tetralogia de Fallot.

【Modificado de A.D.A.M images, 2018)】

- a) Comunicação interventricular (CIV) ampla;
- b) Obstrução muscular da via de saída do ventrículo direito (VD);
- c) Dextroposição da aorta;
- d) Hipertrofia do ventrículo esquerdo.

O fluxo pela CIV é determinado pelo grau de obstrução da via de saída do VD, podendo haver importante cianose e necessidade de correção precoce em pacientes com obstrução severa do fluxo pulmonar.^{17, 18}

Cerca de 25% dos pacientes com diagnóstico de tetralogia de Fallot possuem microdeleção 22q11.¹⁸

Atresia pulmonar com comunicação interventricular

Anomalia cardíaca caracterizada pela descontinuidade entre o ventrículo direito (VD) e o tronco pulmonar (TP), tornando obrigatório que o suprimento da circulação

pulmonar se faça por meio de *shunts* sistêmico-pulmonares, seja este o canal arterial ou vasos colaterais que podem provir de uma ou mais fontes arteriais. A atresia pode se dar no infundíbulo, na valva pulmonar ou ser supravalar e, morfológicamente, o TP pode mostrar-se hipoplásico, característica que pode estender-se às artérias pulmonares, que pelo desenvolvimento alterado do TP sofrem o mesmo processo involutivo. Pela grande variedade anatômica, o quadro clínico também é um espectro que vai desde cianose e sinais de hipofluxo pulmonar até uma congestão pulmonar exuberante, na vigência de grandes colaterais; há uma divisão morfológica proposta por Barbero Marcial (figura 15), como segue:^{17, 19}

- Tipo A: todos os 20 segmentos pulmonares estão conectados às artérias pulmonares, que são confluentes na maioria das vezes. O suprimento de sangue faz-se normalmente pelo canal arterial;
- Tipo B: os segmentos pulmonares são conectados parcialmente às artérias pulmonares centrais, sendo os segmentos restantes alimentados somente pelas colaterais, havendo frequentes alterações das artérias pulmonares como descontinuidades, estenoses, hipoplasias ou mesmo ausência unilateral;
- Tipo C: ausência de veias pulmonares centrais e todos os segmentos pulmonares recebem sangue de colaterais.

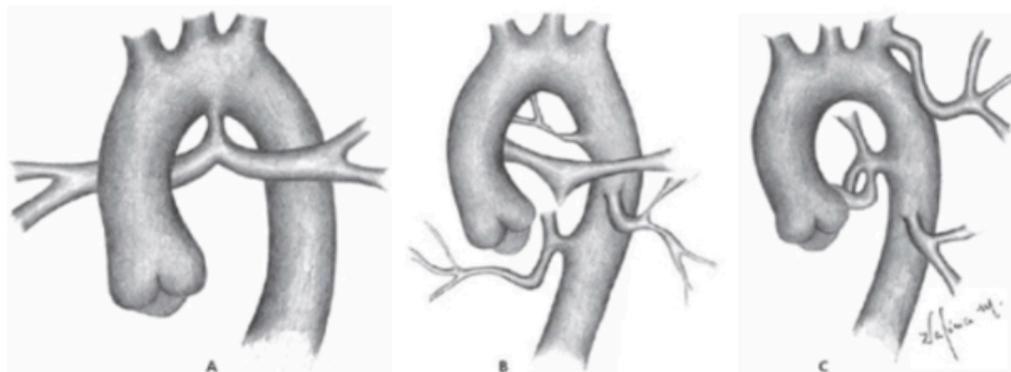


Figura 15: divisão morfológica da atresia pulmonar com CIV conforme classificação de Barbeiro-Marcial. (Modificado de CROTI, Ulisses Alexandre et. al. *Cardiologia e Cirurgia Cardiovascular Pediátrica*, 2ª Ed. Roca, 2013)

Janela aortopulmonar

Anomalia rara, ocorrendo em menos de 1% dos pacientes com cardiopatia congênita,²⁰ que corresponde a abertura circular, oval ou espiralada entre a aorta ascendente e o tronco pulmonar, porém mantendo as valvas separadas, resultante de falha de fusão das bordas conotruncais direita e esquerda, que são responsáveis por dividir o tronco arterial. Embora tenha tamanho e localização variáveis (figura 16) com classificação de acordo com a localização do defeito em relação às valvas semilunares, normalmente resulta em grande shunt esquerda-direita e, sem cirurgia corretiva, resulta em alterações irreversíveis no leito vascular pulmonar e morte na segunda década de vida.^{17, 20} Cerca de 50% dos casos ocorrem juntamente a outras malformações, principalmente interrupção do arco aórtico (11 a 20%).²⁰ Origem anômala das coronárias pode ocorrer em 5 a 10% dos casos e o diagnóstico pré-operatório torna-se particularmente difícil, visto que a elevada pressão de perfusão

determinada pelo defeito aortopulmonar não permite o aparecimento de manifestações clínicas de isquemia.²⁰

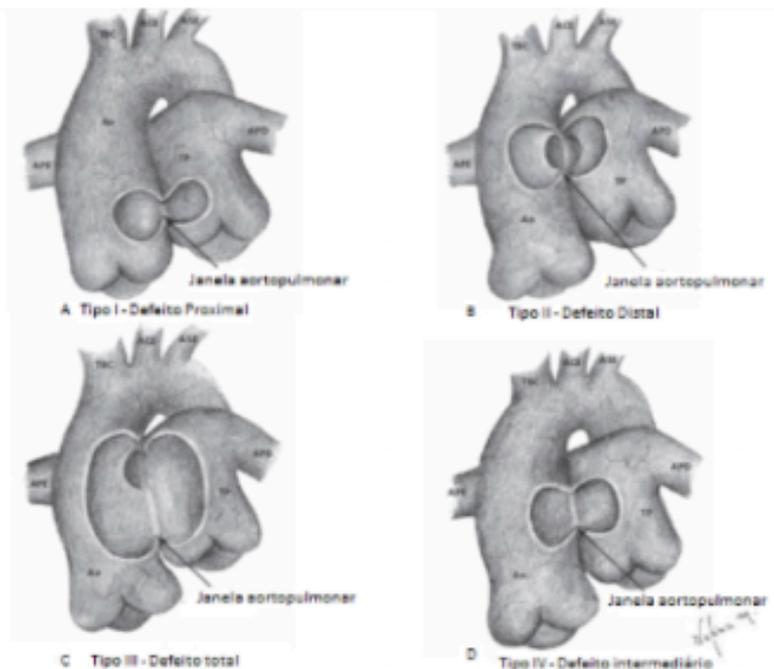


Figura 16: classificações anatômicas da janela aorto-pulmonar (A) tipo I ou proximal, mais frequente, localiza-se entre a parede medial da aorta ascendente e a bifurcação do tronco pulmonar. (B) tipo II ou distal, localiza-se entre a parede posterior da aorta ascendente e a bifurcação do tronco pulmonar. (C) tipo III, definido como completa ausência do septo pulmonar e (D) tipo IV ou intermediário, com bordas superior e inferior bem definidas, permitindo fechamento percutâneo. APE: artéria pulmonar esquerda; APD: artéria pulmonar direita; TP: tronco pulmonar; Ao: Aorta; TBC: tronco braquiocefálico; ACE: artéria carótida comum esquerda; ASE: artéria subclávia esquerda. (Modificado de CROTI, Ulisses Alexandre et. al. *Cardiologia e Cirurgia Cardiovascular Pediátrica*, 2ª Ed. Roca, 2013)

Transposição das grandes artérias (TGA)

Malformação dos grandes vasos da base onde o átrio morfologicamente direito conecta-se ao ventrículo morfologicamente direito, que, por sua vez, dá origem à

aorta e o átrio morfológicamente esquerdo, que se liga ao ventrículo morfológicamente esquerdo, que dá origem ao tronco pulmonar, determinando duas circulações em paralelo (figura 17), ou seja: a aorta se origina do ventrículo que recebe o sangue sistêmico enquanto o TP se origina daquele que recebe o sangue oxigenado, sendo incompatível com a vida se não houver comunicação entre estes circuitos, seja atrial, ventricular ou arterial. É cardiopatia congênita cianogênica mais frequente ao nascimento e a associação de anormalidades permite algum grau de sobrevivência até sua correção, porém, sem intervenção, a mortalidade chega a 89% no primeiro ano de vida.¹⁷

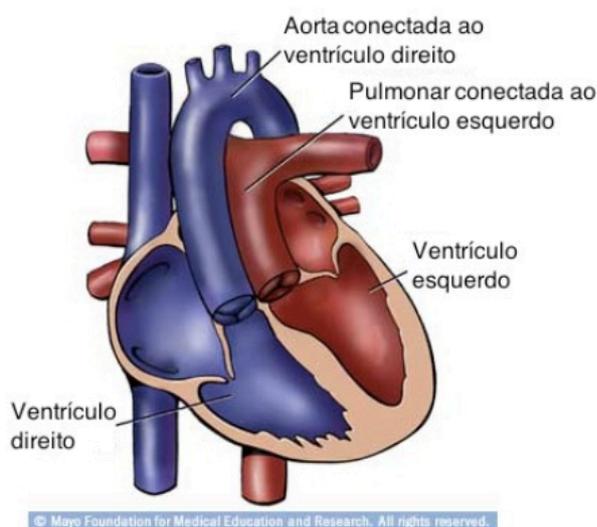


Figura 17: desenho esquemático da transposição das grandes artérias.

Fonte na imagem.

Transposição corrigida das grandes artérias (TCGA)

Combinação de discordância atrioventricular (AV) e ventriculoarterial: o átrio direito morfológico está alinhado ao ventrículo esquerdo morfológico, que, por sua vez, se conecta ao tronco pulmonar, enquanto o átrio esquerdo morfológico está alinhado ao ventrículo direito morfológico que, por sua vez, está conectado à aorta; assim, o efeito hemodinâmico da transposição arterial é anulado pela discordância atrioventricular, originando o termo "transposição corrigida" embora seja questionável a capacidade do ventrículo direito em manter a circulação sistêmica. Anomalias conotruncais e anomalias de ventrículo único são muito mais comuns na TCGA que na TGA clássica. Também são mais comuns as alterações de ritmo, visto que o mau posicionamento dos átrios em relação aos ventrículos impede que o nó atrioventricular dê origem ao sistema de condução.¹⁷

Tronco arterial comum

Também descrito como *truncus arteriosus*, é uma malformação incomum porém não é rara, perfazendo 1,1 a 2,5% das cardiopatias congênitas, ocorrendo normalmente como malformação cardiovascular isolada, embora eventualmente esteja associada à microdeleção 22q11.2.¹⁷ Caracteriza-se por uma grande artéria única, com uma valva semilunar (trivalvulada em até dois terços dos casos) que deixa a base do coração e que origina as circulações coronariana, pulmonar e sistêmica.¹⁷ Como o tronco recebe o débito dos dois ventrículos, na região subvalvar é obrigatória a existência de uma comunicação interventricular ampla, resultado da ausência ou de uma grande deficiência do septo infundibular.¹⁷ O tronco aórtico à direita está mais frequentemente relacionado ao tronco arterial comum que a qualquer outra

cardiopatias; variações na origem e na distribuição das artérias coronárias também são comuns.¹⁷

Sua classificação se dá de acordo com a origem das artérias pulmonares do tronco comum:

- Tipo I: presença de tronco pulmonar curto que dá origem às artérias pulmonares direita e esquerda, sendo o tipo mais comum (69%);¹⁷
- Tipo II: As artérias pulmonares se originam lado a lado na face posterior do tronco comum;
- Tipo III: as artérias pulmonares se originam separadamente do tronco comum.

O erro básico de desenvolvimento é a falta de septação conal e aortopulmonar, sendo associado o septo infundibular ausente ou deficiente.¹⁷

Defeitos dos arcos faríngeos

Interrupção do arco aórtico (IAAo)

O arco aórtico humano definitivo resulta dos seis pares branquiais primitivos interconectados às duas aortas dorsais bilaterais.¹³ A IAAo é definida pela ausência de continuidade anatômica entre a aorta ascendente e a descendente, possivelmente por falha na regressão dos arcos aórticos primitivos e cerca de 50% dos casos estão associados à síndrome de deleção 22q11.2.^{17, 21} A associação com outras malformações, especialmente comunicação interatrial ou interventricular, é comum (98% dos casos)²¹, uma vez que há obstrução da ejeção ventricular

esquerda, aumentando o shunt esquerda-direita e o calibre do forame oval do

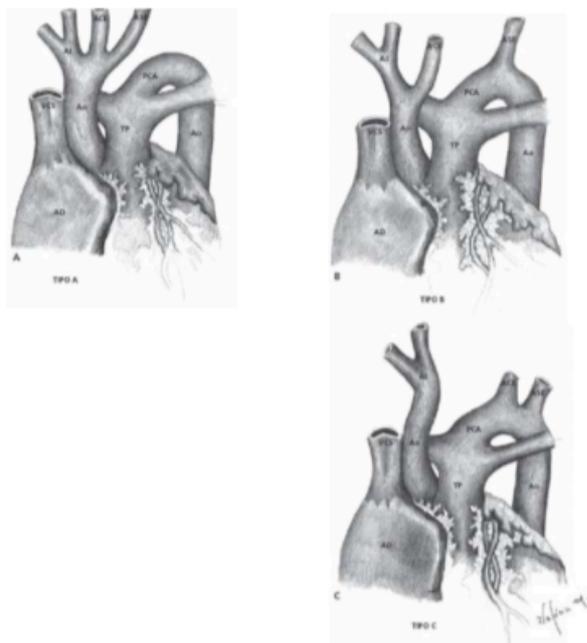


Figura 18: Desenhos esquemáticos da classificação da interrupção do arco aórtico, definida pelo local da interrupção. (A) o tipo A é interrompido após a artéria subclávia esquerda (ASE); (B) o tipo B é interrompido entre a artéria carótida esquerda (ACE) e ASE e (C) o tipo C, cuja interrupção é entre a artéria inominada e a artéria carótida direita (ACD). (Modificado de CROTI, Ulisses Alexandre et. al. *Cardiologia e Cirurgia Cardiovascular Pediátrica*, 2ª Ed. Roca, 2013)

recém-nascido.¹⁷ Quase sempre, a via de saída do ventrículo esquerdo (VSVE), o anel aórtico e aorta ascendente apresentam sinais de hipodesenvolvimento.¹⁷ O fluxo pulmonar para aorta descendente é mantido pelo canal arterial e o fechamento desta estrutura normalmente torna a condição letal.¹⁷ Esta anomalia é dividida em três tipos (figura 18)^{16, 20}:

- Tipo A: interrupção

mais distal, após a artéria subclávia esquerda;

- Tipo B: o tipo mais comum, chegando a 84% dos casos.²¹ Situa-se entre a subclávia e a carótida esquerda. A deleção 22q11.2 está presente em 75% dos casos.²¹
- Tipo C: tipo mais raro, apenas 5% dos casos.²¹ Mais proximal, localiza-se após a emergência do tronco braquiocefálico.

Aneis vasculares

Anomalias vasculares congênitas que formam um círculo de vasos em torno da traqueia e do esôfago, comprimindo estas estruturas, secundárias ao desenvolvimento embrionário anormal dos arcos aórticos.¹⁷ Sua prevalência é desconhecida, pois muitos pacientes são assintomáticos.¹⁷ Dois grupos de lesões podem ser identificados:

- Duplo arco aórtico: causa mais frequente de compressão traqueoesofágica. Aqui, a aorta ascendente tem origem normal, mas ao sair do pericárdio, se divide em dois ramos: anterior (esquerdo) e posterior (direito) que dão origem à carótida comum e subclávia esquerdas e direitas, respectivamente e se fundem no dorso para formar a aorta descendente. e, cerca de 70% dos casos, o arco direito é dominante, possuindo maior diâmetro (figura 19).¹⁷
- Arco aórtico à direita com imagem em espelho: resulta da interrupção do arco embrionário esquerdo distal ao canal arterial e pode formar um anel quando os vasos do pescoço se originam como uma imagem em espelho.¹⁷

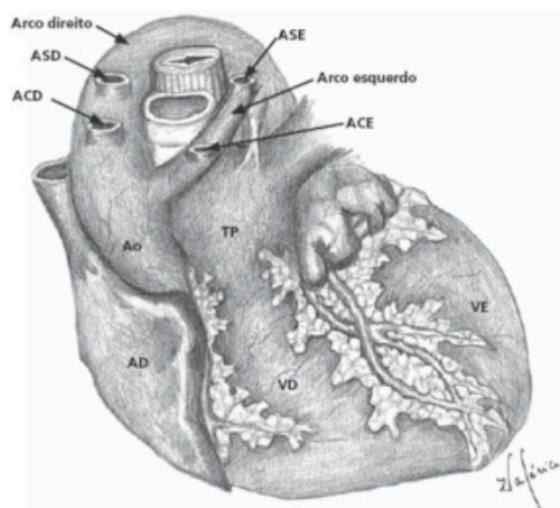


Figura 19: desenho esquemático de duplo arco aórtico com dominância à direita. ASD: artéria subclávia direita; ACD: artéria carótida comum direita; ASE: artéria subclávia esquerda; ACE: artéria carótida comum esquerda. (Modificado de CROTI, Ulisses Alexandre et. al. *Cardiologia e Cirurgia Cardiovascular Pediátrica*, 2ª Ed. Roca, 2013)

Fluxo sanguíneo intracardíaco anormal

Comunicação interatrial tipo *Ostium Secundum*:

Defeito representado por abertura que permite a passagem de sangue entre os átrios, restrita aos limites da fossa oval.¹⁷ Como defeito isolado tem alta prevalência, mas também coexiste com múltiplas cardiopatias, simples e complexas, e em algumas, sua presença é fundamental para a sobrevivência pós-natal (figura 20).^{16,17}

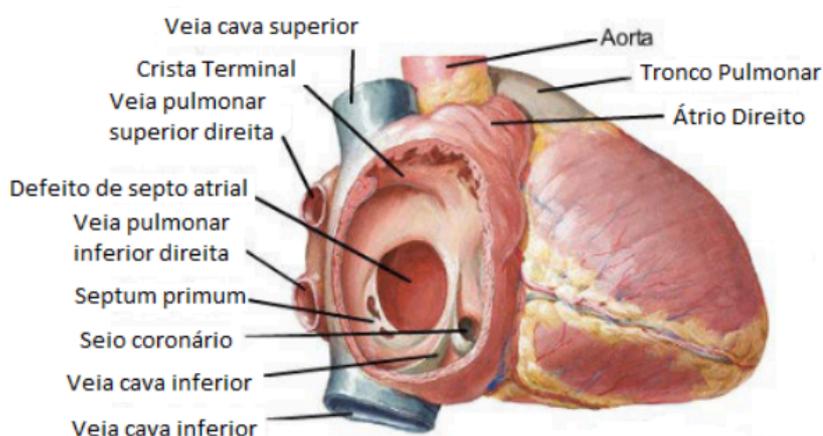


Figura 20: CIA tipo *ostium secundum* vista do átrio direito. (Modificado de: COCHARD, R. Larry. *Netter's Atlas of human embryology*, Saunders Elsevier, 2002)

Comunicação interventricular (CIV)

É um dos defeitos cardíacos mais comuns, podendo chegar a 40% de todas as malformações, embora sua prevalência se altere conforme a faixa etária estudada, visto que pequenos orifícios presentes ao nascimento podem se fechar.²²

Caracteriza-se anatomicamente pela presença de um ou mais orifícios de tamanho e formatos variáveis no septo interventricular, possibilitando a passagem da câmara de maior pressão para a de menor pressão. Aproximadamente 50% dos casos associam-se com outras alterações anatômicas cardiovasculares.¹⁷ Podem ser

classificados grosseiramente como musculares ou membranosos, embora estes últimos não se restrinjam apenas a esta região, frequentemente envolvendo o septo muscular adjacente.^{17, 22} Seu tamanho é bastante variável, tendendo a ser maior quando sua localização é membranosa e perimembranosa, enquanto defeitos musculares tendem a fechamento espontâneo.¹⁷ São suas classificações (figura 21):

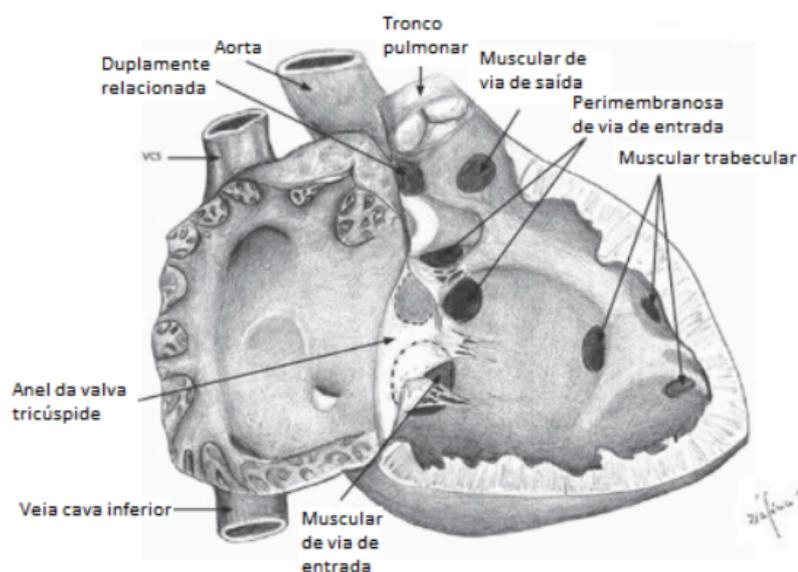


Figura 21: classificação morfológica das comunicações interventriculares. (Modificado de CROTI, Ulisses Alexandre et. al. *Cardiologia e Cirurgia Cardiovascular Pediátrica*, 2ª Ed. Roca, 2013)

- Defeitos perimembranosos - são as mais comuns, ocorrendo em cerca de 80% dos casos.¹⁷ Levam a graus variáveis de desalinhamento entre os septos infundibular e anterior, podendo produzir cavalgamento da aorta.
 - a. Com extensão para a via de entrada;
 - b. Com extensão para a porção trabecular;
 - c. Com extensão para a via de saída.
- Defeitos musculares – orifícios circundados exclusivamente por tecido muscular.²²

- a. Da via de entrada;
 - b. Da via de saída;
 - c. Apicais.
- Defeitos duplamente relacionados ou justarteriais: localizam-se anatomicamente acima da crista supraventricular, logo abaixo da valva pulmonar e da válvula coronariana direita.^{17, 22} Tem incidência aumentada em pacientes de origem japonesa, perfazendo 30% dos casos nesta população.¹⁷

Defeitos de coração esquerdo

Síndrome da hipoplasia do coração esquerdo (SHCE)

Conjunto de anomalias cardíacas congênitas que consistem em hipoplasia significativa ou ausência do ventrículo esquerdo (figura 22), que é incapaz de manter a circulação sistêmica, e hipoplasia da aorta ascendente, associada a diferentes malformações valvares:¹⁷

- Atresia aórtica e atresia mitral (mais comum);
- Atresia aórtica e estenose mitral
- Estenose aórtica e atresia mitral (menos comum)
- Estenose aórtica e estenose mitral.

