



Mapa
Genoma Brasil

Coleta e Registro de Dados em Medicina Genômica

Subprojeto II - Cardiogenética

Livro 2



A Beneficência
Portuguesa
de São Paulo



PROADI-SUS
Programa de Apoio ao Desenvolvimento
Institucional do Sistema Único de Saúde



MINISTÉRIO DA
SAÚDE



Projeto Mapa Genoma Brasil

BP - A Beneficência Portuguesa de São Paulo

Gerente Executivo PROADI SUS:

Dante Dianezi Gambardella

Coordenadora Projeto Mapa Genoma Brasil

Mariana Beraldo da Costa Saad

Coordenador Projeto Qualificação e Treinamento

José Pereira de Souza

Assessoria Técnica

Erika Maria Monteiro Santos

Autoras

Emanuelle Leonilia Marques

Mariana Lombardi Peres de Carvalhos

Equipe Qualificação e Treinamento

Cristiane da Fonseca Amancio

Fernando Alves Alencar de Moura

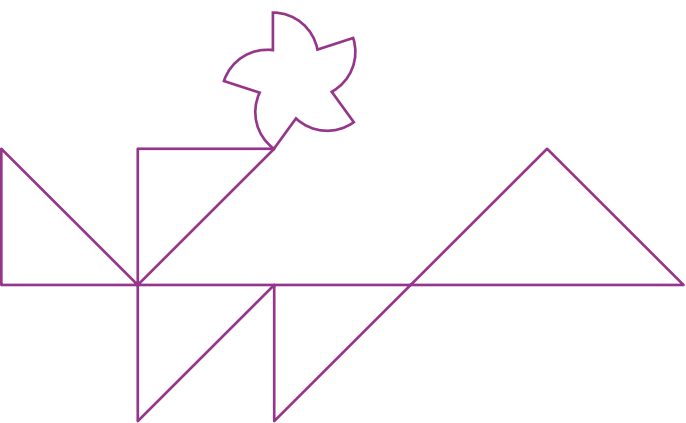
Giovanna Tiemi Goto Forniellles

Luanda Guimarães da Silva

Lucas Campacci

Esta obra é disponibilizada nos termos da Licença Creative Commons – Atribuição – Não Comercial – Compartilhamento pela mesma licença 4.0 Internacional. É permitida a reprodução parcial ou total desta obra, desde que citada a fonte.





Apresentação

Olá Prezado(a) Colega,

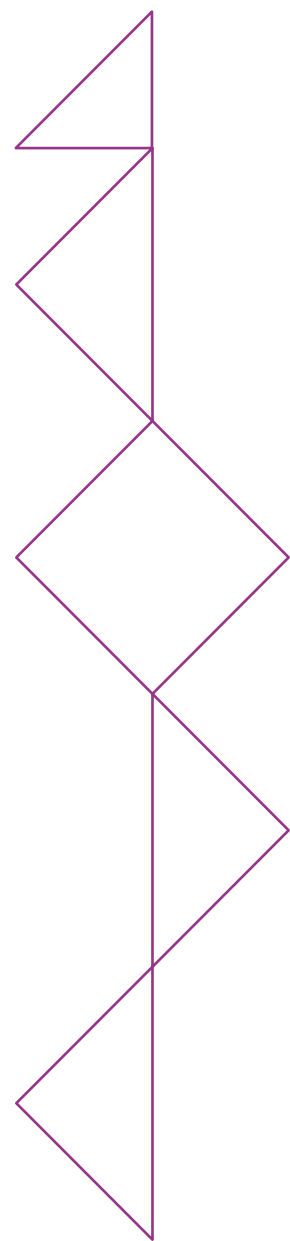
Nesta apostila vamos abordar as etapas essenciais do projeto, incluindo a definição de critérios para seleção de pacientes e familiares. Além disso, envolve a prática de procedimentos de coleta e registro de dados clínicos e epidemiológicos, bem como a compreensão dos processos para coleta, armazenamento e envio de material biológico. Também abrange a habilidade de elaborar heredogramas utilizando símbolos padronizados e o registro destes no sistema Progeny®.