Diversos mecanismos podem estar associados a tão complexa cardiopatia: no feto, o átrio esquerdo se enche de sangue através do forame oval, e impedimentos a este fluxo, como um forame oval de menores dimensões, poderia ser um fator de hipodesenvolvimento das câmaras esquerdas.²³ O desenvolvimento valvar anormal também poderia justificar tais defeitos.²³

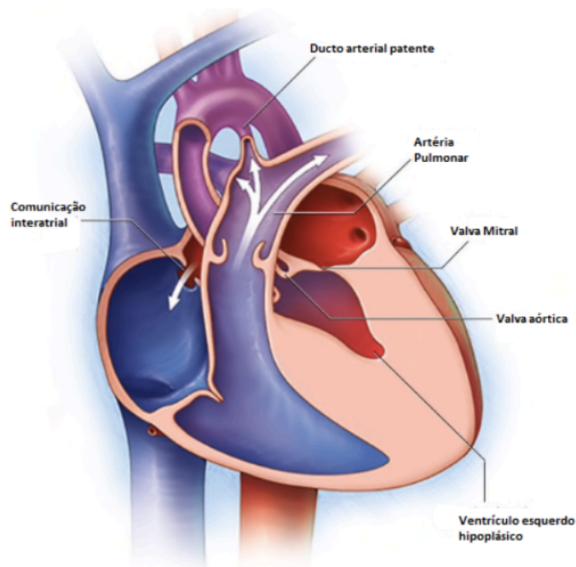


Figura 22: desenho esquemático demonstrando alterações anatomopatológicas da síndrome do coração esquerdo hipoplásico.

Coarctação de Aorta (CoAo)

Anomalia congênita da aorta que leva a uma constrição no istmo aórtico, entre a subclávia esquerda e a inserção do canal (ou ligamento) arterial decorrente de espessamento da média associada à sobreposição de neoformações do tecido da íntima, demandando a manutenção do canal arterial para adequada perfusão da aorta inferior, a depender do grau e extensão da obstrução.^{17, 24} Sua prevalência varia de 5 a 8% das cardiopatias congênitas, sendo o defeito mais comum na Síndrome de Turner.²⁴ Duas hipóteses são sugeridas para a fisiopatologia: alterações hemodinâmicas decorrentes da angulação do canal arterial em relação à aorta ou a presença de tecido ductal ectópico nesta.²⁴ Comumente associada a outras malformações, principalmente CIV e persistência do canal arterial.¹⁷ Anomalias não cardíacas, como anomalias no polígono de Willis, podem estar presentes em 10% dos casos.^{17, 24}

Defeitos do coração direito:

Atresia pulmonar com septo interventricular íntegro

Malformação cardíaca complexa e rara (cerca de 3% das malformações cardíacas) caracterizada pela obstrução completa do fluxo sanguíneo do ventrículo direito (VD) para o tronco pulmonar (TP) ou para o ventrículo esquerdo (VE).^{17, 25} A maioria dos pacientes apresenta forame oval patente não restritivo ou CIA tipo *Ostium Secundum* (20% dos casos) essenciais para a sobrevivência.¹⁷ Postula-se que a obstrução do fluxo pulmonar tardiamente na vida fetal levaria a um hipodesenvolvimento da valva pulmonar, levando a um espectro de anomalias associadas.²⁵ A valva tricúspide normalmente é malformada, variando entre estenose grave, até valva displásica ou mesmo desguarnecida de tecido valvar, com insuficiência maciça ou associada à doença de Ebstein.¹⁷ O ventrículo direito tem morfologia extremamente variável, com diferentes graus de hipoplasia da via de entrada, porção trabecular e via de saída; a estrutura muscular pode apresentar uma série de anormalidades como isquemia, fibrose, infarto, aspecto esponjoso ou fibroelastose.¹⁷ Uma série de anomalias das artérias coronárias pode ocorrer: uma artéria coronária única pode se originar da aorta ou, mais raramente, do tronco pulmonar. Pode haver ainda ausência de conexão proximal entre as coronárias, estenose, interrupção ou a chamada fístula coronarianocameral, que se caracteriza por uma grande fístula entre uma das coronárias e o VD, de modo que o fluxo coronariano é realizado de forma retrógrada a partir do VD, que trabalha com pressão suprasistêmica.^{17, 25} O tronco e os ramos pulmonares são geralmente bem desenvolvidos, as artérias, confluentes e o fluxo, mantido pelo canal arterial.¹⁷

Anomalias de morte celular

Doença de Ebstein

Anomalia congênita rara, que corresponde a menos de 1% das cardiopatias congênitas,²⁶ determinando alterações de todos os folhetos valva tricúspide e miocárdio subjacente, de morfologia variável.¹⁷ A maioria dos casos é esporádica.²⁶ O deslocamento apical e aderência ao miocárdio subjacente dos folhetos septal e posterior da valva são os achados característicos, deslocando o anel valvular para a região do trato de saída do ventrículo direito, causando “atrialização” desta câmara e redundância do folheto anterior (figura 23).^{17, 26} O átrio direito, a junção atrioventricular e o VD tendem à dilatação secundariamente à sobrecarga volumétrica pela redução do fluxo anterógrado do sangue através do coração direito, instalando-se progressiva regurgitação da valva mitral.^{17, 26} A porção “atrializada” do VD tem as paredes finas e diferentes graus de disfunção, podendo ocorrer inclusive estenose ou atresia pulmonar funcional, pela incapacidade do VD de bombear sangue através da via de saída.^{17, 26} O forame oval patente ou CIA estão presentes em 80 a 90% dos casos.^{17, 26} A presença de canal arterial também é comum e pode ser a única forma de fluxo pulmonar na vigência de atresia pulmonar anatômica ou funcional.²⁶ A presença de estenose ou atresia pulmonar é descrita em diversos estudos, normalmente associada a prognóstico desfavorável.²⁶ Pacientes com transposição corrigida das grandes artérias ou inversão ventricular possuem valva tricúspide sistêmica que preenche critérios anatômicos para anomalia de Ebstein em até 50% dos casos, embora normalmente haja pouca atrialização do VD.²⁶ Há ainda elevada incidência de arritmias, com destaque para a síndrome de Wolff-Parkinson-White.²⁶ A anomalia de Ebstein é dividida em:

- Tipo A: o deslocamento do folheto septal é mínimo, a câmara atrializada é pequena e o ventrículo verdadeiro tem volume adequado. A válvula anterior muito próxima ao normal.^{17, 26}
- Tipo B: A câmara atrializada é grande porém bem individualizada, com contratilidade normal ou levemente diminuída. O folheto anterior da valva tricúspide move-se livremente.^{17, 26}
- Tipo C: o folheto septal reduz-se a um resquício fibroso, o posterior está ausente ou aderido à parede ventricular e o folheto anterior é também severamente restrito, podendo causar obstrução da via de saída. A câmara intermediária é volumosa e sua parede pode ser aneurismática.^{17, 26}

- Tipo D: os folhetos valvulares são de difícil individualização por estarem em parte ou totalmente aderidos à parede ventricular. A musculatura e ventricular direita é fina e hipocontrátil e o VD é quase completamente atrializado.^{17, 26}

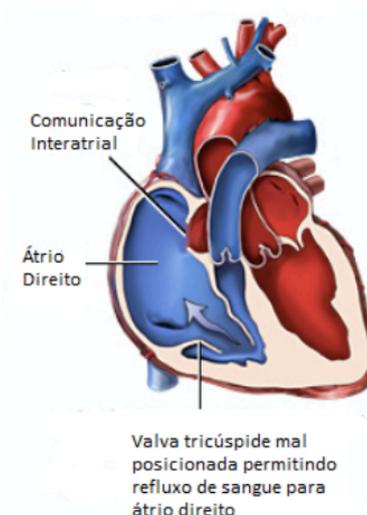


Figura 23: desenho esquemático da anomalia de Ebstein. (Modificado de A.D.A.M images, 2018)

Defeitos de matriz extracelular

Defeito do septo atrioventricular (DSAV)

O termo “defeito do septo atrioventricular” cobre um espectro de malformações cardíacas caracterizada pela ausência ou deficiência das estruturas septais atrioventriculares normais (figura 24).^{17, 27} Em geral, está associada aos pacientes portadores de síndrome de Down, e sua forma parcial também pode ser encontrada na síndrome de deleção 22q11 e Ellis-Van Creveld.¹⁷ Há relatos de casos de herança autossômica dominante.²⁷ Há evidências que alterações no gene SHH ou de genes de células ciliadas alterem a migração do mesoderma distal derivado do campo cardíaco secundário, resultando em defeito de fechamento atrioventricular.¹⁷

A separação atrioventricular pode ser feita por um ou dois orifícios, mas uma característica essencial desta malformação é a manutenção de 5 folhetos, sendo que dois relacionam-se com ambos ventrículos (folhetos-ponte), um com o ventrículo esquerdo (folheto mural esquerdo) e os outros dois, com o ventrículo direito (folhetos anterior e inferior direitos).¹⁷

O DSAV pode ser classificado e várias formas:

- Quanto ao número de orifícios (figura 25)¹⁷:
 - a. Total ou completo: a valva atrioventricular (AV) tem orifício único e as comunicações interatrial (CIA) tipo *Ostium Primum* e interventricular de via de saída estão presentes;¹⁷

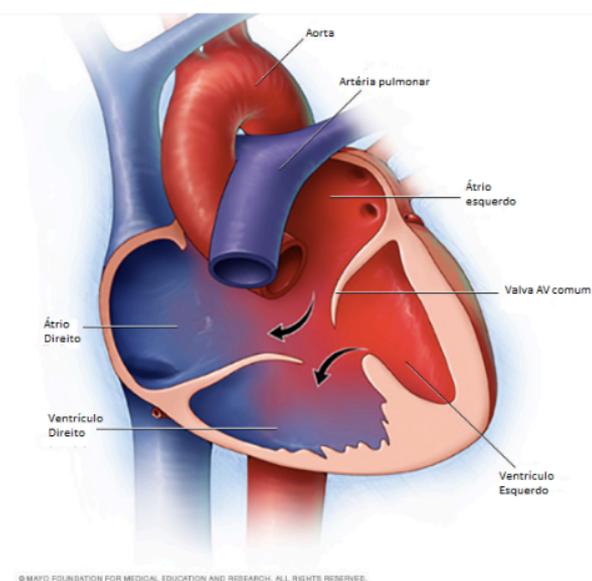


Figura 24: desenho esquemático do defeito de septo atrioventricular (na figura, com orifício AV único). Créditos na imagem.

- b. Intermediária ou transicional: a valva AV tem dois orifícios, CIA tipo *Ostium Primum* e CIV pequena, restritiva, situada sob a área de fusão dos folhetos-ponte;¹⁷
- c. Parcial ou incompleta: existem CIA tipo *Ostium Primum* e dois orifícios valvares.¹⁷

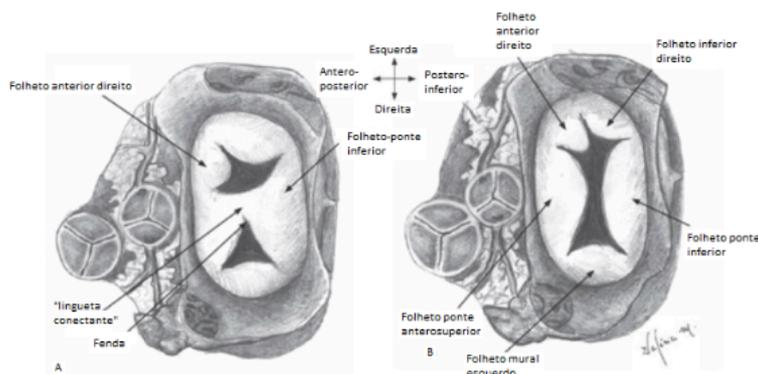


Figura 25: esquema dos arranjos básicos dos folhetos na valva atrioventricular única com (A) dois orifícios e (B) um orifício. (Modificado de CROTI, Ulisses Alexandre et. al. *Cardiologia e Cirurgia Cardiovascular Pediátrica*, 2ª Ed. Roca, 2013)

- Quanto ao balanceamento:
 - a. DSAV balanceado: a junção AV é igualmente relacionada a ambos os ventrículos, que possuem tamanhos comparáveis;¹⁷
 - b. Dominância esquerda: a junção AV favorece o ventrículo esquerdo com hipoplasia do direito;¹⁷
 - c. Dominância direita: a junção AV está relacionada de modo predominante com o ventrículo direito e, em geral, o ventrículo esquerdo é hipoplásico.¹⁷
 - d. Comunicação interatrial tipo *Ostium Primum*: presente na maioria das vezes na forma parcial de defeito do septo atrioventricular, embora se comporte como uma CIA, consiste em parte do espectro do DSAV, como discutido anteriormente (Figura 26)¹⁷.

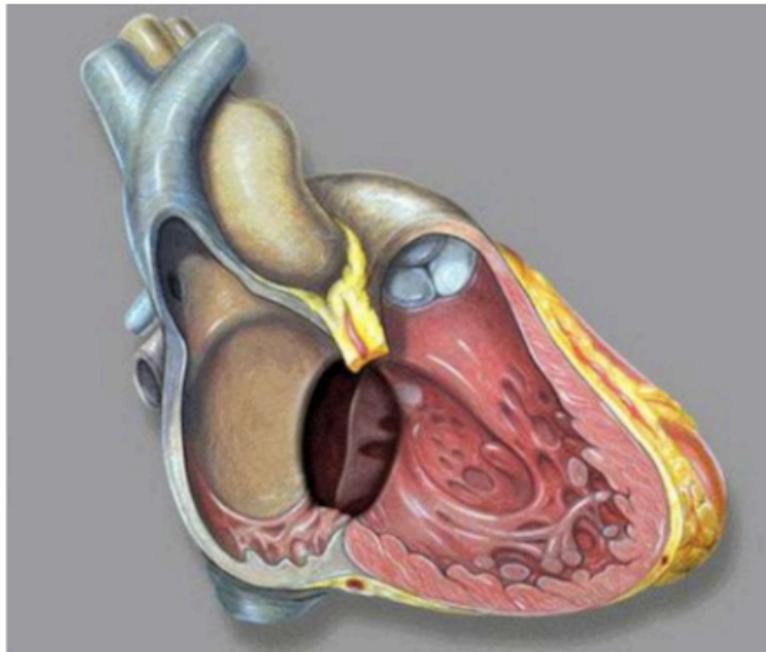


Figura 26: CIA tipo *ostium primum* vista a partir do átrio e ventrículo direitos.

(Patrick J. Lynch, 2006)

- e. Átrio único ou comum: variedade extrema de CIA onde há ausência dos septos que dividem o átrio primitivo (figura 27), provavelmente por falha no desenvolvimento do *ostium primum*, havendo, desta forma, uma única câmara que recebe tanto o sangue sistêmico quanto o pulmonar - podendo ou não associar-se com conexões venosas anômalas - e se comunica com os dois átrios por meio das valvas atrioventriculares. As paredes direita e esquerda do átrio único tem características morfofuncionais típicas dos átrios direito e esquerdo, respectivamente, salvo casos de isomerismo e heterotaxia.¹⁷

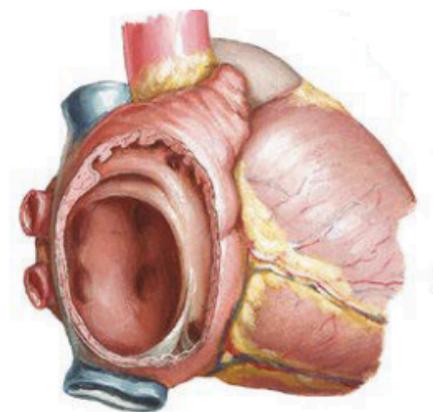


Figura 27: CIA tipo átrio único, vista a partir do átrio direito. (Modificado de: COCHARD, R. Larry. *Netter's Atlas of human embryology*, Saunders Elsevier, 2002)

Diversos defeitos estão associados ao DSAV, entre eles a tetralogia de Fallot, principalmente em pacientes com Síndrome de Down, isomerismo atrial direito ou esquerdo, este último podendo apresentar átrio e/ou ventrículo único.²⁷ Tronco arterial comum, transposição das grandes artérias, anomalia de Ebstein e cor triatriatum são ocasionalmente citados.²⁷

Crescimento anormal de tecido-alvo

Comunicação interatrial tipo Seio Venoso

Lesão congênita rara, quase sempre encontrada na junção da desembocadura da veia cava superior e o átrio direito (figura 28), podendo inclusive ocorrer importante cavalgamento da veia cava superior com desvio de sangue para o átrio esquerdo e marcada cianose. Em 90% dos casos está associada com a conexão anômala parcial de veias pulmonares dos lobos superior e médio direitos.¹⁷

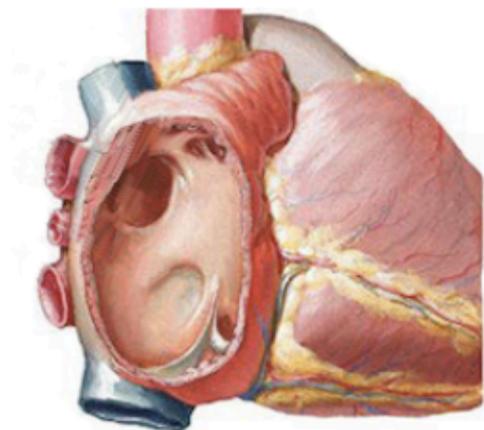


Figura 28: CIA tipo seio venoso. (Modificado de: COCHARD, R. Larry. *Netter's Atlas of human embryology*, Saunders Elsevier, 2002)

Drenagem anômala total de veias pulmonares (DAVP)

Malformação congênita em que as veias pulmonares estão direta ou indiretamente ligadas ao átrio direito secundária à falha do desenvolvimento da veia pulmonar comum e de sua incorporação no átrio esquerdo.¹⁷ Corresponde a 1 a 5% das anomalias cardíacas congênitas, levando a um quadro grave já ao nascimento.²⁸ Pode ser encontrada de forma isolada ou associada a uma grande variedade de malformações cardíacas, principalmente em associação com síndromes heterotáxicas.^{17,28} É imperativa a existência de um *shunt* esquerda- direita, na maior parte das vezes, uma CIA tipo forame oval ou, menos comumente, canal arterial patente, e observa-se sinais de sobrecarga das câmaras direitas.^{17, 28} Quase sempre ocorre uma anastomose entre o plexo venoso pulmonar e as veias sistêmicas e a persistência dessas conexões embrionárias nos planos supra, intra e infracardiaco permitem a classificação da DAVP (figura 29):

- Supracardiaca: subtipo mais comum, ocorrendo em 44% dos casos.²⁸ o local de comunicação venosa resulta de remanescentes do sistema nervoso cardinal direito ou esquerdo. A forma mais frequente é aquela que as veias pulmonares

drenam em uma via pulmonar comum, chamada de seio venoso pulmonar, que se comunica, por meio da veia vertical, com a veia inominada esquerda, que se inclina para a direita e para baixo, em direção à veia cava superior e se abre no teto do átrio direito, produzindo a imagem típica em "boneco de neve" que é vista no estudo radiográfico (figura 30). Quando o seio pulmonar é posterior à artéria pulmonar esquerda, há dificuldade de drenagem e consequente hipertensão pulmonar.^{17, 28}

- Intracardíaca: representa cerca de 21% dos casos.²⁸ As veias pulmonares podem se abrir diretamente no átrio direito, normalmente em sua região posteroinferior, ou no seio coronário, tornando-o muito dilatado, ou drenar diretamente na veia cava superior direita ou veia cava superior esquerda persistente.^{17, 28}
- Infracardíaco: ocorre em aproximadamente 26% dos casos. O fluxo venoso segue um trajeto subdiafragmático é direcionado pela veia vertical que, com frequência, abre-se na veia porta, podendo também drenar para as veias hepáticas, veia cava inferior, sistema ázigo ou para o ducto venoso.^{17, 28} Embora a drenagem venosa possa estar lentificada e até obstruído em todos os quadros de drenagem anômala, nos quadros infracardíacos esta característica é mais comum (ocorrendo em até 78% dos casos) pelo estreitamento extrínseco determinado pelo diafragma, levando a edema pulmonar precoce.²⁸

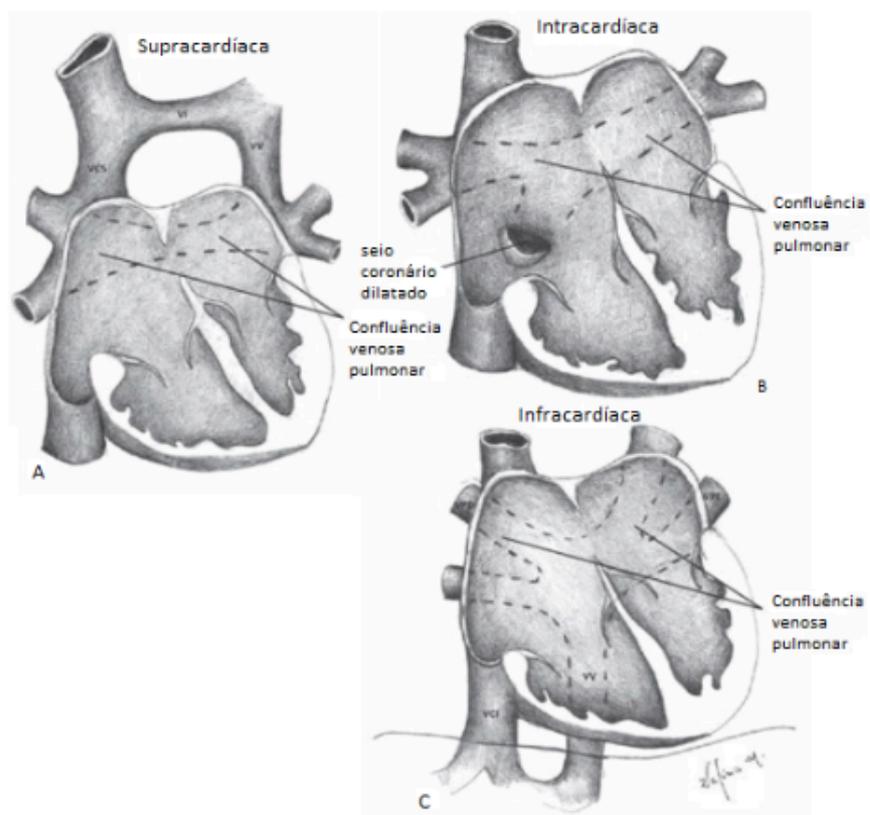


Figura 29: desenhos esquemáticos demonstrando os tipos de conexão anômala total de veias pulmonares: (A) supracardiaca; (B) intracardiaca e (C) infracardiaca. (Modificado de CROTI, Ulisses Alexandre et. al. *Cardiologia e Cirurgia Cardiovascular Pediátrica*, 2ª Ed. Roca, 2013)



Figura 30: raio-x de tórax "em boneco de neve", típico de quadros de drenagem anômala total de veias pulmonares. (ATIK, Edmar. Arq Bras Cardiol 2009;92(3))

Drenagem anômala parcial das veias pulmonares (DAPVP)

Condição em que os óstios venosos pulmonares não estão todos relacionados ao átrio esquerdo como deveriam, podendo envolver apenas um ou ambos os pulmões, ocorrendo em maior frequência no pulmão direito. Corresponde a 0,4 a 0,7% das cardiopatias congênitas. Está quase sempre associada a uma CIA tipo seio venoso.^{17, 28} Os pacientes normalmente são pouco sintomáticos ou mesmo assintomáticos.²⁸

Síndrome da cimitarra

Conjunto raro de anomalias incluindo a presença de conexão anômala parcial ou total do pulmão direito com a veia cava inferior, imediatamente acima da entrada das

veias supra-hepáticas, junção cava-atrial inferior ou na região mais baixa do átrio direito.²⁸ Radiologicamente, a anomalia é vista como uma curva vertical suave que lembra a espada turca denominada cimitarra (figura 31).^{17, 29} Em dois terços dos casos, a veia cimitarra é responsável pela drenagem de todo pulmão direito.²⁹ Habitualmente é uma veia única, que passa anteriormente ao hilo pulmonar e perfura o diafragma na direção da veia cava inferior, onde entra anterior, superior ou lateral ao orifício da veia hepática direita, embora variações consideráveis tenham sido observadas.²⁹ Associa-se frequentemente a dextrocardia, hipoplasia do pulmão direito (virtualmente 100% dos pacientes possuem algum grau de hipoplasia pulmonar) e da artéria pulmonar direita e presença de artérias colaterais sistêmico-pulmonares originando-se da aorta inferior, conhecido como sequestro pulmonar.^{17, 29} Ocorre hipertensão pulmonar, portanto, não pela drenagem anômala, mas pela presença do suprimento adicional de circulação arterial pelas colaterais sistêmicas.¹⁷

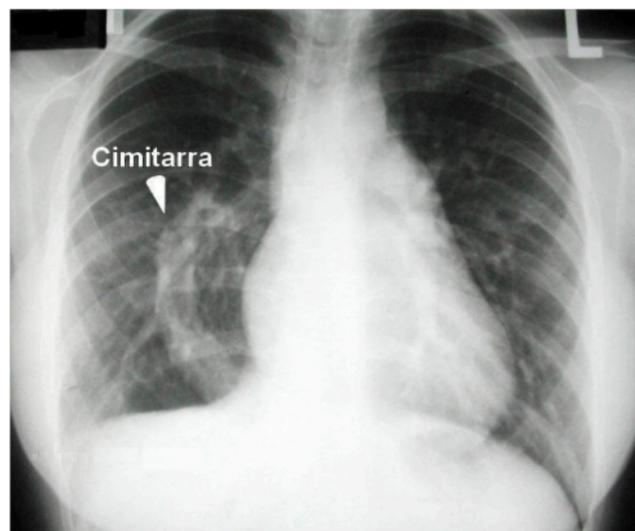


Figura 31: raio-x de tórax demonstrando a conexão anômala das veias pulmonares como um vaso dilatado e recurvado.

Cor triatriatum

Anomalia congênita rara caracterizada pela subdivisão do átrio esquerdo em duas câmaras por uma membrana fibromuscular: uma câmara atrial esquerda proximal ou câmara pulmonar comum, localizada posterosuperior, onde drenam as veias pulmonares; e a câmara atrial esquerda distal, anteroinferior, ou átrio esquerdo

verdadeiro, que possui o apêndice atrial e a valva mitral (figura 32).^{17, 30} As comunicações entre estas câmaras se fazem por meio de orifícios únicos ou múltiplos podendo variar entre 3 e 10 mm, normalmente com importante restrição ao fluxo pulmonar e conseqüente hipertensão venosa pulmonar.¹⁶ O forame oval normalmente encontra-se patente.³⁰ Drenagem anômala das veias pulmonares, parcial ou total, é a principal cardiopatia associada.³⁰ Sugere-se que sua origem embriológica se encontra na estenose da veia pulmonar comum quando desemboca no átrio esquerdo, o que não só a torna permanente como dilatada, originando a câmara acessória.¹⁷

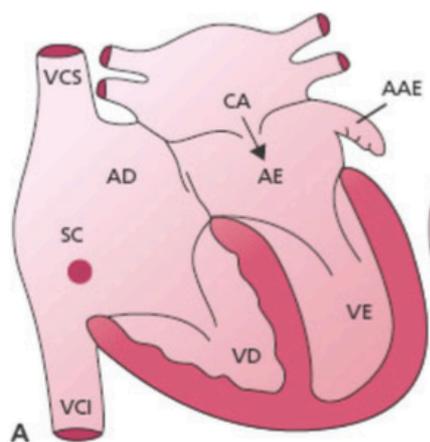


Figura 32: *cor triatriatum* clássico, com membrana fibrosa dividindo o átrio esquerdo em câmara acessória (CA) ou câmara esquerda proximal, que recebe as quatro veias pulmonares e o átrio esquerdo (AE) verdadeiro, ou câmara esquerda distal, que contém o apêndice atrial esquerdo (AAE) e a valva mitral. VD: Ventrículo direito; VE: ventrículo esquerdo; SC: seio coronário; VCS: veia cava superior; VCI: veia cava inferior. (Modificado de CROTI, Ulisses Alexandre et. al. *Cardiologia e Cirurgia Cardiovascular Pediátrica*, 2ª Ed. Roca, 2013)

Origem anômala de coronária

Anomalia cuja incidência varia de 0,3 a 1,5% das cardiopatias congênitas, podendo ser benigna ou potencialmente grave.³¹

Quando a origem do vaso é a aorta, anomalias de trajeto e distribuição tem pequena ou nenhuma repercussão clínica em corações normais.¹⁷ A origem anômala da coronária direita a partir do tronco pulmonar também é de pouca importância clínica devido à baixa pressão intramural do ventrículo direito, que permite perfusão retrógrada a partir de colaterais provenientes da coronária esquerda, e é descrita como achado acidental em necropsias.¹⁷ Fisiopatologicamente, a origem anômala da coronária esquerda emergindo do tronco pulmonar é a mais grave, onde a oxigenação de todo o miocárdio do ventrículo esquerdo depende da perfusão retrógrada a partir de colaterais provenientes da coronária esquerda, visto que ao nascimento há importante queda da pressão no tronco pulmonar, gerando um *shunt* de grande magnitude com roubo de fluxo coronariano e hipóxia sustentada.^{17, 31} Geralmente, trata-se de um defeito isolado, mas pode associar-se a outras cardiopatias em 5% dos casos.³¹

Persistência do canal arterial

Refletindo o aumento da sobrevivência de bebês prematuros, a prevalência do canal arterial patente tem se elevado e é uma das cardiopatias congênitas mais frequentes, resultando da falta de oclusão do canal entre o istmo da aorta e o teto da bifurcação do tronco pulmonar^{17, 32} (figura 33) que é fisiológica na vida fetal e tende a se fechar com a redução das prostaglandinas circulantes e aumento da tensão de oxigênio que ocorrem com a retirada da circulação placentária e início da ventilação pulmonar ao nascimento. Em recém nascidos a termo saudáveis, o

canal arterial se fecha em até 72 horas em 90% dos casos.³² O fechamento, no entanto, é menos eficaz e mais demorado em prematuros, cujo tecido do canal é menos sensível a estas mudanças, sendo estes os principais acometidos.¹⁷ Canais arteriais patentes em crianças com mais de 3 meses do termo da gestação são histologicamente caracterizados por um aumento da elastina subendotelial, sendo considerada uma malformação congênita da parede do vaso.³² Em humanos, 8 a 11% dos pacientes com PCA tem alguma anomalia cromossômica.³² O quadro clínico é variável, devendo-se principalmente ao tamanho e à resistência do canal, que carreará sangue da aorta para o tronco pulmonar, pela maior pressão sanguínea presente na circulação sistêmica, podendo provocar alterações vasculares e consequente hipertensão arterial, insuficiência cardíaca e hipoperfusão tecidual pelo roubo de fluxo.

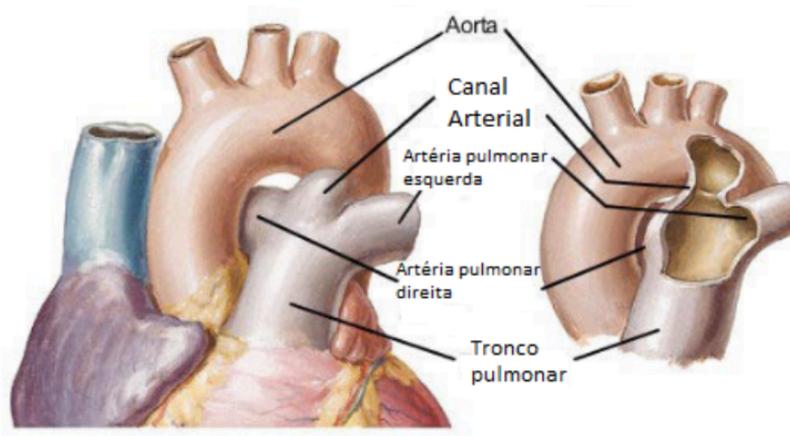


Figura 33: Canal arterial patente. (Modificado de: COCHARD, R. Larry. *Netter's Atlas of human embryology*, Saunders Elsevier, 2002)

Miocardopatias

Cardiomiopatias são um grupo heterogêneo de doenças miocárdicas associadas a disfunção mecânica ou elétrica, exibindo dilatação ou hipertrofia ventricular inapropriada.³³

Cardiomiopatia dilatada

Uma das causas mais comuns de insuficiência cardíaca. Causas genéticas são importantes em todas as faixas etárias e herança familiar está presente em 20 a 35% dos casos.³³ Em crianças, causas comuns de cardiomiopatia dilatada incluem miocardite, erros inatos do metabolismo e alterações genéticas em genes relacionados à miosina, troponina, canais de sódio e titina: 31 genes autossômicos e dois ligados ao cromossomo X foram implicados na ontogenia da doença.^{17, 33}

Cardiomiopatia hipertrófica

É caracterizada anatômica e histologicamente pela hipertrofia e desarranjo de cardiomiócitos em diferentes localizações e intensidades, podendo ou não obstruir a via de saída ventricular.¹⁷ Funcionalmente, apresenta-se como disfunção diastólica.¹⁷ Sua etiologia varia muito de acordo com a faixa etária: em adultos, 85 a 90% dos casos são de herança autossômica recessiva por alteração em proteínas sarcoméricas.³⁴ Foram identificados 13 locus gênicos e mais de 130 mutações em 10 genes envolvidos na codificação de proteínas do sarcômero cardíaco.¹⁷ Durante a infância, a maior parte dos casos permanece idiopática.³⁴ Alguns casos parecem apresentar herança mitocondrial.¹⁷

Ventrículo esquerdo não compactado

Caracteriza-se por miocárdio esquerdo hipertrabeculado com recessos profundos que se comunicam com a cavidade ventricular esquerda.^{17, 35} Por definição, a não compactação pertence ao ventrículo esquerdo, mas pode acometer o ventrículo direito, tanto de forma biventricular como isolada.³⁵ Pode ou não estar relacionado com outras cardiopatias estruturais e também pode ser observada em pessoas híginas, de modo que não é considerada uma cardiomiopatia.³⁵ Há duas hipóteses para seu surgimento:

- Não compactação do miocárdio hipertrabeculado embrionário devido a um defeito genético primário: a *American Heart Association* define a não compactação do VE como doença genética e diversos genes foram propostos, além de associação com síndrome de Barth e síndrome de Brugada.^{17, 35, 36}
- Não compactação adaptativa, para compensar uma contração miocárdica anormal decorrente de anomalias metabólicas ou microvasculares.¹⁷

Etiologia e manejo clínico

Historicamente a etiologia das cardiopatias congênitas tem sido descrita como multifatorial e inclui causas externas como diabetes mellitus materno, tabagismo, etilismo, uso de drogas ilícitas, infecções congênitas (especialmente rubéola), dieta pobre em ácido fólico;^{12,17} esta percepção parece se manter em algumas formas de cardiopatias esporádicas e não sindrômicas. Entretanto, estudos epidemiológicos sugerem uma forte influência de alterações genéticas, atreladas ou não a síndromes, sendo as alterações cromossômicas as mais comumente observadas, embora SNPs (do inglês, *single-nucleotide polymorphism*) e CNVs (do inglês, *copy number variants*) também sejam descritas.¹²

Na última década, avanços críticos no sequenciamento de nova geração têm aberto diversas portas para o entendimento da genética das cardiopatias congênitas.^{12, 37} No entanto, a determinação precisa da associação de uma alteração genética com o fenótipo de doença cardíaca congênita é desafiadora não só pela complexa embriogênese do órgão, mas pela diversidade anatomopatológica das possíveis malformações.³⁸ A heterogeneidade genética e correlação fenótipo-genótipo limitada lançam sombras sobre a etiologia de mais de 50% dos casos, que podem ser explicados por mutações ainda inexploradas nas regiões não codificantes do DNA, mutações somáticas, interação gene-ambiente ou ainda mutações bialélicas.^{10, 38}

A maioria das cardiopatias congênitas ocorrem isoladamente, principalmente^{17, 37}:

- Atresia pulmonar;
- Atresia tricúspide;
- Transposição de grandes artérias;
- Hipoplasia do coração esquerdo;
- Drenagem anômala de veias pulmonares;

- *Situs inversus.*

Ao revisar a embriologia cardíaca fica claro que diversos tecidos extracardíacos tem papel essencial na morfogênese deste órgão, o que pode justificar o fato de 25 a 30% das cardiopatias estarem associadas com anomalias extracardíacas, que podem não estar presentes ou não serem observadas no momento do diagnóstico inicial da malformação.^{12, 37} Em pacientes com comunicações interatriais, a coexistência de malformações extracardíacas pode chegar a 75%. Destaca-se aqui a deficiência intelectual, cuja incidência pode chegar em até 50% quando consideramos pacientes com diagnósticos de cardiopatias congênitas graves.^{10, 39} Entretanto, o diagnóstico de aberrações cardíacas é feito muito comumente no período neonatal ou no lactente jovem, o que torna imprecisa a avaliação intelectual do paciente em tela, principalmente quando face a procedimentos ou intercorrências inerentes ao seu tratamento que possam levar a alterações no desenvolvimento do cérebro ainda imaturo, como circulação extracorpórea, hipóxia, hipotensão e parada cardiorrespiratória.^{12, 40}

Alterações monogênicas ou cromossômicas também se associam com diferentes prognósticos e variação na evolução pós-operatória destes pacientes,¹⁰ estabelecendo uma importante conexão entre a citogenética e a clínica no momento delicado da correção de uma cardiopatia, que, a depender de sua gravidade, deve ser feita ainda muito precocemente. Dificuldade de otimizar sedoanalgesia, risco maior de arritmias e de síndrome da resposta inflamatória sistêmica (SIRS) no pós-operatório imediato ou recente são algumas destas características;^{10, 38, 39} síndromes e malformações extracardíacas complexas também tem impacto negativo no resultado.^{10, 12, 38} Até mesmo alterações tardias, como miocardiopatia dilatada são descritas com mais frequência em pacientes com variantes genéticas específicas.³⁸ O

reconhecimento destas possibilidades permite o uso e protocolos perioperatórios que podem reduzir dramaticamente a morbimortalidade destes pacientes.

Pelo alto custo familiar e social das cardiopatias congênitas, ainda se salienta a necessidade do aconselhamento genético e avaliação gênicas dos parentes do paciente afetado, de modo a determinar a possibilidade de recorrência, cuja importância tem crescido juntamente com os avanços em cirurgia cardiovascular que permitem que estes pacientes cheguem à idade reprodutiva, o que não acontecia com frequência até há poucas décadas.^{12, 40}

Objetivos

- Revisar as principais síndromes associadas a cardiopatias congênitas, delimitando suas características fenotípicas e genotípicas;
- Pontuar genes candidatos a determinar cardiopatia congênita isolada e discorrer sobre a fisiopatologia destas malformações;
- Apresentar as principais ferramentas laboratoriais de diagnóstico genético ao médico não-geneticista.
- Traçar o perfil dos pacientes cardiopatas atendidos no Hospital Universitário de Brasília nos anos de 2012 a 2018 e verificar a contribuição das alterações genéticas em pacientes portadores de cardiopatia congênita na amostra;
- Sugerir um fluxograma de investigação clínica e laboratorial que auxilie no diagnóstico e manejo do paciente portador de cardiopatia congênita, considerando a história e evolução clínica, além do fenótipo cardíaco e extra-cardíaco.

Justificativa

Cardiopatias são as principais malformações congênitas, sendo responsáveis por cerca de um terço das grandes anomalias e afetando cerca de 1% dos nascidos vivos em diversos graus de gravidade e até 9,4% em perdas fetais tardias.^{10, 37} Dos recém-nascidos com este diagnóstico, 50 a 60% necessitarão de intervenção cirúrgica e 25% serão classificados como portadores de cardiopatias críticas, necessitando de cirurgia de grande porte ainda no primeiro ano de vida.¹⁰

Este panorama permite vislumbrar o peso da morbimortalidade associada a estas malformações: recém-nascidos cardiopatas tem maior morbidade devido a prematuridade, baixo peso ao nascer e sofrimento fetal.⁴¹ Segundo a OMS, em 2017, malformações congênitas foram a principal causa de mortalidade de crianças entre 0 e 4 anos de idade no Brasil.⁴²

As cardiopatias congênitas são anatômica e patologicamente heterogêneas e sua etiologia, complexa. A maior parte ocorre de forma isolada, porém 25 a 30% ocorrem associadas a malformações extracardíacas, o que piora ainda mais o prognóstico e aumenta os custos médicos em curto e longo prazo.³⁷

Existem evidências que apoiam a contribuição genética na etiologia das cardiopatias congênitas: existe maior concordância na presença de cardiopatias congênitas em gêmeos monozigóticos quando comparados a gêmeos dizigóticos e o risco de recorrência de cardiopatias entre irmãos não-gemelares também é aumentada, especialmente heterotaxia.¹⁰

O paciente cardiopata, idealmente, recebe atendimento multidisciplinar desde idade muito tenra, havendo, inclusive, necessidade de procedimentos cirúrgicos de grande porte e cuidados intensivos nas primeiras semanas de vida. Contudo, a figura do geneticista não é habitual neste contexto, principalmente em cardiopatias isoladas ou

associadas a alterações mais sutis ou de difícil identificação no período neonatal como déficit intelectual ou baixa estatura. O déficit intelectual é a principal comorbidade extracardíacas, afetando 10% de todos os pacientes cardiopatas e 50% daqueles com alterações cardíacas consideradas críticas.^{10, 12} A investigação dos fatores de risco para alterações neurológicas nesta população leva o foco às complicações da circulação extracorpórea, alterações fisiológicas pré-correção (como, por exemplo, hipóxia sustentada) ou mesmo complicações inerentes à hospitalização prolongada e reduzido estímulo neuropsicomotor.⁴⁰ É possível que estes fatores interajam com o substrato genético, o que poderia ser um caminho na identificação prospectiva das crianças mais vulneráveis.¹¹

Embora as malformações estruturais cardíacas tenham uma morbimortalidade elevada, a história natural da cardiopatia congênita alterou-se dramaticamente desde a primeira realização do *shunt* sistêmico pulmonar por Helen Taussig, Vivien Thomas e Alfred Blalock, em 1945. Desde então, uma condição quase universalmente letal tem se tornado progressivamente mais manejável com uma combinação de procedimentos cirúrgicos, hemodinâmicos e clínicos, elevando a sobrevida em 10 anos no pós-operatório a 95% e permitindo o crescimento da população em idade fértil com diagnóstico de cardiopatias¹²: em 2010, dois terços dos pacientes com este diagnóstico em países desenvolvidos eram adultos com mais de 18 anos,⁴³ o que chama a atenção para a necessidade de diagnóstico genético e planejamento familiar nesta população. A maior parte das cardiopatias, principalmente as mais severas e complexas, ocorrem em famílias sem história prévia do agravo, podendo ser atribuídos a eventos genéticos *de novo* e possivelmente de herança autossômica dominante que anteriormente cuja transmissão era limitada pela mortalidade precoce de seus portadores e o seu comportamento em proles vindouras, desconhecido.^{10, 12}

Além disso, estes indivíduos sobreviventes podem apresentar diversas condições degenerativas cujo aprendizado em torno da prevenção e manejo tornam imperativos o maior conhecimento do substrato genético.¹²

Por fim, o desenvolvimento do ecocardiograma fetal e outros exames de imagens, como a ressonância nuclear magnética abrem possibilidades de acompanhamento da cardiopatia congênita no ambiente intraútero e possível prevenção e palição, uma vez que se entenda a sua complexa fisiopatologia e etiologia: a identificação dos genes alterados é peça chave na construção deste conhecimento.³⁸

Assim, as implicações do teste genético em pacientes com cardiopatia congênita e suas famílias é extremamente significativa, variando desde uma ferramenta para estimar prognóstico e fatores de risco para déficit intelectual e outras malformações cardíacas, até ponderar a possível recorrência em irmãos e, à medida que mais destes pacientes alcançam a idade adulta, a recorrência em sua própria prole.

Capítulo I: revisão das bases genéticas das cardiopatias congênitas

O coração é um dos órgãos mais estudados no âmbito de desenvolvimento e organogênese e um dos mais susceptíveis a doenças. Sua organogênese é complexa e inclui fatores de transcrição e seus reguladores, ligantes e receptores, vias de sinalização, genes de proteínas contráteis, fatores epigenéticos, dentre outros. Nos últimos anos toda uma estrutura molecular emergiu na tentativa de explicar o comprometimento de diferentes linhagens em regiões cardíacas distintas e a migração, proliferação e morte celular que guiam os eventos tridimensionais do desenvolvimento cardíaco.

Com a descoberta do segundo campo cardíaco (SHF), reinterpretações de modelos animais permitiram entrever a complexidade da rede de fatores de transcrição e vias regulatórias envolvidas na organogênese cardíaca (Figura 34) e a interação dos dois campos cardíacos distintos.¹⁵ A ação dos fatores de transcrição segue uma ordem coesa, específica para cada período e cada região do desenvolvimento embrionário. Micro RNAs também participam do controle fino deste processo, mas seus alvos específicos ainda são de difícil elucidação.^{12, 15}

Até 30% dos pacientes com cardiopatia congênita podem ser afetados por aneuploidias, síndromes mendelianas e não mendelianas; aneuploidias e CNVs constituem cerca de 23% dos casos totais, mas poucos genes isolados foram identificados, principalmente tratando-se de síndromes mendelianas herdadas (tabela 1).¹⁰ Mutações somáticas não são uma causa comum de cardiopatia congênita, mas possivelmente tem um papel indeterminado no desenvolvimento dessas doenças, possivelmente em um contexto poligênico.⁴⁴

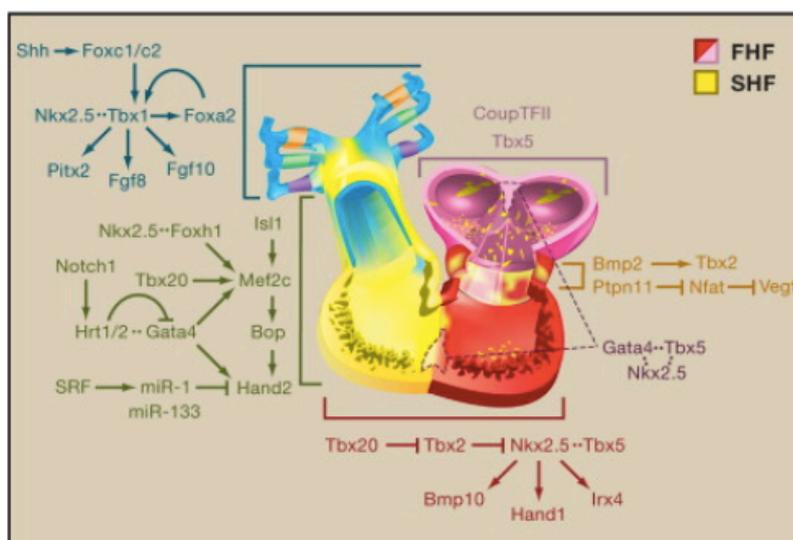
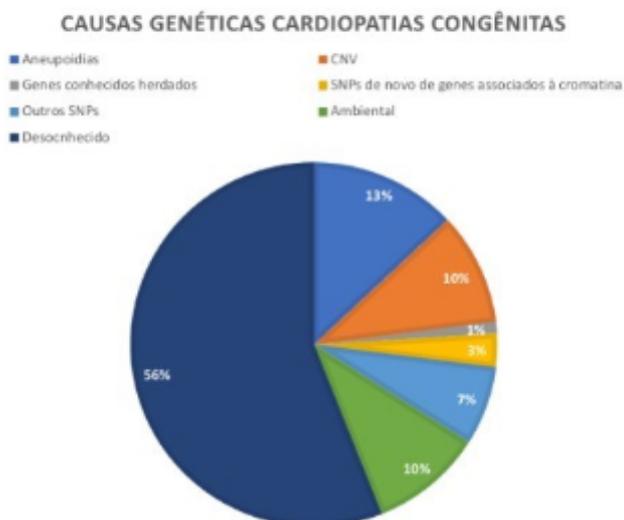


Figura 34: lista parcial de fatores de transcrição, vias sinalizatórias e microRNAs influenciando a formação das diferentes regiões cardíacas. Interações físicas são demonstradas como linhas pontilhadas. FHF: *First heart field* - campo cardíaco primário; SHF: *second heart field* - Campo cardíaco secundário. (SRIVASTAVA, Deepak. *Making or breaking the heart: from lineage determination to morphogenesis*. Cell, vol 126, ed 6., 2006.)

A maior parte das cardiopatias congênitas é esporádica, sem membros da mesma família afetados.^{10, 12} Mais de 20% dos casos é causado por SNPs e CNVs *de novo* e é possível que haja cardiopatias com padrões de herança mais complexos; mais da metade dos casos tem ainda etiologia desconhecida (tabela 1).¹⁰

Tabela 1: causas genéticas e ambientais de cardiopatias congênitas.
(baseado em ZALDI, S; BRUECKNER, M. **Genetics and Genomics of Congenital Heart Disease**. *Circ Res*. 2017 Mar 17; 120(6): 923–940)



O estudo das raras famílias que apresentam cardiopatias congênitas em múltiplas gerações permitiu a identificação de fatores de transcrição, componentes de sinalização e fatores estruturais, mas também demonstraram penetrância incompleta ou inexistente de alterações em genes bem correlacionados a malformações cardíacas, o que sugere a ação aditiva de várias mutações simultâneas.^{10, 12, 37} Variantes heterozigotas que levam ao truncamento prematuro de proteínas têm sido implicadas em cardiopatias não-sindrômicas, sugerindo fisiopatologias diferentes em quadros sindrômicos e não-sindrômicos.³⁷

Cardiopatias sindrômicas

A incidência de anomalias cromossômicas em fetos com cardiopatia diagnosticada no período pré-natal varia de 33 a 42%, nitidamente elevada quando comparada à aneuploidia em recém-nascidos vivos, que é de 5%: esses fetos evoluem com mais frequência para abortos ou óbitos perinatais.¹⁷ Aneuploidias e outras alterações citogenéticas como CNVs englobam porções consideráveis do genoma, resultando

em um amplo espectro de efeitos no desenvolvimento do embrião: 98% dos pacientes com cardiopatia congênita e anomalias citogenéticas possuem, pelo menos, uma malformação extracardíacas.¹⁰ Dado este grande número de genes cujo número de cópias é alterado, a identificação daqueles especificamente relacionados à doença cardíaca congênita é ainda um desafio.^{10, 12}

Aneuploidias

Trissomia do cromossomo 21 (Síndrome de Down)

A síndrome de Down (OMIM 190685) ocorre em 1 a cada 700 nascimentos e tem como características principais braquicefalia, face aplainada, fendas palpebrais oblíquas para cima, orelhas dismórficas e braquidactilia, além de graus variados de déficit intelectual.^{44, 45} A incidência de cardiopatia chega a ser 2000 vezes maior que na população geral.⁴⁴ Cerca de 50% destes pacientes possuem cardiopatia estrutural com características anatômicas bastante peculiares: 45% dos cardiopatas com síndrome de Down são portadores de DSAV, principalmente em sua forma total e 10 a 15% são tetralogia de Fallot.^{18, 45} Mais de 65% dos casos de DSAV são relatados em pacientes com Síndrome de Down.⁴⁶ Outras malformações incluem principalmente os demais defeitos septais, demonstrando a clara correlação da síndrome com alterações nos coxins endocárdicos.¹⁷ Malformações tais quais transposição das grandes artérias, *truncus arteriosus* e lesões obstrutivas do coração esquerdo são virtualmente ausentes, e coexistência de alterações que normalmente estão presentes em pacientes com DSAV com cariótipo normal como lesões obstrutivas de VE, são raras naqueles com trissomia do 21.¹⁷ De fato, os defeitos cardíacos associados à síndrome de Down têm características anatômicas favoráveis, que resultam, inclusive,

em melhores resultados cirúrgicos, exceto pela conhecida tendência a desenvolver hipertensão pulmonar.⁴⁴

A região crítica para a síndrome de Down localiza-se na região 21q22, incluindo genes como COL6A1, COL6A2 e DSCR1, cujos efeitos podem ser isolados ou sinérgicos, assim como variantes em genes mapeados em outros cromossomos, incluindo CRELD1, FBLN2 (presentes no cromossomo 3) FRZB e GATA5 (respectivamente nos cromossomos 2 e 20).⁴⁴ Estudos recentes têm destacado o potencial patogênico de CNVs em outros cromossomos em pacientes com Síndrome de Down, especialmente no que diz respeito àqueles portadores de cardiopatias.^{44, 46}

Trissomia do cromossomo 18 (Síndrome de Edwards)

Ocorre em 1 a cada 3000 nascimentos, apresentando microcefalia com região occipital proeminente, orelhas malformadas e baixas, micrognatia, mãos com padrão característico de sobreposição de dedos, pés em mata-borrão e outras inúmeras malformações. As anomalias cardíacas estão presentes em até 90% dos casos, incluindo com mais frequência o DSAV, mas outros defeitos como CoAo e síndrome da hipoplasia do coração esquerdo também podem estar presentes.^{17, 45}

Trissomia do cromossomo 13 (Síndrome de Patau)

Ocorre em 1 a cada 5000 nascimentos e caracteriza-se por microcefalia, microftalmia, fendas labiais e/ou palatinas, anomalias cerebrais e renais graves. Aproximadamente 80% dos pacientes possuem malformações cardíacas, principalmente CIV e CoAo.^{17,}

Monossomia do cromossomo X (Síndrome de Turner)

Ocorre em 1 a cada 2000 a 6000 nascidos vivos e é a única monossomia compatível com a vida, resultando em meninas com baixa estatura, pescoço alado, hipertelorismo mamilar e disgenesia ovarianas.⁴⁷ Aproximadamente 25% das pacientes apresentam cardiopatia congênita, principalmente com lesões obstrutivas do ventrículo esquerdo, havendo um número elevado de perdas gestacionais tardias devido à IAAo e CoAo crítica.^{17, 47} Nas crianças que sobrevivem, observam-se diversas alterações aórticas correspondente ao desenvolvimento inadequado do quarto arco faríngeo, incluindo alterações obstrutivas da aorta e valva aórtica uni ou bivalvulada, associada a dilatação da aorta ascendente e maior risco de aneurismas na adulta jovem. Postula-se que a haploinsuficiência do braço curto do cromossomo X, tanto dentro como fora da região pseudoautossômica (PAR1) possa ter implicação no desenvolvimento anormal das células provenientes da crista neural.⁴⁷ Sabe-se ainda que lesões obstrutivas do coração esquerdo são mais comuns em pacientes com cariótipo 46,XY (~2% da população) que naqueles com cariótipo 46,XX (~0,5%) fortalecendo ainda mais a hipótese que genes presentes no cromossomo Xp tem papel fundamental na embriologia da via de saída do ventrículo esquerdo.⁴⁷

Alterações subcromossômicas

Alterações subcromossômicas normalmente não são visualizadas no cariótipo padrão devido à sua resolução reduzida: alterações menores que 5 Mbp não são identificadas.³⁶ Por isso, a identificação de mutações mais sutis é recente, e com técnicas de sequenciamento de nova geração, espera-se que mais variações sejam associadas com cardiopatias congênitas sindrômicas.^{12, 36} Atualmente, considera-se:

Deleção 22q11.2

Deleção de 0,7 a 3 Mb na região 11.2 do braço longo do cromossomo 22 (22q11.2) levando a um largo espectro de fenótipos característicos da síndrome de DiGeorge (OMIM 188400), síndrome velocardiofacial (OMIM 192430) e síndrome Shprintzen (OMIM 182212) - determinando, além das cardiopatias, anomalias de palato, e imunodeficiência em cerca de 75% dos pacientes, hipoparatiroidismo em 50% e alterações renais e gastrintestinais em 30%.^{10, 45} As cardiopatias são a principal causa de mortalidade e compreendem defeitos conotruncais, incluindo T4F, atresia pulmonar com CIV, interrupção do arco aórtico e *truncus arteriosus*. Outras alterações do arco aórtico, isoladas ou associadas a outras cardiopatias, também são comuns.¹⁰

A deleção 22q11.2 (22q11del) inclui alterações no fator de transcrição TBX1, intimamente relacionado ao desenvolvimento do campo cardíaco secundário, visto que o gene *TBX1* é uma peça essencial no desenvolvimento da via de saída do coração e expresso exclusivamente no campo cardíaco secundário, estando ausente no campo cardíaco primário e nas células da crista neural.¹⁵ Assim, defeitos da via de saída, tipicamente *truncus arteriosus*, tetralogia de Fallot e anomalias do arco aórtico estão fortemente associada à 22q11del.^{15, 48}

A maior parte dos pacientes com deleção 22q11.2 possuem deleções *de novo*, tipicamente de um segmento de 3 Mb, resultando de recombinação homóloga não-alélica entre as principais duplicações segmentares (*low-copy repeats*, LCRs) que flanqueiam a região crítica do cromossomo.³⁶ A hemizigose do 22q11.2, embora interrompa diversas vias de sinalização, não explica, por si só, a grande variabilidade fenotípica das cardiopatias, sugerindo que CNVs ou SNVs em outras regiões do genoma também estejam implicadas, principalmente em quadros muito extremos.⁴⁸

Síndrome da duplicação do 22q11.2

Na síndrome da duplicação do 22q11.2 (OMIM 608363) o paciente acometido tem diversas alterações neuropsicomotoras, urinárias e convulsões. A incidência de cardiopatia é menor do que a Síndrome de deleção e seu espectro inclui diferentes vias embriológicas - defeitos septais e lesões obstrutivas do coração esquerdo - possivelmente decorrente da interação da hiperexpressão do *TBX1* com outros genes e vias sinalizadoras fora da região afetada.¹⁵ A patogenicidade da microduplicação é difícil de definir, visto que maioria dos genitores que portam essa alteração são assintomáticos.⁴⁹

Síndrome da deleção distal do 22q11.2

Acomete somente a extremidade telomérica da região genômica em tela, levando a déficit cognitivo, anomalias faciais e esqueléticas e cardiopatias, incluindo CIV, *truncus arteriosus*, dupla via de saída de ventrículo direito, anomalias aórticas e ventrículo esquerdo não-compactado. Genes que interagem com o *TBX1* (que não é afetado nesta síndrome) como *CRKL* e *ERK2/MAPK1* foram propostos como etiologia para as cardiopatias: *MAPK1* codifica uma quinase que possui ampla atividade transdutora de sinais em eucariontes; e *CRKL* codifica um fator de crescimento que modula as células *natural killer* recentemente implicado em defeitos renais, pode estar relacionado às alterações na via de saída e do arco aórtico existentes. Quanto menor a deleção, mais complexa parece ser a cardiopatia.¹⁵

Deleção e duplicação 1q21.1

Ambas estão associadas a fenótipos dismórficos, déficit cognitivo e malformações. Cardiopatias são uma importante característica da deleção, sendo apenas ocasionalmente descritas na duplicação.¹⁵ A deleção 1q21.1 (OMIM 612474) gera um fenótipo heterogêneo, incluindo retardo mental leve a moderado, microcefalia e cardiopatia congênita, incluindo lesões obstrutivas do coração esquerdo (40%) defeitos septais (27%) e anomalias conotruncais (20%).¹⁵ Não há diferenças fenotípicas entre pacientes com diferentes pontos de quebra.⁵⁰ A síndrome de duplicação 1q21.1 (OMIM 612475) é bem menos comum e a cardiopatia congênita mais descrita é a Tetralogia de Fallot.¹⁵ Pelo menos dois genes presentes no tecido cardíaco em diferentes fases encontram-se nesta região: AMPK (*AMP activated protein kinase*) e *GJA5* (conexina 40), estando este último relacionado a tetralogia de Fallot não-sindrômica.^{50, 51} A conexina 40 é uma proteína que estabelece uma junção comunicante entre as células atriais e ventriculares, sendo essencial para condução atrioventricular,⁵² no entanto, ainda não há mecanismo proposto que relacione a haploinsuficiência *GJA5* e cardiopatia congênita.⁵¹

Deleção 1p36

A síndrome 1p36del (OMIM 607872) é uma das alterações genômicas mais comuns e a segunda síndrome de deleção mais prevalente, ocasionando dismorfismos típicos, déficit cognitivo, epilepsia e, em 50% dos casos, cardiopatias, com uma prevalência elevada de miocardiopatias e ventrículo esquerdo não compactado.^{36, 53} O fator de transcrição PRDM16, mapeado dentro da região crítica de deleção, foi associado com uma proporção de casos não-sindrômicos de VE não-compactado.³⁶ Alterações

extracardíacas associadas ocorrem em 14 a 66% dos pacientes, com ênfase em desordens neuromusculares.⁵³

Deleção 8p23.1

Deleções da região 8p23.1 podem envolver desde grandes deleções terminais envolvendo o telômero, identificáveis pelo cariótipo até pequenas deleções intersticiais, conferindo diferentes fenótipos, com destaque para a presença de hérnia diafragmática e cardiopatia congênita, que está presente em 94% dos casos, variando desde de defeitos septais até lesões mais complexas, como tetralogia de Fallot e síndrome da hipoplasia do coração esquerdo.^{51, 53}

Esta região contém o gene do fator de transcrição *GATA4*, sabidamente associado com cardiopatias congênitas não sindrômicas, inclusive em contextos familiares, especialmente defeitos septais.^{10, 51} No entanto, o fenótipo das cardiopatias congênitas associadas à 8p23.1del pode ser mais grave e complexo que aqueles descritos na haploinsuficiência *GATA4*, sugerindo que outros genes da região estariam envolvidos na etiologia dos defeitos cardíacos.⁵³ Estudos com CGH-array e modelos animais apontam o gene *SOX7* como possível fator de exacerbação dos efeitos da haploinsuficiência do *GATA4*.⁵³

Síndrome de Wolf-Hirschhorn (Del4p)

Síndrome de Wolf-Hirschhorn (WHS, OMIM 194190) tem frequência estimada entre 1:50.000 e 1:200.000 nascidos vivos e é causada por perda a porção distal do braço curto do cromossomo 4 (Del4p-) com ponto de quebra normalmente entre 4p15 e 4p16.⁵⁵ É caracterizada por características faciais típicas (facies em “capacete

grego” com nariz distinto, hipertelorismo ocular, filtro nasal curto, testa alta e sobrelhas arqueadas), atraso no desenvolvimento neuropsicomotor, retardo no crescimento intra e extrauterino e convulsões.⁵⁵ Cardiopatias congênitas estão presentes em 50% dos casos, principalmente defeitos septais e persistência do canal arterial, embora alguns casos de cardiopatias mais complexas também tenham sido descritos.^{55, 56}

Um dos genes candidatos à definição do fenótipo cardíaco é o gene da histona lisina-metil-transferase (*WHSC1*) que interage com o fator de transcrição cardíaco NKX2.5.⁵¹ Outro possível gene é o *FGFRL1*, que codifica um membro da família de receptores de fator de crescimento de fibroblastos, expressado no cérebro, arcos faríngeos e coração.⁵¹

Síndrome de Williams-Beuren

A síndrome de Williams-Beuren (WBS, OMIM 194050) é causada tipicamente pela microdeleção de uma região de 1,5-1,8 Mbp na região 7q11.23 envolvendo cerca de 28 genes. A maior parte dos pacientes é heterozigota para esta deleção.⁵¹ Está associada a cardiopatias congênitas em 75 a 80% dos casos, especialmente estenose aórtica supravalvar (65%) e estenose pulmonar valvar ou supra valvar (45%), podendo haver associação entre ambas condições.⁵⁷ Além de dismorfismos faciais, atraso no desenvolvimento neuropsicomotor com uma personalidade amigável, baixa estatura e, menos comumente, hipercalcemia idiopática.^{16, 57} A Deleção do gene *ELN* parece causar deficiência ou deposição anormal de elastina nas paredes arteriais, causando proliferação da musculatura lisa vascular e consequente hiperplasia da íntima.^{16, 57}

Mutações pontuais no gene *ELN* foram descritas em pacientes com estenose pulmonar supravalvar não sindrômica.⁵¹

O espessamento da média das grandes artérias determinado pela elastina disfuncional pode levar à obstrução de outras artérias de médio e grande calibre, incluindo artérias renais e intracerebrais.⁵⁷

Uma minoria dos pacientes, cerca de 6 a 10%, apresentam cardiopatias que não podem ser explicadas pela deposição anormal de elastina, como defeitos septais e tetralogia de Fallot.^{51, 57} Modelos animais apontam a deleção de outro gene – *BAZ1B*, também conhecido como fator de transcrição da Síndrome de Williams (*WSTF*) – localizado na região deletada como possível etiologia nestes casos.^{51, 58} O *WSTF* codifica subunidades de três complexos remodeladores de cromatina ATP dependentes, que são essenciais na regulação genética, replicação e reparo do DNA.⁵⁸

Síndrome de Kleeftstra

A síndrome de Kleeftstra (*KLEFS1* OMIM 610253) é causada principalmente pela microdeleção da região 9q34.3 ou mais raramente por alterações pontuais no gene N-metiltransferase 1 eucromática (*EHMT1*). Apresenta-se com dismorfismos faciais típicos, atraso importante no desenvolvimento, hipotonia e obesidade, além de defeitos cardíacos em 40% dos pacientes:^{51, 59} defeitos no septo atrial ou ventricular, estenose pulmonar ou CoAo ou tetralogia de Fallot.⁶⁰ Malformações geniturinárias, constipação crônica e epilepsia também são descritas.⁵⁹

Monossomias

Alterações de um único gene também podem determinar síndromes sabidamente associadas com cardiopatias. Genes alterados nas cardiopatias congênitas normalmente são agrupados de acordo com sua função e envolvimento em vias específicas para auxiliar no entendimento do papel destes na organogênese do coração.

Síndrome de Noonan e RASopatias

A síndrome de Noonan (NS1, OMIM 163950) é uma das síndromes genéticas mais comuns associada a cardiopatias, com uma prevalência de 1 em 1000 a 2500. Doença geneticamente heterogênea e clinicamente variável transmitida como herança autossômica dominante, suas características incluem atraso no desenvolvimento físico e neuropsicomotor, dismorfismos faciais, pescoço alado, alterações linfáticas e hematológicas, criptorquidia e pescoço alado, além de diversas cardiopatias congênitas.⁴⁴

As cardiopatias estão presentes em 60 a 90% dos casos, a depender do genótipo e incluem principalmente estenose valvar pulmonar, defeitos septais, DSAV e miocardiopatia hipertrófica.^{37, 44, 61} A prevalência de déficit cognitivo é também variável e os pacientes podem apresentar desde retardo mental moderado até habilidades cognitivas superiores; este amplo espectro parece não só estar relacionado aos diferentes genótipos, mas a possíveis sequelas potencializadas pelas comorbidades: pacientes com cardiopatias congênitas mais severas tendem a ter menos habilidades cognitivas, por exemplo.⁶²

Diferentes genes têm sido relacionados ao fenótipo correspondente à síndrome de Noonan: mutações *missense* levando a ganho de função do gene *PTPN11* - presente

no *locus* 12q24.1 e que codifica a tirosina fosfatase - associam-se a, aproximadamente, 50% dos casos.³⁷ Outros 12 genes foram implicados na etiologia desta doença ou de síndromes semelhantes: *KRAS*, *SOS1*, *RAF1*, *NRAS*, *BRAF*, *SHOC2*, *PPP1CB*, *CBL*, *RRAS*, *RIT1*, *LZTR1*, e *SOS2*, dentre os quais *SOS1*, *RIT1* e *RAF1* são os que apresentam mutações mais recorrentes, perfazendo até 90% dos casos³⁷ e a presença de cardiopatias em pacientes com alterações no *RIT1* é particularmente elevada, cerca de 90%.^{37, 44}

A maior parte destes genes está diretamente envolvida na via de sinalização RAS/MAPK (do inglês, *mitogen-activated protein kinase*) uma cascata de tradução que permite à célula responder adequadamente aos múltiplos estímulos extracelulares, incluindo fatores de crescimento, hormônios e citocinas, controlando virtualmente todos os processos celulares, incluindo proliferação, diferenciação, sobrevivência, migração e metabolismo e, portanto, pequenas alterações podem gerar consequências profundas no desenvolvimento e a maioria dessas mutações leva a um aumento do sinal ao longo da cascata e sua ativação contínua.^{44, 63} Assim, a Síndrome de Noonan é clinicamente relacionada a outros distúrbios do desenvolvimento que exibem alterações nesta via, coletivamente conhecidas como RASopatias, que, embora possuam fenótipos específicos, possuem características que se sobrepõem, tornando o diagnóstico diferencial desafiador.⁴⁴

As RASopatias incluem:

- NSML: sigla em inglês para *Noonan Syndrome with multiples lentigine*, previamente conhecida como síndrome LEOPARD, associada a baixa estatura, lentigos, perda auditiva e estenose pulmonar, causada principalmente por alteração *missense* no gene *PTPN11*, ao contrário da síndrome de Noonan, levando à perda de função catalítica. Alterações no gene *RAF1* (*locus* 3p25.2) e

BRAF (*locus* 7q34) também foram implicadas nesta síndrome; usualmente são mutações *de novo* ou de herança autossômica dominante.⁴⁴

- Síndrome de Costello: doença caracterizada por pele elástica e frouxa, dismorfismos faciais (principalmente macrostomia), arritmias cardíacas e miocardiopatia hipertrófica. Associada a mutações no gene *HRAS* (*locus* 11p15.5) levando à redução de atividade de uma das GTPases e consequente ativação contínua da cascata RAS, o que além das alterações supracitadas leva a um maior risco de desenvolvimento de tumores, tanto malignos quanto benignos.⁴⁴
- Síndrome Cardiofaciocutânea: as malformações cardíacas podem variar entre estenose pulmonar, DSAV parcial, miocardiopatia hipertrófica e arritmias, isoladas ou coexistentes, além de déficit intelectual e uma ampla gama de alterações cutâneas - hiperqueratose, ictiose, xerose, hemangiomas, nevus, dentre outros - e de fâneros. São descritas alterações *de novo* ou herdadas de forma autossômica dominante nos genes *MAP2K1* (*locus* 15q22.31) *MAP2K2* (*locus* 19p.13.3) *KRAS* (*locus* 7q34) e *BRAF* (*locus* 12p12.1).⁴⁴
- Neurofibromatose tipo I: caracterizada por manchas *café-au-lait* e neurofibromas difusos. Não está associada a cardiopatias congênitas;⁴⁴
- Síndrome de Legius (Neurofibromatose tipo 1 símile): apresenta várias características em comum com Neurofibromatose tipo 1, porém os tumores de sistema nervoso central estão ausentes e alguns pacientes podem ter fâcies característico de Noonan e discreto comprometimento cognitivo.⁴⁴
- Gengivite fibromatosa hereditária.⁴⁴

As principais cardiopatias presentes neste grupo de doenças são a estenose valvar pulmonar e a cardiomiopatia hipertrófica, que apresentam correlação negativa entre

elas. Heterozigose de mutações *missense* no gene *RAF1* está associada à miocardiopatia hipertrófica não sindrômica de início na infância.³⁷

Recentemente, tem-se reconhecido a importância do DSAV parcial no espectro fenotípico das mutações dos genes *PTPN11* e *RAF1*, e em pacientes com defeito de septo atrioventricular associado a estenose pulmonar, obstrução da via de saída do ventrículo esquerdo ou miocardiopatia hipertrófica, o rastreio para RASopatias é prudente.³⁷

Síndrome de Adams-Oliver

A síndrome de Adams Oliver (AOS1, OMIM 100300) é uma doença rara caracterizada por *aplasia cutis congenita* do couro cabeludo e malformações distais em membros, podendo haver anomalias cardiovasculares em 13 a 20% dos casos, especialmente lesões obstrutivas do coração esquerdo, defeitos septais e conotruncais.^{37, 64} Esta síndrome é geneticamente heterogênea, podendo ser secundária a mutações em quatro genes: *ARHGAP31*, *RBPJ*, *DOCK6* e *EOGT*.³⁷ Destes, o gene *RBPJ* pode ser um candidato para a etiologia de cardiopatias mais complexas, visto que codifica uma proteína altamente preservada que coordena a ativação transcricional dos genes alvo da via de sinalização *notch*, essencial para a organogênese cardíaca, definição de território valvar e formação da via de saída.^{64, 65}

Recentemente, variantes em heterozigose do gene *NOTCH1* (*locus* 9q34.3) que codifica um grande receptor transmembrana associada à via de sinalização *notch*, também foram relacionadas com síndrome de Adams-Oliver com cardiopatia, sendo proposto que as alterações cutâneas seriam resultado de vasculopatias resultantes da alteração deste gene.^{37, 65} O gene *NOTCH1* também já foi implicado na

etiopatogenia de cardiopatias isoladas, particularmente lesões envolvendo a valva aórtica e a via de saída de ventrículo esquerdo.⁶⁵

Síndrome de Holt-Oram

Síndrome de Holt-Oram (HOS, OMIM 142900) é caracterizada por pacientes com malformações em membros superiores associadas a cardiopatias congênitas que pode ser herdada de forma mendeliana, mas uma quantidade significativa dos casos é esporádica.^{44, 60} As malformações em extremidades podem ser simétricas ou assimétricas (inclusive unilaterais) porém relacionam-se preferencialmente com a margem radial - trífalangismo, polegar ausente ou hipoplásico, displasia radial.⁴⁴ Outras malformações como sindactílias, polidactílias e alterações em membros inferiores demandam outro direcionamento clínico.⁴⁴

Cerca de três quartos dos pacientes acometidos possuem cardiopatias, marcadamente defeitos septais - em sua maioria CIA tipo *ostium secundum* ou CIVs musculares - e/ou doenças de condução progressivas. Doenças valvares, CIVs membranosas ou CIA tipo *ostium primum* também devem chamar atenção para outras doenças.^{12, 44, 66}

A heterogeneidade genética na Síndrome de Holt-Oram é pequena: todos os casos são causados por alterações no gene *TBX5* (*locus* 12q24.1) - sejam elas mutações *nonsense*, *frameshift* ou mesmo duplicação - que codifica um fator de transcrição que é sabidamente um regulador chave nos processos mais precoces da embriogênese, particularmente em combinação com outros fatores e transcrição, tais quais NKX2.5 e GATA-4.^{66, 67} As diferenças fenotípicas entre estas alterações no genoma não são clinicamente relevantes.⁶⁷ Sua ação nas primeiras etapas do desenvolvimento

embrionário explica o porquê de os membros inferiores serem poupados nesta síndrome, visto que sua diferenciação é mais tardia.^{12, 44}

Síndrome de Alagille

A síndrome de Alagille (ALGS1, OMIM 118450) é doença autossômica dominante multissistêmica originalmente definida como a presença de pobreza de ductos biliares na biópsia hepática na presença de três das cinco características:

- Colestase;
- Dismorfismos faciais;
- Alterações oculares;
- Alterações esqueléticas;
- Alterações cardíacas.

As alterações cardíacas estão presentes em 90% dos indivíduos com síndrome de Alagille, incluindo hipoplasia de artérias pulmonares, tetralogia de Fallot e estenose valvar pulmonar, embora alterações de coração esquerdo e defeitos septais também tenham sido descritos.⁴⁴

O principal gene associado à esta doença é o *JAG1* (*locus* 20p12) que codifica uma proteína ligante da via de sinalização NOTCH; microdeleções na região 20p12 resultam em fenótipo semelhante.^{44, 68} Cerca de 1% dos casos é causado por mutações de *NOTCH2* (*locus* 1p12).⁶⁸ No entanto, estudos em camundongos mostram que heterozigose de *JAG1* e de *NOTCH2* resultam em múltiplas malformações, compatíveis com Síndrome de Alagille, reforçando a importância da interação entre estes genes.⁴⁴

Pela forte correlação de alterações no *JAG1* e alterações cardiovasculares, pacientes com história familiar de defeitos do coração direito ou tetralogia de Fallot ou aqueles

que possuem estenose ou hipoplasia de artérias pulmonares são candidatos ao teste genético para Síndrome de Allagille, mesmo que não apresentem outros critérios clínicos.^{10, 44}

Genes envolvidos no controle epigenético

Novas abordagens vem sendo usadas no afã de entender a variabilidade etiológica e fenotípica de doenças complexas, incluindo cardiopatias. O estudo da epigenética – alterações genômicas que não envolvem alterações na sequência o DNA – sugerem que a estrutura da cromatina e/ou distúrbios epigenéticos podem levar a alterações na transcrição de múltiplos genes e vias metabólicas que podem ter papel fundamental na etiopatogenia das malformações cardíacas.⁶⁹

Diversos estudos demonstram a importância dos mecanismos de regulação epigenética durante a cardiogênese: alterações na metilação do DNA, especialmente ilhas CpG próximas a fatores de transcrição foram identificados em pacientes com malformações cardíacas.⁶⁹

A cromatina é uma estrutura dinâmica que provê ao DNA de formas de responder ao ambiente externo e regular a expressão gênica. A unidade fundamental da cromatina são os nucleossomos, que consistem de 147 pares de base que se enovelam ao redor de um núcleo octamérico de proteínas denominadas histonas.⁷⁰ Essas unidades repetidas de nucleossomos se organizam para condensar o DNA e a posição de cada um deles é estabilizada por interação fraca entre as histonas e o DNA. A regulação da cromatina, portanto, depende de três processos: metilação do DNA, remodelamento da cromatina ATP-dependente e modificações covalente nas histonas.⁷⁰

Mutações *de novo* afetando genes reguladores de cromatina contribuem para aproximadamente 3% dos casos de cardiopatia congênita.¹⁰ Estes incluem cerca de 600 genes que orquestram a expressão gênica dinâmica ao adicionar ou remover marcadores químicos na cromatina ou catalisando alterações estruturais.¹⁰ O estado biológico da cromatina é controlado por modificadores dependentes de ATP, incluindo complexo BAF, CHD8 e modificadores de histonas; *BAF60* regula o desenvolvimento cardíaco precoce em cooperação com *GATA4*. Muitos destes genes estão diretamente relacionados com o desenvolvimento cerebral, incluindo proteínas do complexo BAF, *CHD8*, *HDAC4* e *EZH2* e tem associação positiva com déficit cognitivo e distúrbios psiquiátricos. Estudos com sequenciamento de nova geração identificaram alterações em genes envolvendo modificação de histonas em pacientes com cardiopatias, incluindo *H3K4*, *H2K7*, *H3K9* e *H3K27*.^{10, 51}

Síndrome de Kabuki

A síndrome de Kabuki (KABUKI, OMIM 147920) é uma doença que causa atraso do desenvolvimento intelectual, dismorfismos faciais típicos e cardiopatias congênitas, principalmente lesões obstrutivas do coração esquerdo, embora defeitos septais ou conotrunciais também estejam descritos.³⁷ Inicialmente, pelo predomínio de alterações do coração esquerdo, suspeitou-se de envolvimento de genes no cromossomo X. E, de fato, embora sua principal causa seja alteração no gene *MLL2* (*locus* 12q13.12) que codifica uma histona metiltransferase, deleções parciais ou completas do gene *KDM6A* (*locus* Xp11.3) responsável por uma também histona-desmetilase que interage com *MLL2*, levam a quadro clínico semelhante.^{44, 51}

Síndrome de Sotos

A síndrome de Sotos (SOTOS1, OMIM 117550) é caracterizada por déficit cognitivo variável, dismorfismos faciais e crescimento acelerado na infância, esta síndrome é decorrente de mutação no gene NSD1 (*locus* 5q35.3) que codifica uma histona metiltransferase. Um quarto dos pacientes acometidos possuem comunicações interatriais ou interventriculares.⁴⁴

Síndrome de Sifrim-Hitz-Weiss

A Síndrome de Sifrim-Hitz-Weiss é caracterizada por déficit cognitivo variável, alterações faciais, genitourinárias e gastrintestinais. Malformações cardíacas estão presentes em 27% dos pacientes acometidos e incluem comunicações interatriais ou interventriculares, tetralogia de Fallot e coarctação de Aorta. É decorrente de mutações no gene *CHD4* (*locus* 12p13) remodelador da cromatina.⁴⁴

Síndrome CHARGE

CHARGE (OMIM 214800) é o acrônimo em inglês para coloboma de íris, coração (*heart*), atresia de coanas, retardo no desenvolvimento, genitais e ouvido interno (*ear*).^{41, 71} Mais de dois terços dos casos é decorrente de mutação *nonsense* ou *frameshift* *CHD7* (*locus* 8q12), embora alterações no gene da *SMA3E* (*locus* 7q21) levem a quadro clínico semelhante.^{71, 72} Mais de 70% dos pacientes acometidos são portadores de cardiopatia congênita, principalmente defeitos conotruncais, especialmente tetralogia de Fallot e dupla via de saída de ventrículo direito, além de outras alterações de via de saída, como a hipoplasia do coração direito ou esquerdo.⁴⁴

⁷¹ A proteína CHD7 é essencial para a migração das células da crista neural, o que

pode explicar a elevada incidência de malformações nas vias de saída ventriculares.^{44,}

71

Síndrome de Koolen-De Vries

A síndrome de Koolen-De Vries (KVDS, OMIM 610443) é causada por deleção do *locus* 17q21.31 ou por mutação do gene *KANSL1*, nele inserido, é caracterizada por déficit intelectual grave, hipotonia, convulsões de difícil controle e dismorfismos faciais.¹⁰ Cardiopatias estão presentes em 27% dos quadros, principalmente defeitos do septo atrial ou ventricular, embora estenose pulmonar tenha sido descrita.¹⁰ Estudos recentes identificaram *KANSL1* como um gene modificador importante em pacientes com 22q11del.⁷³

Cardiopatias não-sindrômicas

A maioria - cerca de 70% - das cardiopatias congênitas ocorrem isoladamente ou associadas a malformações extra-cardíacas não-sindrômicas, inclusive aquelas mais complexas, como atresia tricúspide, transposição das grandes artérias, hipoplasia do coração esquerdo e atresia pulmonar.^{44, 74, 75} Já foram descritas variantes de genes associados a síndromes bem definidas, como *JAG1* e *TBX5*, que resultam em cardiopatias isoladas. No entanto, não é fácil definir precisamente as alterações genéticas subjacentes aos defeitos cardíacos não-sindrômicos devido à grande heterogeneidade genotípica e fenotípica dos quadros.^{10, 12, 44}

Assim, por muito tempo, a cardiopatia congênita isolada foi considerada como uma doença multifatorial, presumindo alterações em diversos genes com efeito aditivo e influência do ambiente, e poucas eram as alterações somáticas associadas a este agravo, usualmente identificadas em contextos familiares e sem relação com a maior parte dos casos descritos.^{10, 12} No entanto, com o avanço das técnicas de investigação genética, incluindo sequenciamentos de nova geração, como o WES (*whole exome sequencing*) o foco tem se deslocado para o estudo de variantes comuns e novos genes têm sido implicados na etiopatogenia das malformações cardíacas isoladas ou associadas a outras alterações sem, no entanto, caracterizar uma síndrome.⁴⁴ A interpretação destas variantes em relação à sua patogenicidade, no entanto, ainda é um desafio.⁴⁴

O risco de malformações extracardíacas e atrasos no desenvolvimento neuropsicomotor é maior nos pacientes portadores de cardiopatias congênitas, mesmo quando se exclui os portadores de síndromes conhecidas: alterações em outros órgãos ocorrem em aproximadamente 13% dos recém nascidos cardiopatas - o dobro da população comum - e atrasos no desenvolvimento ocorrem em 10% dos

cardiopatas, podendo chegar a 50% nos portadores de cardiopatia grave.^{10, 12} Déficits circulatórios no embrião e estresse associado a intervenções no período pós-natal são hipóteses para esta associação que permanecem sem comprovação; também se aventa a possibilidade de que os genes importantes na organogênese cardíaca tenham papel crucial na função do órgão ao longo da vida.^{10, 12}

A maior parte das cardiopatias congênitas não-sindrômicas ocorre de forma esporádica nas famílias, sugerindo mutações *de novo* ou heranças mais complexas e penetrância incompleta.³⁸ É possível que múltiplas variantes tenham um papel no desenvolvimento da doença em um contexto poligênico, embora a interpretação dessas variantes seja difícil e nem sempre factível: essas associações podem ter alta significância estatística porém pouca relevância clínica.³⁸ Em cardiopatias mais complexas e graves, o indivíduo muitas vezes não alcança a idade reprodutiva, sendo difícil inferir como a doença afetaria sua prole.^{10, 38}

Mutações na família NK-2

A família NK-2 é um conjunto de genes *homeobox* que tem papel crucial no desenvolvimento cardíaco, regulando processos cruciais como o controle temporal e espacial da expressão gênica.^{74, 75} NKX2-5 (*locus* 5q35.1) é um regulador transcricional que atua no mesoderma cardíaco. Presente tanto no campo cardíaco primário quanto secundário, é um dos marcadores de diferenciação cardiomiogênica mais precoces e está no topo da cadeia regulatória da embriogênese cardíaca, coordenado por proteínas GATA, especialmente GATA4.¹² Mais de cinquenta mutações do *NKX2-5* foram descritas, porém poucas foram funcionalmente detalhadas. Estudos em linhagens familiares identificaram mutações do *NKX2-5* associadas principalmente a defeitos de septo atrial e defeitos no sistema de

condução - isoladamente ou em conjunto.^{12, 76} No entanto, outras cardiopatias mais complexas, como tetralogia de Fallot e hipoplasia do coração esquerdo ocorrendo isoladamente também estão relacionadas a SNPs no gene *NKX2-5*.⁷⁶

NKX2-6 (*locus* 8p21.2) é outro membro desta família de fatores transcricionais cujo perfil de expressão temporal e espacial se sobrepõe ao *NKX2-5*. Mutações com perda de função deste gene foram identificados em pacientes com Tetralogia de Fallot e dupla via de saída de VD com CIV.¹²

Mutações na família TBX

Os fatores de transcrição TBX (*t-box*) constituem-se de seis membros: *TBX1*, *TBX18* e *TBX20* (subfamília TBX1) juntamente a *TBX2*, *TBX3* e *TBX5* (subfamília TBX2) que possuem um domínio de ligação ao DNA altamente conservado e um papel significativo na morfogênese do coração embrionário, especialmente no campo cardíaco secundário, influenciando o desenvolvimento do sistema de condução, das câmaras cardíacas e da via de saída.^{12, 39} *TBX1*, *TBX5* e *TBX20* servem como ativadores transcricionais dos genes das câmaras miocárdicas enquanto *TBX2*, *TBX3* e *TBX18* agem como repressores desses mesmos genes para o adequado modelamento.¹²

A maior parte das mutações resulta em um alelo nulo e haploinsuficiência e a perda funcional de genes TBX afeta seriamente a formação cardíaca: o *TBX1* está incluído no conjunto de genes deletados na síndrome 22q11del, tendo mínima contribuição no componente miocárdico, porém essencial para a formação e remodelação do arco aórtico, enquanto o *TBX5* está bem correlacionado com a síndrome de Holt-Oram.^{39,}

⁷⁷ O *TBX20* (*locus* 7p14.2) é expressado em células progenitoras cardíacas, miocárdicas e endoteliais associadas aos coxins endocárdicos, assim como em

estruturas precursoras das valvas cardíacas e septo atrioventricular, com fortes domínios transcrpcionais ativadores e repressores que podem interagir com vários outros fatores de transcrição - NKX2-5, GATA4, GATA5 e TBX5 - regulando inúmeros aspectos da formação cardíaca.^{51, 72} Mutações em heterozigose com perda de função do *TBX20* foram implicadas na dupla via de saída de ventrículo direito ou miocardiopatia dilatada familiar, enquanto ganho de função está associado a CIA (inclusive patência do forame oval).¹²

Mutações na família GATA

Superfamília de fatores de transcrição contendo dedos de zinco com seis membros: *GATA1*, a *GATA6*, que se ligam especificamente à sequência (A/T)GATA(A/G) das regiões regulatórias de diversos genes.^{12, 66} A maior parte dos tecidos de origem mesodérmica ou endodérmica expressam pelo menos um dos fatores GATA4, GATA5 e GATA6, estando os 3 presentes no mesoderma pré-cardíaco.^{12, 14, 66} Estes fatores regulam a diferenciação e proliferação celular e mutações com perda de função levam a múltiplas cardiopatias, especialmente defeitos septais.^{14, 77}

GATA4 (*locus* 8p23.1) é o gene mais investigado e o mais precocemente expresso no desenvolvimento cardíaco.^{66, 79} Mutações neste gene que levam a atividade transcricional reduzida com o DNA foram associadas a CIA familiares - com herança autossômica dominante - e esporádicas. Mutações mais graves, que destroem completamente a interação entre *GATA4* e *TBX5* ou reduzem drasticamente a interação com o DNA, estão associadas a cardiopatias mais complexas, como tetralogia de Fallot. Outras mutações com perda de função também estão relacionadas a CIVs.^{12, 66, 79}

GATA5 (*locus* 20p13.33) pode promover a transformação de células-tronco de camundongos em cardiomiócitos¹² e está relacionada à expressão de diversos genes, incluindo as cadeias pesadas da miosina, além de ser essencial para a diferenciação do endocárdio.⁷⁹ Mutações com perda de função foram associadas a CIV familiar, tetralogia de Fallot familiar e esporádica e miocardiopatia familiar.^{12, 79}

GATA 6 (*locus* 18q11.2) é altamente expressado não somente no coração embrionário - mesoderma pré-cardíaco, tubo cardíaco, átrio e ventrículos - mas também nos cardiomiócitos adultos.^{12, 79} Em modelos experimentais animais, tem um papel importante, na formação do coxim endocárdico e morfogênese do trato de saída. Mutações foram associadas com *truncus arteriosus*, tetralogia de Fallot e CIV.¹²

Mutações no *ZIC3*

O gene *ZIC3* (do inglês, *zinc-finger in cerebellum 3, locus* Xp26.3) foi o primeiro gene descrito capaz de estabelecer o padrão direita-esquerda em humanos, e, portanto, o primeiro gene associado à heterotaxia.¹² Mutações *missense* e *nonsense* em regiões altamente conservadas do sítio de ligação, com perda de função do *ZIC3* causam heterotaxia ligada ao X e cardiopatia congênita isolada, com falha no dobramento do tubo cardíaco.^{12, 38, 80} Outras cardiopatias complexas, tais quais transposição de grandes artérias e dupla via de saída de ventrículo direito também estão relacionadas ao *ZIC3*.⁸¹

Mutações no PITX2

Este gene (*locus* 4q25) pertence à família de fatores de transcrição PITX (*pituitary homeobox*) com um importante papel na ligação tanto do DNA quanto do RNA, e possui três isoformas: PITX2a, PITX2b, PITX2c.

O coração é o primeiro órgão a quebrar a simetria do embrião e diversas vias de sinalização estão envolvidas neste processo: Notch, Nodal, Hedgehog (SHH), FGF e BMP; finalmente, a via de expressão Nodal ativa a expressão do PITX2 ao lado esquerdo das vísceras em formação e a reprime do lado direito,¹² estabelecendo a assimetria direita-esquerda via regulação diferencial de vias intracelulares wnt.⁸² A expressão *nodal* é transitória enquanto a de PITX2 é mantida durante toda a morfogênese de órgãos assimétricos.^{82, 83} Perda de função no PITX2, em qualquer uma de suas três isoformas, afeta significativamente o coração e está associada a alterações de lateralização como isomerismo atrial e transposição de grandes artérias, defeitos do coxim endocárdico – dupla via de entrada de ventrículo esquerdo, tronco arterial comum – e comunicações interatriais ou interventriculares, estas últimas demonstrando como as mutações no PITX2 interrompem o sinergismo com NKX2-5.^{83, 84}

Componentes genéticos do sarcômero cardíaco

Mutações em genes que codificam proteínas estruturais também são implicadas em cardiopatias isoladas.⁵¹ A proteína sarcomérica cardíaca *MYH6* (*locus* 14q11.2) quando alterada, pode ser causadora de defeito do septo atrial, inclusive em estudos realizados em famílias, que identificaram alterações em regiões altamente

conservadas da cadeia alfa da proteína; sua expressão é regulada por fatores de transcrição tais quais GATA4 e TBX5.^{51, 84}

Outros membros das unidades contráteis do músculo cardiovascular, incluindo *MYH7* (*locus* 14q11.2), codificando a cadeia pesada da miosina 7 e cuja alteração está relacionada a anomalia de Ebstein - especialmente quando associada à não-compactação do ventrículo esquerdo - e defeitos septais.^{51, 85, 86} e *ACTC1* (*locus* 15q14), codificando a actina muscular cardíaca alfa, cuja mutação está relacionada com defeitos do septo atrial.⁸⁷

Mutações em *MYH11* (*locus* 16p13.11) codificando a principal proteína contrátil do músculo liso, pode levar a retardo no fechamento ou mesmo persistência do canal arterial.⁵¹

Genes da via de sinalização Notch

Esta é uma via altamente conservada que medeia a comunicação intercelular local com papel fundamental na embriologia cardíaca, incluindo a organização direita-esquerda, desenvolvimento de vasos sanguíneos e das câmaras ventriculares.⁶⁵ A sinalização se faz quando um ligante Notch interage com um receptor Notch da célula vizinha, desencadeando uma cadeia de respostas intracelulares.⁶⁵ *JAG1* é um dos genes pertencentes a esta via sinalizadora e está intimamente relacionado à Síndrome de Alagille, no entanto, sua mutação também é reconhecida como causa de cardiopatia isolada, especialmente tetralogia de Fallot.¹⁰ Mutações de *NOTCH1* em uma única família foram associados a um espectro de cardiopatias variando entre válvula aórtica bicúspide até hipoplasia do coração esquerdo.⁸⁸

Genes ciliares

Mutações afetando genes envolvidos na formação de estruturas celulares ciliadas estão associadas à cardiopatia congênita: os cílios são organelas presentes na superfície celular que possuem uma miríade de funções, incluindo sinalização, propulsão do líquido intersticial e controle do ciclo celular e defeitos em sua função e estrutura - as ciliopatias - estão presentes em uma grande variedade de doenças envolvendo sintomas pulmonares, renais, sensoriais, neurológicos e de lateralidade.^{10,}

89

No coração, o papel mais claro das estruturas ciliares é estabelecer a relação direita-esquerda ao identificar a direção do fluxo do líquido extraembrionário e guiar o dobramento do tubo cardíaco.^{10, 89} A tradução do sinal produzido pelo fluxo do líquido leva à ativação assimétrica de genes, permitindo a lateralização do coração embrionário. Assim, as ciliopatias podem resultar em heterotaxia e outras cardiopatias.

Trinta e cinco genes foram implicados na etiologia da discinesia ciliar primária, e 6,5% dos pacientes acometidos possuem alguma cardiopatia.¹⁰ Considerando-se que pacientes cardiopatas, mesmo após submetidos a cirurgia corretiva, podem se manter dependente de ventilação mecânica por diversos motivos, o diagnóstico da discinesia ciliar primária é um desafio, visto que o diagnóstico diferencial dos sintomas pulmonares é amplo e com diversos fatores confundidores.

O gene *Nephronophthisis-4* (NPHP4, *locus* 1p36.1) é um gene ciliar cuja mutação está associada a uma grande variedade de malformações cardíacas, incluindo transposição de grandes artérias, defeitos de septo atrioventricular, dupla via de saída de ventrículo direito e drenagem anômala de veias pulmonares.¹⁰

Métodos de investigação genética

O conhecimento das causas genéticas não só é fundamental para personalizar o cuidado com o paciente cardiopata, estratificar risco, estabelecer prognóstico e aconselhar as famílias quanto à recorrência do agravo; identificar os genes alterados nas diferentes cardiopatias é criticamente importante para entender a doença, enriquecer o conhecimento tocante ao desenvolvimento cardíaco humano e a patologia molecular subjacente à malformação. Tal conhecimento pode levar a novas estratégias preventivas e, talvez, novos tratamentos. Não há, entretanto, consenso nos tipos de testes, indicações clínicas específicas e quanto à interpretação dos resultados.

A primeira situação clínica para se considerar um teste genético é em pacientes com fenótipo sindrômico^{38, 90}: dismorfismos faciais, de membros, anomalias esqueléticas (incluindo alterações vertebrais) atraso no crescimento ou no desenvolvimento neuropsicomotor devem ser considerados como potenciais manifestações extracardíacas.⁹¹ A triagem dos sistemas gastrintestinal e geniturinário através de exames de imagem também é recomendada.⁹¹ No entanto, no período neonatal, a delimitação de alguns sintomas, especialmente no espectro do déficit intelectual, pode ser um desafio, de modo que o diagnóstico genético se torna ainda mais importante na definição de propedêutica e prognóstico.

Achados específicos para determinadas síndromes devem guiar a investigação para reduzir gastos com exames desnecessários - recomenda-se investigar todas as crianças com estenose aórtica supralvar ou estenose pulmonar para síndrome de Williams-Beuren e todos os pacientes com interrupção ou outras alterações do arco aórtico, *truncus arteriosus*, tetralogia de Fallot e comunicação interventricular para 22q11del.^{36, 90}

A segunda situação a ser considerada é o contexto familiar: pacientes cardiopatas com parentes de primeiro ou segundo grau também afetados não só por malformações cardíacas, mas por outros distúrbios, mau passado obstétrico, infertilidade e mortes precoces devem ser investigados.^{92, 93}

O Cariótipo é comumente o primeiro teste a ser utilizado.⁹⁴ Os 24 pares de cromossomos presentes na célula humana podem ser prontamente identificados em nível citogenético após diversos processos de coloração, dos quais o mais comum é em banda G (Giemsa).⁹⁵ A análise do cariótipo identifica aneuploidias e outras anomalias mais grosseiras, na resolução de até 5-10 Mbp.⁹⁵ Em pacientes com cardiopatias admitidos em UTI no primeiro ano de vida, o cariótipo permitiu um diagnóstico até 23% dos pacientes, excluindo os pacientes com defeitos septais discretos, sendo a maioria compatível com síndrome de Down ou síndrome de Turner, ambas clinicamente reconhecíveis.⁹⁴

O MLPA (*multiplex ligation-dependent amplification*) é o teste padrão ouro para identificar duplicações ou deleções menores que aquelas reconhecíveis ao cariótipo além de mutações de ponto conhecidas, utilizando sondas para regiões específicas e comparando as amostras adquiridas com controles sabidamente normais, baseando-se na hibridização do DNA da amostra com as sondas e posteriormente amplificação por reação em cadeia de polimerase (PCR).⁹⁵ Os fragmentos finais são, então, separados e submetidos a eletroforese capilar permitindo a quantificação relativa do número de cópias dos genes estudados em relação a uma amostra controle. No contexto das cardiopatias congênitas, o MLPA é mais comumente usado para o diagnóstico da deleção da região 22q11 (Síndrome de DiGeorge).⁹⁵

Técnica semelhante é o FISH (*fluorescent in-situ hybridization*) onde sondas fluorescentes específicas são hibridizadas com suas regiões homólogas no

cromossomo alvo, permitindo a identificação de rearranjos cromossômicos menores que 2-3 Mbp. A medição da fluorescência permite a avaliação do número de cópias das regiões estudadas. Esta técnica é, no entanto, mais cara e trabalhosa que o MLPA. Ambas, no entanto, são adequadas quando o fenótipo sugere síndromes cujas regiões afetadas são conhecidas, daí a necessidade de uso de sondas específicas. Em pacientes com cardiopatias específicas - interrupção do arco aórtico, atresia pulmonar com defeito de septo ventricular ou *truncus arteriosus* - o uso do MLPA ou do FISH específico para *del22q11* é positivo em até 50%.⁹⁵

A análise cromossômica por microarray ou o CGH-*array* (hibridização genômica comparativa) são também capazes de identificar pequenas deleções ou duplicações sem, no entanto, a necessidade de sondas específicas: todo o genoma é rastreado em alta resolução.⁹⁵ O CGH-*array* baseia-se na comparação do genoma do paciente com uma amostra controle através da marcação dos diferentes DNAs com corantes verde (Cianina 3) e vermelho (Cianina 5), respectivamente; após a marcação segue-se a hibridização competitiva de ambos DNAs com sondas específicas organizadas e fixadas na superfície de uma lâmina, permitindo, através de diferenças no padrão de cor, a identificação de alterações muito menores que aquelas visualizadas nos exames anteriores: 50 a 100 kbp. Assim, a presença da cor verde em uma determinada sonda demonstra ganho de DNA na amostra examinada enquanto o vermelho representa perda, visto que houve maior hibridização do DNA controle. A cor amarela indica hibridização igual de ambas amostras, denotando que o número de cópias é o mesmo. Existem, atualmente, centenas de milhares de sondas, possibilitando o estudo amplo do genoma.⁹⁵

A forma mais comum de variação genética é, no entanto, aquela que compreende alterações em uma única base nitrogenada, SNPs (*single nucleotide polymorphism*).

Bases nitrogenadas alternativas ocorrem em uma frequência apreciável (>1%) em todo o genoma. SNP array não identifica mutações, apenas polimorfismos frequentes a fim de detectar dissomia uniparental.

Os métodos de sequenciamento de nova geração, como o WES (*whole exome sequencing*) permitem o sequenciamento, nucleotídeo a nucleotídeo, de todo o exoma do paciente e sua comparação com exomas existentes em bancos de dados na tentativa de identificar variantes em genes específicos que possam justificar o quadro clínico.³⁸ Painéis de exoma para cardiopatias congênitas incluem, atualmente, até 57 genes inferidos a partir de estudos em famílias portadoras de diferentes cardiopatias e estudo de casos esporádicos. No entanto, em casos isolados esta interpretação não é tão simples: a composição destes painéis está fortemente viesada para cardiopatias herdadas e variantes de significado desconhecido não são raras, demandando o sequenciamento do exoma dos genitores do probando.^{38, 90} Variantes *de novo* em pacientes afetados filhos de pais não-afetados tem maior probabilidade de serem patogênicas, especialmente se estiverem ausentes em grandes bases de dados.⁹⁰ Em síndromes específicas e bem caracterizadas do ponto de vista molecular, a especificidade do diagnóstico pode chegar a 80 - 90%.⁸⁹ Embora mais caros, o sequenciamento do exoma ou de todo o genoma permite o armazenamento destas informações para criação de novas bases de dados ou mesmo revisão dos resultados quando novos conhecimentos clínicos ou genéticos surgem.³⁸

A escolha do exame deve ser guiada não somente pela disponibilidade da tecnologia e pelo preço - ambas devendo ser fortemente consideradas em nosso contexto de saúde pública e suplementar - mas também pelo fenótipo cardíaco e extracardíaco, além da história familiar.

Capítulo II. Estudo genético-clínico de pacientes com cardiopatia atendidos no Hospital Universitário de Brasília

Frente às evidências da importância da investigação e do acompanhamento genético dos pacientes cardiopatas e no sentido de conscientizar os profissionais de saúde envolvidos em seu – especialmente na faixa etária infantil – da relevância deste seguimento, foi realizado este estudo retrospectivo para vislumbrar a população contemplada e buscar soluções para a melhoria deste atendimento e expansão de sua abrangência.

Pacientes e Métodos

Para este estudo retrospectivo foram revisados os prontuários do serviço de genética clínica da Universidade de Brasília, abrangendo pacientes atendidos entre 2012 e 2018 no ambulatório de genética do Hospital Universitário de Brasília (HUB) portadores de cardiopatia. Estes pacientes foram encaminhados ao serviço a partir do próprio hospital - com ênfase na UTI neonatal e alojamento conjunto - ou através de solicitações provenientes do restante da Secretaria de Saúde do Distrito Federal.

Foram selecionados 49 pacientes com suspeita de cardiopatia congênitas, dos quais três foram excluídos por terem alterações sabidamente associadas com fatores externos, a saber: valvopatia reumática, toxoplasmose congênita e prematuridade extremas; e outros dois pacientes foram excluídos por não haver descrição da pretensa cardiopatia em prontuário.

Todos os pacientes foram submetidos a exame físico com documentação fotográfica quando possível. Os pacientes foram classificados quanto ao tipo de cardiopatia e quanto as malformações extracardíacas apresentadas.

A fim de determinarmos a causa genética da cardiopatia foram exames genéticos tais como cariótipo, MLPA e análise cromossômica por microarray. Esses testes foram realizados pela equipe do laboratório de Genética e pela Doutoranda Ana Carolina Vaqueiro.

Foi realizado cariótipo com Banda G de todos os pacientes avaliados. Aqueles cariótipo normal tiveram amostras encaminhadas para MLPA e análise cromossômica por microarray. O MLPA foi utilizado principalmente em pacientes com forte suspeita clínica de microdeleção 22q11 ou outras síndromes de microdeleção.

A análise dos cariótipos em Banda G foi, em sua maioria, realizada no laboratório de genética clínica da UnB e no laboratório de citogenética da Secretaria de Saúde do Distrito Federal. Poucos pacientes trouxeram cariótipos realizados em laboratórios externos.

A técnica de MLPA foi realizada utilizando kit P250 (MRC-Holland) que contém 29 sondas diferentes para a região 22q11, além de sondas para as regiões 4q35, 8p23, 9q34, 19p14, 17p13, 22q13 também associadas à síndrome de DiGeorge de Velocardiofacial. Essas amostras foram quantificadas nos espectrofotômetros Nanodrop®, os fragmentos formados e amplificados foram submetidos a eletroforese capilar no analisador genético ABI-3130 e os resultados averiguados através do software *Coffalyser* (MRC-Holland)

As amostras dos pacientes em que não foram identificadas alterações cromossômicas ao cariótipo ou MLPA foram submetidas à análise cromossômica por microarray. Foi utilizada a plataforma CytoScan™ 750K (Affymetrix) que contém cerca de 500.000 sondas não polimórficas para CNVs de regiões codificantes e não codificantes do genoma e cerca de 250.000 SNPs, permitindo uma alta resolução tanto em definição do número de cópias como na perda de heterozigose.

Resultados

Foram identificadas 49 pacientes com suspeita de cardiopatia congênitas no ambulatório de Genética do Hospital Universitário de Brasília, dos quais três foram excluídos por terem alterações sabidamente associadas com fatores externos, a saber: valvopatia reumática, toxoplasmose congênita e prematuridade extremas; e outros dois pacientes foram excluídos por não haver descrição da pretensa cardiopatia em prontuário.

Nos 44 pacientes restantes, foram identificadas onze diferentes cardiopatias, isoladas ou em conjunto com outras malformações cardíacas. Apenas três (7%) dos pacientes não apresentavam alterações extracardíacas. As diferentes cardiopatias estão listadas na tabela 2.

Tabela 2: distribuição das cardiopatias congênitas encontradas nos 44 pacientes estudados quanto à malformação anatômica e sua relação ou não com outras alterações morfológicas do coração.

Cardiopatia congênita	Total	Isolada
Comunicação interatrial	30	12
Comunicação interventricular	13	3
Defeito de septo AV	2	0
Dupla via de saída de VD	1	0
Interrupção do Arco Aórtico	1	0
Persistência do canal arterial	8	3
Coarctação da Aorta	1	0
Truncus arteriosus	1	0
Janela Aorto-pulmonar	1	0
Estenose pulmonar	9	2
Tetralogia de Fallot	1	0
Drenagem anômala de vv. pulmonares	2	0
Veia cava esquerda persistente	2	0

Dentre as cardiopatias, a mais comum foi a comunicação interatrial, presentes em 30 pacientes, perfazendo 68% dos casos. Cerca de um terço das CIAs estavam associadas a outras malformações cardíacas.

A segunda malformação mais comum foi a comunicação interventricular (23%) seguida pela persistência do canal arterial (20%). O canal arterial patente encontrava-se em conjunto com outras malformações em mais da metade dos casos.

Em relação às alterações extracardíacas, dismorfismos faciais múltiplos foram as mais comuns, sendo encontradas em 18 pacientes (41%) com destaque para a fenda labiopalatina, importante fator de morbidade, dada a necessidade de correção cirúrgica, presentes em 3 pacientes. Déficit intelectual em diferentes graus, baixa estatura e defeitos do aparelho geniturinário, inclusive distúrbios de diferenciação sexual também foram achados importantes, conforme demonstrado na tabela 3. Dentre as alterações metabólicas foram incluídos distúrbios do metabolismo do cálcio (presente em 2 pacientes), hirsutismo e hipoglicemia persistente. Alterações musculoesqueléticas abrangem alterações de extremidades superiores, pés tortos congênitos e torcicolo congênito.

Tabela 3: distribuição das malformações extracardíacas encontradas.

Alteração extra-cardíaca	Incidência
Dismorfismos faciais	18 (41%)
Déficit intelectual	11 (25%)
Baixa estatura/PIG	14 (32%)
Aparelho genitourinário	6 (14%)
Microcefalia	3 (7%)
Seqüência VATER	1 (2%)
Alterações metabólicas	4 (9%)
Alterações músculo-esqueléticas	4 (9%)
Alterações oftalmológicas	1 (2%)
Laringomalácia	1 (2%)

Quanto ao genótipo, dos 44 pacientes, 6 tiveram cariótipos alterados (14%) dos quais dois pacientes apresentavam cariótipo compatível com Síndrome de Down (47, XX + 21), um paciente compatível com Síndrome de Edwards (47, XX + 18), um com deleção do braço longo do cromossomo 13. Dois pacientes apresentavam cromossomos marcadores, cromossomos supranumerários que não podem ser inequivocamente caracterizados e de patogenicidade variável. Os presentes neste estudo foram considerados como não-patogênicos e provavelmente constituídos apenas de heterocromatina uma vez que o resultado da análise cromossômica por microarray foi normal nesses dois casos.

Quatro pacientes (9%) tiveram diagnósticos de síndromes sabidamente associadas a cardiopatias congênitas, incluindo um caso de síndrome de Holt-Oram. O MLPA foi realizado em 6 pacientes, confirmando três casos de Microdeleção 22q11 e um caso de Síndrome de Williams-Beuren.

Treze pacientes tiveram material coletado para análise cromossômica por microarray dos quais 5 apresentaram alterações possivelmente patogênicas, um apresentou variações de significância desconhecida (VUS – *variant of unknown significance*) e um apresentou array normal porém com características de consanguinidade entre os genitores, conforme tabela 4.

Tabela 4: descrição dos resultados do array com identificação dos genes afetados

Identificação	Descrição array	Genes	Tamanho	Cardiopatía
10457	arr[hg19] Xp11.22(53,579,302-53,676,961) x3	HUWE1 (300697), MIR98 (300810), MIRLET7F2 (300721)	98kb	CIA
10261	arr[hg19] 6p25.3p25.1(156,974-5,608,374) x3 arr[hg19] 20q13.33(61,541,210-62,913,645) x1	Muitos	5,4 Mb 1,3 Mb	DVSVD + CIV subaórtica + estenose pulmonar + CIA + PCA
10310	arr[hg19] 3p25.2(12,639,852-12,839,971) x3 arr[hg19] 16p12.2(22,109,218-22,285,800) x3	RAF1 (164760), CAND2 (610403) [VUS] EEF2K (606968) [VUS]	200kb 177kb	CIV + CIA
10035	arr[hg19] 12p11.23(27,328,976-27,781,484) x3	ARNTL2 (614517), PPFIBP1 (603141) [VUS]	453kb	CIA
10617a2	arr[hg19] 14q31.3q32.33(89,300,566-107,284,437) x3 arr[hg19] 10q26.2q26.3(129,497,140-135,426,386) x1	Muitos	17,9Mb 5,9Mb	Janela Aortopulmonar
11077	arr[hg19] 2q37.3(240,541,780-242,782,258) x1	NDUFA10 (603835), OTOS (607877), GPC1 (600395), MIR149 (615209), RNPEPL1 (605287), CAPN10 (605286), GPR35 (602646), AQP12A (609789), KIF1A (601255), AGXT (604285), SNED1 (616634), MTERF4 (615393), PASK (607505), PPP1R7 (602877), ANO7 (605096), HDLBP (142695), SEPT2 (601506), STK25 (602255), BOK (605404), THAP4 (612533), ATG4B (611338), DTYMK (188345), ING5 (608525), D2HGDH (609186), GAL3ST2 (608237), NEU4 (608527).	2,2 Mb	CIA
9932	consanguinidade			CIA + CIVs múltiplas + estenose pulmonar valvar + tricúspide displásica

Discussão

O Hospital Universitário de Brasília é um hospital terciário, que conta com um serviço de obstetria e neonatologia de alto risco responsável pelo atendimento da região leste do Distrito Federal, sendo, portanto, usual o nascimento de pacientes

cardiopatas com ou sem diagnóstico pré-natal. No entanto, é um serviço que não conta com cirurgia cardíaca pediátrica e a maior parte dos pacientes é transferidas para unidades específicas para o manejo clínico e cirúrgico destas malformações. Além disso, não é habitual que seja solicitada avaliação da equipe de genética em pacientes com cardiopatias congênitas não-sindrômicas. Sendo assim, é possível que a incidência de cardiopatias seja bastante subestimada em relação à literatura e à realidade de nossa unidade da federação. Há ainda o viés de incidência ou não de malformações extracardíacas: enquanto na literatura, dois terços das cardiopatias são isoladas, no presente estudo a maioria está associada a outras malformações, visto que é precisamente esta coexistência que motiva o encaminhamento do paciente para o serviço da genética.

Assim como demonstrado, a maioria dos quadros de cardiopatia congênita corresponde a defeitos septais que, embora nem sempre tenham importância clínica - em 85 a 90% dos casos ocorre fechamento espontâneo, principalmente em comunicações interatriais tipo forame oval patente e comunicações interventriculares musculares - podem ser cruciais na determinação do fenótipo de determinadas síndromes ou alterações monogênicas. Na presente revisão, a cardiopatia mais comum foi a comunicação interatrial, o que não condiz com a literatura, que indica o defeito de septo ventricular com malformação mais prevalente,^{7, 96} corroborado na epidemiologia brasileira pelo SINASC - Sistema Nacional de Nascidos Vivos (tabelas 5 e 6).¹¹

Tabela 5: prevalência das cardiopatias congênitas baseada em subtipo por 1000 indivíduos comparados em quatro estudos. CIV: comunicação interventricular; PCA: persistência do canal arterial; CIA: comunicação interatrial; DSAV: defeito de septo atrioventricular; AP: atresia pulmonar; EP: estenose pulmonar; EA: estenose aórtica; CoAo: Coarctação de Aorta; T4F: tetralogia de fallot; TGA: transposição de grandes artérias; HVD: hipoplasia de ventrículo direito; HVE: hipoplasia de ventrículo esquerdo; AT: atresia tricúspide; DVSVD: dupla via de saída de ventrículo direito; VU: ventrículo único, DAVP: drenagem anômala de veias pulmonares; VAB: valva aórtica bicúspide.

* Nascidos vivos; ** cardiopatia congênita sem aneuploidia considerando nascidos vivos, natimortos e terminação da gestação por anomalia fetal. (Modificado de SAYASATHID, Jarun et. al. *Epidemiology and etiology of congenital heart disease.*)

Lesão cardíaca	Hoffman & Kaplan, 2002* Mean/Median	Reiller, 2008* (MACDP)	Dolk & Loane, 2009** (Eurocat)	Wu, 2010* (Asian population)
CIV	3.57 / 2.83	4.18	3.06	4.01
PCA	0.80 / 0.57	0.29	---	2.01
CIA	0.94 / 0.56	1.31	2.05	3.23
DSAV	0.35 / 0.34	0.41	0.19	0.20
AP	0.13 / 0.08	0.04	0.09	---
EP	0.73 / 0.53	0.55	0.40	1.22
EA	0.40 / 0.26	0.11	0.14	0.16
CoAo	0.41 / 0.36	0.44	0.34	0.25
T4F	0.42 / 0.36	0.47	0.28	0.63
TGA	0.32 / 0.30	0.23	0.35	0.21
HVD	0.22 / 0.16	---	0.04	---
HVE	0.27 / 0.27	0.23	0.26	0.06
AT	0.08 / 0.09	0.05	0.08	0.05
Ebstein	0.11 / 0.04	0.06	0.05	0.05
Truncus	0.11 / 0.09	0.06	0.09	0.08
DVSVD	0.16 / 0.13	---	---	0.15
VU	0.11 / 0.09	0.10	0.07	---
DAVP	0.09 / 0.09	0.08	0.05	0.11
Todas	9.60 / 7.67***	8.14	7.05	13.08
VAB	13.56/9.24	---	---	---

Tabela 6: prevalência das cardiopatias congênitas por subtipo e por região brasileira.

*Prevalência em 1000 nascidos vivos.

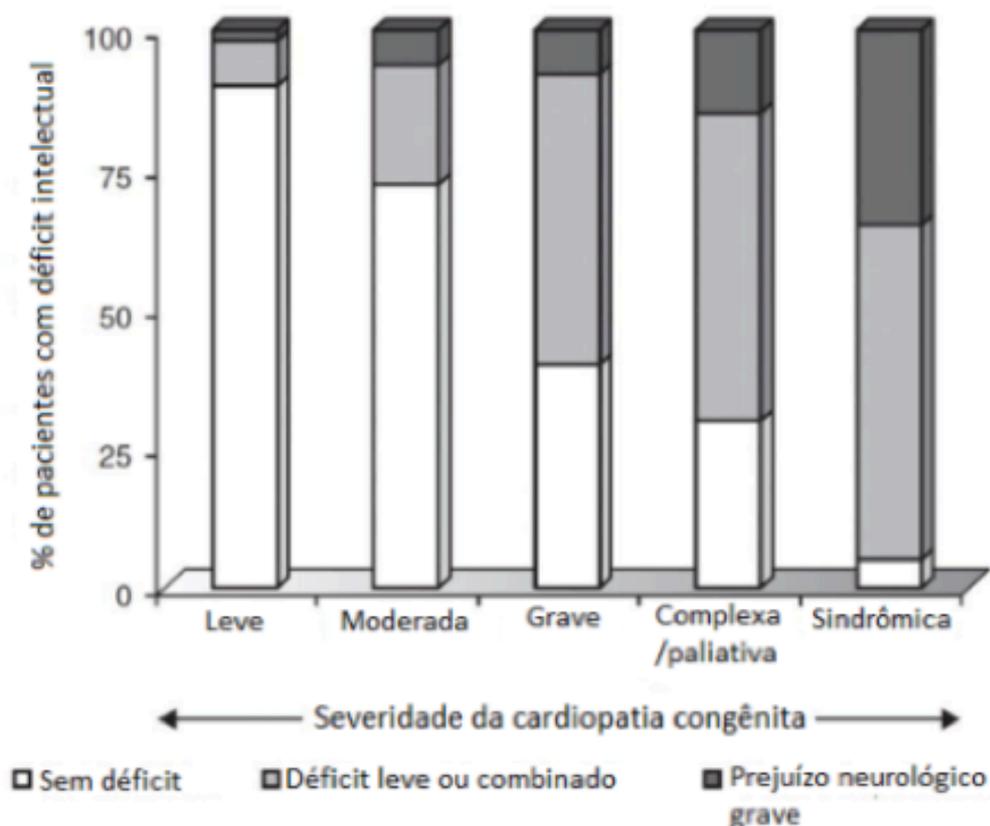
(Modificado de Pinto Júnior VC, et al. - *Epidemiology of congenital heart disease in Brazil.* Braz J Cardiovasc Surg 2015;30(2):219-24)

Região	Nascidos vivos	CIV	CIA	PCA	EP	T4F	CoAo	TGA	EA
Brasil	2,861,868	2.62*	1.64*	0.87*	0.5*	0.34*	0.34*	0.31*	0.22*
Norte	306,422	7,498	4,693	2,490	1,431	973	973	887	630
Nordeste	841,160	803	503	267	153	104	104	95	67
Sudeste	1,123,593	2,204	1,380	732	421	286	286	261	185
Sul	369,905	2,944	1,843	978	562	382	382	348	247
Centro-Oeste	220,788	969	607	322	185	126	126	115	81
		578	362	192	110	75	75	68	49

A persistência do canal arterial é uma manifestação que precisa ser analisada com ainda mais cautela. Sua incidência chega a 13,5% das cardiopatias congênitas e sua etiologia tem importante influência ambiental: o fechamento do canal arterial após o nascimento pode ser interrompido ou retardado pela presença de insuficiência respiratória em recém nascidos a termo - como na vigência de pneumonia intraútero ou síndrome de aspiração meconial - ou pela prematuridade, principalmente quando estes recém nascidos são expostos a sobrecarga hídrica, ou mesmo intencionalmente, pelo uso de prostaglandina E em cardiopatias complexas que dependem da sua patência para a sobrevivência do indivíduo.³² No entanto, a persistência do canal arterial após os 3 meses do término da gestação - ou da idade gestacional corrigida ao termo - demonstra histologicamente uma quantidade anormalmente elevada de elastina e a presença de uma lâmina subendotelial rica nesta proteína.³² Modelos animais demonstram a presença de canal arterial patente em animais adultos e sua hereditariedade, incluindo ratos com deleções de genes envolvendo as vias das prostaglandinas e de proteínas musculares, como a cadeia pesada da miosina, além de possivelmente genes que alterem a produção de matriz extracelular e apoptose.³² Dessa forma, o canal arterial patente não deve ser tratado com leviandade pelo geneticista e pelo pediatra, principalmente em pacientes possuindo outras malformações. Neste estudo, um paciente cujo MLPA demonstrou deleção 22q11 apresentava unicamente o canal arterial patente como alteração cardiovascular. Isso mostra a necessidade de exame cardíaco e anamnese minuciosos não só para investigação da cardiopatia no paciente, mas para a identificação de possíveis outros afetados na família.

Baixa estatura e déficit cognitivo são duas das alterações extracardíacas mais comuns⁹¹ e que também devem ser interpretadas cuidadosamente: a baixa estatura pode ser secundária ao baixo débito e ao trabalho cardíaco elevado decorrente da fisiologia alterada do coração anômalo, que pode levar à desnutrição severa, redução na atividade física e exposição solar. O déficit cognitivo, marcadamente mais comum em pacientes com cardiopatias severas,^{10, 12} é de difícil avaliação no período neonatal e no lactente jovem - quando a maior parte das cardiopatias é diagnosticada - e pode ser agravado ou mesmo fruto de complicações peri- e pós-operatórias, como a hipóxia prolongada, alterações hemodinâmicas, sangramentos, paradas cardiorrespiratórias, tromboembolismo e necessidade de assistência circulatória.⁴⁰ Na idade escolar, pacientes submetidos a correção de cardiopatia congênita possuem escores mais baixos em testes de inteligência, pior coordenação motora fina e grosseira e maior risco de déficit de aprendizado e anormalidades de linguagem e comportamento, mesmo em pacientes que não passaram por eventos catastróficos.⁴⁰ Adversidades neuropsicomotoras são mais prováveis em pacientes com cardiopatias complexas, especialmente naqueles que corrigiram anomalias de ventrículo único, como a síndrome da hipoplasia do coração esquerdo, que não está normalmente em um contexto sindrômico (tabela 7).^{12, 40}

Tabela 7: gradiente entre a gravidade da cardiopatia congênita e a presença de déficit neuropsicomotor. (Modificado de WERNOVSKY] G. **Current insights regarding neurological and developmental abnormalities in children and young adults with complex congenital cardiac disease.** *Cardiol Young.* 2006 Feb; 16 Suppl 1:92-104.)



Embora haja uma rápida evolução nos métodos diagnósticos, em nosso país a investigação genética ainda é cara e restrita, principalmente no âmbito da saúde pública, não sendo possível ou justo o repasse destes custos aos pacientes e suas famílias; por outro lado, investigações mais frequentes e bem documentadas são essenciais no esclarecimento dos processos intrincados da organogênese cardíaca, e, posteriormente, na prevenção e manejo das cardiopatias congênitas; por isso, faz-se mister o uso racional destas ferramentas a de forma individualizada, priorizando a

abordagem multiprofissional, envolvendo a equipe de cardiologia clínica, cardiologia cirúrgica, terapia intensiva ou neonatologia e genética clínica.

A primeira situação clínica a se considerar testes genéticos é a presença de fenótipo sindrômico: dismorfismos faciais, de membros e de extremidades, além de outras alterações esqueléticas como escoliose; malformações genitourinárias ou anais; além de exames de imagem que permitam a visualização de possíveis alterações viscerais, principalmente no contexto da terapia intensiva neonatal e pediátrica, permitindo antecipar outros procedimentos que venham a ser necessários, ou mesmo complicações: a presença de síndromes e malformações extracardíacas aumenta sensivelmente a morbimortalidade. A variabilidade fenotípica, no entanto, pode tornar esta avaliação ainda mais subjetiva e complexa, destacando-se o papel do geneticista.

Ao considerar-se unicamente o fenótipo cardíaco, recomenda-se que todos os pacientes com quadro de estenose aórtica supravalvar ou estenose pulmonar sejam encaminhados para pesquisa de alterações compatíveis com Síndrome de Williams-Beuren, enquanto aqueles com interrupção do arco aórtico, tetralogia de Fallot, *truncus arteriosus* ou CIV associada a alterações do arco aórtico devam ser investigados quanto à possibilidade de síndrome de microdeleção 22q11

Outra situação clínica a ser considerada para a avaliação genética é quando o paciente apresenta parentes de primeiro ou segundo grau com alterações cardíacas ou mesmo extracardíacas, incluindo perdas fetais e neonatais: a variabilidade fenotípica e a penetrância incompleta de algumas variantes gênicas podem obscurecer padrões de herança e dificultar o diagnóstico acurado.

A análise do cariótipo detecta alterações genéticas que acometam mais de 5Mbp, gerando uma grande variedade de malformações cardíacas e extracardíacas

grosseiras, sendo normalmente o primeiro exame a ser solicitado no paciente com fenótipo sindrômico.

O MLPA, por necessitar de sondas específicas, deve ser utilizado quando há suspeição clínica de síndromes de microdeleção conhecidas, especialmente síndromes de microdeleção 22q11, Willams-Beuren e Allagille.

A análise cromossômica por *microarray* detecta anormalidades estruturais e numéricas desbalanceadas, permitindo a rápida identificação de duplicações/deleções, translocações desbalanceadas e aneuploidias em todo o genoma, em contraste com o MLPA e o FISH, que analisam regiões específicas. É particularmente útil em pacientes com múltiplas malformações cujo cariótipo é normal e o fenótipo não sugere região específica a ser testada.⁹⁵

O sequenciamento direcionado de determinados genes pode ser utilizado em pacientes com cardiopatias não-sindrômicas esporádicas ou familiares, entretanto, como os genes estudados nestes painéis foram determinados a partir de estudos em famílias afetadas, pode haver importante viés na avaliação de casos esporádicos. Assim, entra em cena o sequenciamento do exoma ou mesmo de todo o genoma (respectivamente, WES e WGS).³⁸ O mais desafiador destes sequenciamentos amplos é a identificação de variantes raras que são biologicamente plausíveis, porém não foram associadas a agravos conhecidos - as chamadas variantes de significado desconhecido - que demandam o teste simultâneo dos pais para identificar se a alteração é esporádica ou herdada, direcionando a interpretação quanto à sua patogenicidade. Estes testes são ainda onerosos, mesmo quando realizados somente no indivíduo afetado.^{38, 90}

No sentido de racionalizar os esforços diagnósticos, propõe-se o algoritmo descrito na figura 35.

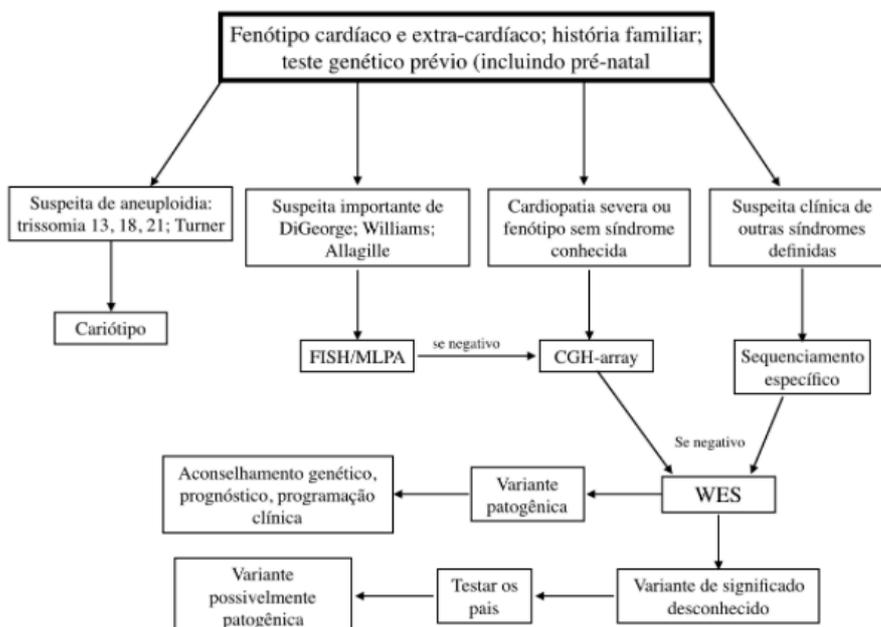


Figura 35: algoritmo proposto para teste genético de pacientes com cardiopatias congênitas.

Este algoritmo limita o uso de cariótipo apenas para pacientes cujo fenótipo deja sugestivo de alterações cromossômicas, visto o custo financeiro e pessoal de realizar tal exame de forma indiscriminada. Também racionaliza o uso de outras vias diagnósticas, otimizando a utilização de insumos e do tempo dispensados na tentativa de diagnóstico.

O paciente 10457, portador de CIA e importante deficit cognitivo, apresenta uma duplicação de região do braço curto do cromossomo X, incluindo o gene HUWE1, sabidamente associado a deficiência intelectual. Os demais genes envolvidos são de microRNAs, pequenas cadeias de RNA que possuem importante papel na regulação

gênica pós-transcricional e cuja importância nas cardiopatias congênitas ainda carece de maior entendimento.

O paciente 11077 apresenta uma deleção distal do braço longo do cromossomo 2 (2q37.1-3). É descrita na literatura uma síndrome de deleção do 2q37 cujo espectro clínico inclui sobrepeso, alterações esqueléticas e comportamentais, além de cardiopatias congênitas em 20% dos casos. Usualmente as deleções desse segmento incluem o gene HDAC4 (*locus* 2q37.3) um gene que codifica uma enzima de desacetilação de histonas. O papel das histonas nas cardiopatias congênitas é crescente, no entanto, o paciente em tela não possui deleção deste gene específico. O quadro clínico desse paciente apesar de constituir quadro de cardiopatia sindrômica com déficit intelectual é diferente daquele encontrado em pacientes com deleção incluindo HDAC4 que apresentam ainda defeitos de membros.

Os demais pacientes não apresentaram alterações genotípicas previamente associadas a cardiopatias congênitas.

A despeito de todos os avanços, especialmente na última década, com a fomentação dos sequenciamentos de nova geração, cerca de 45 a 50% das cardiopatias congênitas não têm causas definidas.¹⁰ É possível que a contribuição de SNVs e SNPs seja subestimada por limitações na detecção e pela dificuldade de identificar se uma alteração é ou não patogênica. À medida que coortes maiores forem sendo realizadas, estes dados poderão ser incorporados em uma medicina cada vez mais precisa e individualizada para o atendimento de crianças e adultos portadores de cardiopatias congênitas.

Conclusões

- A revisão das causas genéticas de cardiopatia mostra que embora mais da metade das cardiopatias ainda seja de etiologia genética desconhecida, o entendimento dos genes alterados nos mais variados contextos anatômicos-funcionais é peça chave para desvendar os mecanismos moleculares da organogênese cardíaca, além de permitir elucidação em relação à evolução clínica e história natural da doença.
- Na amostra estudada, 93% dos pacientes apresentavam malformações extracardíacas, o que é incompatível com o que se observa na literatura, demonstrando que a avaliação genética não é valorizada nas cardiopatias isoladas, embora sua importância clínica seja crescente.
- Dos 44 pacientes estudados, 10 (23%) tiveram diagnóstico de síndromes já descritas, enquanto 5 (11%) apresentaram alterações cromossômicas ainda sem correlação clínica bem estabelecida.
- A análise cromossômica por microarray é uma importante ferramenta diagnóstica, encontrando-se alterado em 46% das amostras coletadas, embora nem sempre seja possível pontuar o principal gene responsável pela cardiopatia nesses pacientes. O acompanhamento dos pacientes a longo prazo, a realização do array dos genitores e o progressivo incremento nas bases de dados podem fornecer informações esclarecedoras na etiopatogenia das cardiopatias congênitas, especialmente naquelas isoladas.
- O grande número de indivíduos sem diagnóstico ou alteração genética determinada (65%) demonstra que o fluxograma diagnóstico não só pode ser melhorado com indicações mais precisas dos diferentes métodos investigativos,

como também com a ampliação da população estudada - com maior cobertura de pacientes com diagnósticos de cardiopatias complexas isoladas - e políticas que evitem a evasão destes pacientes dos serviços de genética.

- Em contextos não-sindrômicos, cardiopatias leves e sem repercussões clínicas não devem rotineiramente ser investigadas do ponto de vista genético. Pacientes com cardiopatias graves, no entanto, se beneficiariam deste estudo dado o grande custo financeiro e pessoal da doença e a possibilidade de esta ser um espectro de alteração genética de penetrância variável ou herança complexa, permitindo o adequado aconselhamento de suas famílias e o manejo das possíveis complicações associadas.

Considerações pessoais

- O esclarecimento de causas genéticas é particularmente importante na vigência de alterações extracardíacas como baixa estatura e déficit intelectual, que, por serem potenciais complicações da cardiopatia em si, tem difícil definição prognóstica.
- Com a progressão dos atos clínicos e cirúrgicos, a sobrevida dos pacientes acometidos com cardiopatias congênitas aumentou drasticamente, de modo que, em países desenvolvidos, existem mais adultos que crianças portadoras deste agravo. A chegada destes pacientes - que previamente faleciam em idades muito tenras - à idade fértil chama a atenção para potencial herança por sua prole de genes alterados que normalmente desapareceriam, trazendo particular importância ao aconselhamento genético. No Brasil e em particular no Distrito Federal, o diagnóstico genético de pacientes com cardiopatias sindrômicas ou

não sindrômicas, ainda que graves, é pouco desenvolvido, não só pelo ônus financeiro dos testes genéticos, mas pela pouca interação entre as equipes envolvidas diretamente na assistência destes pacientes e a genética clínica: a presença do geneticista em unidades cardiológicas é virtualmente nula e, em hospitais que contam com o apoio da genética clínica, a pesquisa é deixada em segundo plano frente à complexidade dos cuidados intensivos

Referências

1. FRANÇA, Elisabeth Barboza et al. Principais causas da mortalidade na infância no Brasil, em 1990 e 2015: estimativas do estudo de Carga Global de Doença. **Revista brasileira de epidemiologia**, São Paulo, v. 20, supl. 1, p. 46-60, Maio/2017.
2. COSTA, Claudia Maria da Silva. **Perfil das malformações congênitas em uma amostra de nascimentos no município do Rio de Janeiro 1999-2001**. 2005, 60p. Dissertação (Mestrado em Saúde Pública) – Escola Nacional de Saúde Pública Sérgio Arouca. Fundação Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, 2005;
3. FRANÇA, Elisabeth; LANSKY, Sônia. Mortalidade infantil neonatal no Brasil: situação, tendências e perspectivas. **Anais do XVI Encontro Nacional de Estudos Populacionais**, dez, 2008
4. AMORIM, Melania Maria Ramos de et al. Impacto das malformações congênitas na mortalidade perinatal e neonatal em uma maternidade-escola do Recife. **Revista Brasileira de Saúde Materno-Infantil**, Recife, v. 6, supl. 1, p. s19-s25, Maio, 2006.
5. HOROVITZ, Dafne Dain Gandelman; LLERENA, Juan Clinton; MATTOS, Ruben Araújo. Atenção aos defeitos congênitos no brasil: panorama atual. **Cadernos de saúde pública**, v. 21, n. 4, p. 1055-1064, jul./ago. 2005.
6. HOROVITZ, D. D. G. et al. Atenção aos defeitos congênitos no brasil: características do atendimento e propostas para formulação de políticas públicas em genética clínica. **Cadernos de saúde pública**, v. 22, n. 12, p. 2599-2
7. LINDE, D. V. D. et al. Birth prevalence of congenital heart disease worldwide a systematic review and meta-analysis. **Journal of the american college of cardiology**, v. 58, n. 21, p. 2241-2247, nov. 2011
8. HOFFMAN, Julien I. E.; KAPLAN, Samuel. The incidence of congenital heart disease. **Journal of the american college of cardiology**, v. 39, n. 12, p. 1890-1900, set./mar. 2002.
9. RICKERT-SPERLING, S.; KELLY, R. G.; DRISCOLL, D. J. Congenital Heart Diseases: the broken heart, 1^a ed. Viena: Springer, 2016;
10. BRUECKNERI, Zaid; BRUECKNER, Samir; BRUECKNER, Martina. Genetics and genomics of congenital heart disease. **Circulation Research**, [S.L.], v. 120, n. 6, p. 923-940, mar. 2017;
11. PINTO JUNIOR, Valdeste Cavalcante. Epidemiology of congenital heart disease in Brazil: approximation of the oficial brazilian data with the literature. **Revista Brasileira de Cirurgia Cardiovascular**, São José do Rio preto, v. 30, n. 2, p. 219-224, abr. 2015;
12. LI, Yan-jie; YANG, Yi-qing. An update on the molecular diagnosis of congenital heart disease: focus on loss-of-function mutations. **Expert review of molecular diagnosis**, v. 4, p. 393-401, mar. 2017.

13. MOORE, Keith. Sistema cardiovascular in **Embriologia Clínica**, 10^a edição. Rio de Janeiro, Elsevier, 2016;
14. BRADE, T. et al. Embryonic heart progenitors and cardiogenesis. **Cold Spring Harbour Perspectives in Medicine**, v. 3, n. 10, out. 2013.
15. SRIVASTAVA, Deepak. Making or breaking the heart: from lineage determination to morphogenesis. **Cell**, [S.L.], v. 126, n. 6, p. 1037-1048, set. 2006;
16. COCHARD, R. Larry. *Netter's Atlas of human embryology*, Saunders Elsevier, 2002;
17. CROTI, Ulisses Alexandre, et. al. **Cardiologia e Cirurgia Cardiovascular Pediátrica**, 2^a edição, Ed. Roca, 2013;
18. APITZ, Christian; WEBB, Gary D; REDINGTON, Andrew N. Tetralogy of Fallot. *Lancet*, v. 374, n. 9699, p. 1462-1471, ago. 2009.
19. CROTI, Ulisses Alexandre et al. Classificação anatômica e correção cirúrgica da atresia pulmonar com comunicação interventricular. **Revista Brasileira de Cirurgia Cardiovascular**, São Paulo, v. 16, n. 4, p. 321-336, Dec. 2001.
20. SOARES, Andressa Mussi et al. Aortopulmonary window. Clinical and surgical assessment of 18 cases. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia**, São Paulo, v. 73, n. 1, p. 67-74, Jul, 1999
21. DILLMAN, J. R. et al. Interrupted aortic arch: spectrum of mri findings. **American Journal of Roentgenology**, v. 190, n. 6, p. 1467-1474, jun. 2008.
22. PENNY, D. J.; VICK, G. W. Ventricular septal defect. **The Lancet**, v. 377, n. 9771, p. 1103–1112, mar. 2011.
23. FEINSTEIN, J. A. et al. Hypoplastic left heart syndrome current considerations and expectations. **Journal of the american college of cardiology**, v. 59, n. 1, p. 1-42, dez./jan. 2012.
24. RAO, P. Syamasundar. Coarctation of the aorta. **Current cardiology reports**, v. 7, n. 6, p. 425-434, nov. 2005.
25. GULESERIAN, K. J. et al. Natural history of pulmonary atresia with intact ventricular septum and right-ventricle–dependent coronary circulation managed by the single- ventricle approach. **The annals of thoracic surgery**, v. 81, n. 6, p. 2250-2258, jun. 2006.
26. MORRAY, Brian. Preoperative physiology, imaging, and management of ebstein's anomaly of the tricuspid valve. **Seminars in cardiothoracic and vascular anesthesia**, v. 20, n. 1, p. 74-81, mar. 2016.
27. CRAIG, Brian. Atrioventricular septal defect: from fetus to adult. **Heart**, v. 97, n. 12, p. 1879-1885, nov. 2006.
28. DILLMAN, Jonathan R.; YARRAM, Sai G.; HERNANDEZ, Ramiro J. Imaging of pulmonary venous developmental anomalies. **american journal of roentgenology**, v. 192, n. 5, p. 1272-1285, mai. 2009.
29. GUDJONSSON, Ulf; BROWN, John W.. Scimitar syndrome. **Seminars in thoracic and cardiovascular surgery: pediatric cardiac surgery annual**, v. 9, n. 1, p. 56-2, jan. 2006.
30. ALPHONSO, N., NØRGAARD, M. A., Newcomb, A., d' Udekem, Y., Brizard, C. P., & Cochrane, A. Cor Triatriatum: Presentation, Diagnosis and Long-Term Surgical Results. **The Annals of Thoracic Surgery**, v. 80 n. 5, p. 1666–1671. Nov. 2005.

31. VERAS, F. H. A. P. et al. Origem anômala das artérias coronárias. *Revista brasileira de cardiologia invasiva*, [S.L.], v. 15, n. 3, p. 285-292, jan. 2007.
32. BÖKENKAMP, R. et al. Insights into the pathogenesis and genetic background of patency of the ductus arteriosus. **Neonatology**, v. 98, p. 6-17, dez. 2009.
33. WEINTRAUB, Robert G; SEMSARIAN, Christopher; MACDONALD, Peter. dilated cardiomyopathy. **Lancet**, v. 390, n. 10092, p. 400-414, jul. 2017.
34. COLAN, S. D., MARGOSSIAN, R. Hypertrophic Cardiomyopathy. In: JEFFERIES, J. L. et al (Ed.) **Heart Failure in the Child and Young Adult**. Elsevier, 2018, p. 239-267.
35. ARBUSTINI, E. et al. Left ventricular noncompaction a distinct genetic cardiomyopathy?. **Journal of the american college of cardiology**, v. 68, n. 9, p. 949-966, ago. 2016.
36. TING, T. W. et al. Left ventricular non-compaction: is it genetic? **Pediatric cardiology**, [S.L.], v. 36, n. 8, p. 1565-1572, dez. 2015.
37. DIGILIO, Maria Cristina; MARINO, Bruno. What is new in genetics of congenital heart defects? **Frontiers in pediatrics**, v. 4, n. 120, ago. 2018.
38. BLUE, G. M. et al. Advances in the genetics of congenital heart disease: a clinician's guide. **Journal of the American College of Cardiology**, [S.L.], v. 69, n. 7, p. 859-870, fev. 2017.
39. PIERPOINT M. E. et al. Genetic basis for congenital heart defects: current knowledge: a scientific statement from the american heart association congenital cardiac defects committee, council on cardiovascular disease in the young: endorsed by the american academy of pediatric. **Circulation**, [S.L.], v. 115, n. 23, p. 3015-3038, mai. 2007.
40. WERNOVSKY, Gil. Current insights regarding neurological and developmental abnormalities in children and young adults with complex congenital cardiac disease. **Cardiology in the young**, v. 16, p. 92-104, fev. 2006.
41. LOPES, Selma Alves Valente do Amaral et al. Mortality for Critical Congenital Heart Diseases and Associated Risk Factors in Newborns. A Cohort Study. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia**, São Paulo, v. 111, n. 5, p. 666-673, Nov. 2018.
42. **ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DE SAÚDE**. UNICEF Data: Levels and Trends in Child Mortality, 2018. Disponível em: <https://data.unicef.org/resources/>. Acessado em 10 de fevereiro de 2019 às 18h38.
43. A.J, M. et al. Lifetime prevalence of congenital heart disease in the general population from 2000 to 2010. **Circulation**, v. 130, n. 9, p. 749-756, ago. 2014;
44. CALCAGNI, G. et al. Congenital heart disease and genetics syndromes: new insights into molecular mechanisms. **Expert review of molecular diagnostics**, [S.L.], v. 17, n. 9, p. 861-870, ago. 2017;
45. Online Mendelian Inheritance in Man, OMIM™. Center for Medical Genetics, Johns Hopkins University (Baltimore, MD) and National Center for Biotechnology Information, National Library of Medicine (Bethesda, MD), 1997. World Wide Web URL: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/omim/>

46. RAMBO-MARTIN, B. L. et al. Analysis of copy number variants on chromosome 21 in down syndrome-associated congenital heart defects. **G3: genes, genomes, genetics**, [S.L.], v. 8, n. 1, p. 105-111, jan. 2018.
47. BONDY, C. Congenital Cardiovascular Defects in Monosomy X or Turner Syndrome in **Congenital Heart Disease: Molecular Genetics, Principles of Diagnosis and Treatment**, 1ª edição. Karger, 2015;
48. GUO, T. et al. Histone modifier genes alter conotruncal heart phenotypes in 22q11.2 deletion syndrome. **American journal of Human Genetics**, [S.L.], v. 97, n. 6, p. 869-877, ago. 2018;
49. PINCHEFSKY, E; LANEUVILLE, L; SROUR, M. et al. Distal 22q11.2 microduplication: case report and review of the literature. **Child neurology open**, v. 4, nov. 2017.
50. SOEMEDI, R. et al. Phenotype-specific effect of chromosome 1q21.1 rearrangements and gja5 duplications in 2436 congenital heart disease patients and 6760 controls. **Human molecular genetics**, [S.L.], v. 21, n. 7, p. 1513-1520, abr. 2012;
51. ANDERSEN, Troels Askhøj; TROELSEN, Karin De Linde Lind. Of mice and men: molecular genetics of congenital heart disease. **Cellular and molecular life sciences**, [S.L.], v. 71, n. 8, p. 1327-1352, ago. 2013;
52. GUIDA, V. et al. A variant in the carboxyl-terminus of connexin 40 alters gap junctions and increases risk for Tetralogy of Fallot. **European journal of human genetics**, [S.L.], v. 21, n. 1, p. 69-75, jan. 2013.
53. ARNDT, A. et al. Fine mapping of the 1p36 deletion syndrome identifies mutation of PRDM16 as a cause of cardiomyopathy. **American journal of human genetics**, [S.L.], v. 93, n. 1, p. 67-77, jul. 2013.
54. WAT, M. J. et al. Chromosome 8p23.1 deletions as a cause of complex congenital heart defects and diaphragmatic hernia. **American Journal of Medical Genetics**, [S.L.], v. 149, n. 8, p. 1161-1677, jul. 2009.
55. BATTAGLIA, Agatino; FILIPPI, Tiziana; CAREY, John C.. Update on the clinical features and natural history of Wolf–Hirschhorn (4p-) syndrome: experience with 87 patients and recommendations for routine health supervision. **American Journal of Medical Genetics**, [S.L.], v. 148, n. 4, p. 1161-1677, nov. 2008;
56. ELTEN, K. V. et al. A case of Wolf-Hirschhorn syndrome and hypoplastic left heart syndrome. **Pediatric cardiology**, [S.L.], v. 34, n. 5, p. 1244-1246, jun. 2013;
57. PASQUA, A. D. et al. New findings concerning cardiovascular manifestations emerging from long-term follow-up of 150 patients with the williams-beuren-beuren syndrome. **Cardiology in the young**, [S.L.], v. 19, n. 6, p. 563-567, set. 2009.
58. YOSHIMURA, K, KITAGAWA, H; FUJIKI, R; TANABE, M; TAKADA, I; YAMAOKA, I. et al. Distinct function of 2chromatin remodeling complexes that share a common subunit, Williams syndrome transcription factor (WSTF). **Proceedings of the national academy of sciences of the United States of America**, v. 106, n. 23, p. 9280-9285, mai. 2009.
59. KLEEFSTRA, T. et al. Loss-of-function mutations in euchromatin histone methyl transferase 1 (EHMT1) cause the 9q34 subtelomeric deletion syndrome. **American Journal of Medical genetics**, [S.L.], v. 79, n. 2, p. 370-377, jun. 2006.

60. GENG, J; PICKER, J; ZHENG, Z; ZHANG, X; WANG, J; HISAMA, F. et al. Chromosome microarray testing for patients with congenital heart defects reveals novel disease causing loci and high diagnostic yield. **BMC Genomics**, v. 15, n. 1, dez. 2014.
61. JHANG, W. K; CHOI, J. H; LEE, B. H. et al. Cardiac manifestations and associations with gene mutations in patients diagnosed with RASopathies. **Pediatric cardiology**, v. 37, n. 8, p. 1539-1547, dez. 2016.
62. PIERPONT, E. I. et al. Genotype differences in cognitive functioning in noonan syndrome. **Genes brain behaviour**, [S.L.], v. 8, n. 3, p. 275-282, dez. 2011.
63. TIDYMAN, William E.; RAUEN, Katherine A.. The rasopathies: developmental syndromes of RAS/MAPK pathway dysregulation. **Current opinion in genetics & development**, [S.L.], v. 19, n. 3, p. 230-236, jun. 2009.
64. DIGILIO, M. C. et al. Cardiovascular Malformations in Adams–Oliver Syndrome. **American Journal of Medical Genetics**, [S.L.], v. 167, n. 5, p. 1175-1177, mai. 2015.
65. POMPA, José Luis De La; EPSTEIN, Jonathan A. Coordinating tissue interactions: notch signaling in cardiac development and disease. **Developmental cell**, [S.L.], v. 22, n. 2, p. 244-254, fev. 2014.
66. KODO, Kazuki; YAMAGISHI, Hiroyuki. Current insights into genetics of congenital heart diseases: GATA and T-box cardiac transcription factors as the hotspot pathogenesis. **Journal of pediatric cardiology and cardiac surgery**, [S.L.], v. 1, n. 1, p. 18-27, jul. 2017;
67. PATEL, C. et al. TBX5 intragenic duplication: a family with an atypical Holt–Oram syndrome phenotype. **European journal of human genetics**, [S.L.], v. 20, n. 8, p. 863-869, fev. 2012.
68. TURNPENNY, Peter D; ELLARD, Sian. Alagille syndrome: pathogenesis, diagnosis and management. **European journal of human genetics**, v. 20, n. 3, p. 251-257, mar. 2012.
69. MOORE-MORRIS, T; VAN VILET, P. P; ANDELFINGER, G. et al. Role of epigenetics in cardiac development and congenital diseases. **Physiological reviews**, v. 98, n. 4, p. 2453-2475, dez. 2018.
70. HAN, P. et al. Chromatin remodeling in cardiovascular development and physiology. **Circulation Research**, [S.L.], v. 108, n. 3, p. 378-396, fev. 2011.
71. JONGMANS, M. C. J. et al. CHARGE syndrome: the phenotypic spectrum of mutations in the CHD7 gene. **Journal of medical genetics**, [S.L.], v. 43, n. 4, p. 306-314, abr. 2006.
72. LALANI, S. et al. SEMA3E mutation in a patient with CHARGE syndrome. **Journal of medical genetics**, [S.L.], v. 41, n. 7, p. 94, jul. 2004.
73. LEÓN, L. E; BENAVIDES, L; ESPINOZA, K; VIAL, C; ALVAREZ, P; PALOMARES, M. et al. Partial microduplication in the histone acetyltransferase complex member KANSL1 is associated with congenital heart defects in 22q11.2 microdeletion syndrome patients. **Scientific reports**, v. 7, n.11, mai. 2017.
74. ZHANG, L, KITABAYASHI-NOMURA, A; SULTANA, N. et al. Mesodermal nkx2.5 is necessary and sufficient for early second heart field development. **Developmental biology**, v. 390, n. 1, p. 68-70, jun. 2014.

75. HARVEY, R. P; LAI, D; ELLIOTT, D; BIBEN, C; SOLLOWAY, M; PRALL, O. et al. Homeodomain factor nkx2-5 in heart development and disease. **Cold Spring Harbour symposia on quantitative biology**, v. 67, p. 107-114, jun. 2002.
76. CHUNG, III-min; RAJAKUMAR, Govindasamy. Genetics of congenital heart defects: the NKX2-5 gene, a key player. **Genes**, v. 7, n. 2, fev. 2016.
77. FAHED, Akl C; NEMER, Georges M. Genetic Causes of syndromic and non-syndromic congenital heart disease. In: COOPER, D (Ed.) Mutations in Human Genetic Disease. InterchOpen, 2012, p. 119-148.
78. BOOGERD, C. J. et al. Tbx20 is required in mid-gestation cardiomyocytes and plays a central role in atrial development. **Circulation Research**, v. 123, n. 4, p. 428-442, jun. 2018.
79. LENTJES, M. H; NIESSEN, H. E. C; YOSHIMITSU, A. et al. The emerging role of GATA transcription factors in development and disease. **Expert reviews in molecular medicine**, v. 18, n. 3, mar. 2016;
80. WARE, S. M. et al. Identification and functional analysis of zic3 mutations in heterotaxy and related congenital heart defects. **American journal of human genetics**, [S.L.], v. 74, n. 1, p. 93-105, jan. 2004;
81. LI, S. et al. A novel ZIC3 gene mutation identified in patients with heterotaxy and congenital heart disease. **Scientific reports**, [S.L.], v. 8, ago. 2018.
82. FRANCO, Diego; CAMPIONE, Marina. The role of PITX2 during cardiac development: linking left–right signaling and congenital heart diseases. **Trends in Cardiovascular Medicine**, [S.L.], v. 13, n. 4, p. 157-163, mar. 2003.
83. FRANCO, Diego; SEDMERA, David; LOZANO-VELASCO, Estefanía. Multiple roles of PITX2 in cardiac development and disease. **Journal of cardiovascular development and disease**, [S.L.], v. 4, n. 16, p.111-222, ago./out. 2017.
84. POSCH, M.G. Cardiac alpha-myosin (MYH6) is the predominant sarcomeric disease gene for familial atrial septal defects. **PLoS one**, [S.L.], v. 6, n. 12, dez. 2011.
85. WANG, J. et al. MYH7 rare variant in a family with double-chambered left ventricle. **Circulation: genomic and precision medicine**, [S.L.], v. 10, n. 6, dez. 2017;
86. POSTMA, A. V. et al. Mutations in the sarcomere gene MYH7 in Ebstein anomaly. **Circulation: cardiovascular genetics**, [S.L.], v. 4, p. 43-50, dez. 2010.
87. MATSSON, H. et al. Alpha-cardiac actin mutations produce atrial septal defects. **Human molecular genetics**, [S.L.], v. 17, n. 2, p. 256-265, out. 2007.
88. MCBRIDE, K. L. et al. Notch1 mutations in individuals with left ventricular outflow tract malformations reduce ligand-induced signaling. **Human molecular genetics**, [S.L.], v. 17, n. 18, p. 2888-2893, ago. 2008;
89. KENNEDY, Marcus P; PLANT, Barry J. Laterality defects other than situs inversus totalis in primary ciliary dyskinesia: insights into situs ambiguus and heterotaxy. **Chest**, [S.L.], v. 146, n. 5, p. 1136-1138, nov. 2014.
90. CHAIX, Marie A; ANDELFINGER, Gregor; KHAIRY, Paul. Genetic testing in congenital heart disease: a clinical approach. **World journal of cardiology**, [S.L.], v. 8, n. 2, p. 181-190, fev. 2016.

91. EGBE, A. et al. Prevalence of associated extracardiac malformations in the congenital heart disease population. **Pediatric cardiology**, v. 25, n. 7, p. 1239-1245, out. 2014.
92. CALCAGNI, G. et al. Familial recurrence of congenital heart disease: an overview and review of the literature. **European journal of pediatrics**, [S.L.], v. 166, n.11, p. 111-116, nov. 2008.
93. WANG, X. et al. Influence of genes and the environment in familial congenital heart defects. **Molecular Medicine Reports**, [S.L.], v. 9, n. 4, p. 695-700, fev. 2014.
94. AHRENS-NICKLAS, R. C. et al. Utility of genetic evaluation in infants with congenital heart defects admitted to the cardiac intensive care unit. **American journal of medical genetics**, [S.L.], v. 170, n. 12, p. 3090-3097, dez. 2016.
95. FIGUEIREDO, Ana Carolina Vaqueiro. **Identificação de regiões genômicas candidatas à etiologia genética de cardiopatia congênita associada à deficiência intelectual**. 2016. 107f. Dissertação (Mestrado em Ciências da Saúde) – Faculdade de Saúde. Universidade de Brasília, Brasília, 2016;
96. SAYASATHID, J., SUKOPAN, K., SOMBOONNA, N. Epidemiology and Etiology of congenital heart diseases. In: RAO, S. (Ed.) **Congenital Heart Disease**, IntechOpen, 2012
97. JORGENSEN, M. et al. Stillbirth: the heart of the matter. **American journal of medical genetics**, [S.L.], v. 164, n. 3, p. 691-699, mar. 2014.