Estas etapas fundamentais visam garantir o sucesso e a precisão na condução do projeto.

Agradecemos a oportunidade de compartilhar esses conceitos com vocês.

Bons estudos!

Equipe Mapa Genoma Brasil



Su má rio



Dicas

- O índice é interativo, permitindo que você seja direcionado para o tópico desejado com um clique.
- Além disso, ao clicar no logo do Mapa Genoma Brasil no topo, você retornará ao índice.

1 Como incluir participantes para o projeto 05

2 Aspectos éticos na condução de pesquisas em seres humanos 14

3 Procedimentos de coleta e registro de dados 21

4 Coleta, armazenamento e envio de amostras 31

5 Registro dos dados familiares e confecção dos heredogramas 38

Referências 46

1. Como incluir participantes para o projeto

Subprojeto 1 – Oncologia

Este projeto considerou três tumores para a abordagem: tumores de mama, próstata e colorretal.

A escolha se deve ao impacto destes tumores na incidência e mortalidade na população brasileira; à perspectiva de identificação de indivíduos de risco, com o estabelecimento de estratégias prevenção primária e secundária; e à existência de agregações familiares, sem a identificação de genes de alta ou moderada penetrância com a estratégia de sequenciamento de genes por nova geração (NGS), o que aponta para a necessidade da caracterização genômica com estratégias de sequenciamento completo do genoma

(WGS), o que aumentará a compreensão a respeito dos mecanismos moleculares desses tumores, com a perspectiva de tratamentos personalizados.

O câncer de mama é o tumor mais frequente na mulher no Brasil e no Mundo. As estimativas do Instituto Nacional do Câncer (INCA) (Figura 1) indicam o diagnóstico de 66.280 casos novos de câncer de mama, correspondendo a 29,7% dos tumores. Já nos homens, o tumor mais frequente é o câncer de próstata, com previsão de 65.840 casos novos em 2020, equivalendo a 29,2% dos tumores diagnosticados. O câncer de cólon e reto é o segundo tumor mais frequente nos homens, com 20.470 casos, e nas mulheres com 20.520 casos (INCA, 2020).

Localização Primária	Casos	%	Homens	Mulheres	Localização Primária	Casos	%
Próstata	65.840	29,2%			Mama feminina	66.280	29,2%
Cólon e reto	20.520	9,1%			Cólon e reto	20.470	9,2%
Traqueia, brônquio e pulmão	17.760	7,9%			Colo do útero	16.590	7,4%
Estômago	13.360	5,9%			Traqueia, brônquio e pulmão	12.440	5,6%
Cavidade oral	11.180	5,0%			Glândula tireoide	11.950	5,4%
Esôfago	8.690	3,9%			Estômago	7.870	3,5%
Bexiga	7.590	3,4%			Ovário	6.650	3,0%
Linfoma não Hodgkin	6.580	2,9%			Corpo do útero	6.540	2,9%
Laringe	6.470	2,9%			Linfoma não Hodgkin	5.450	2,4%
Leucemias	5.920	2,6%			Sistema nervoso central	5.220	2,3%

* Números arredondados para múltiplos de 10.

Fonte: <https://www.inca.gov.br/estimativa>

Figura 1 - Distribuição proporcional dos dez tipos de câncer mais incidentes estimados para 2020 por sexo, exceto pelo não melanoma. (INCA, 2020).

Além da morbidade, esses tumores causam mortalidade substancial. O tumor de mama é o primeiro em número de mortes nas mulheres totalizando 18.068 casos em 2019. Foram observadas 15.983 mortes por câncer de próstata, o que representa o segundo tumor em mortalidade entre os homens. Já o tumor de cólon e reto é o terceiro em maior número de mortes entre homens e mulheres, com 10.191 e 10.385 óbitos em 2019, respectivamente (INCA, 2021).

Ao observar morbidade e mortalidade significativas desses três tumores na população brasileira, estratégias para a redução do risco e diagnóstico precoce podem contribuir para o controle da doença, reduzindo assim o impacto físico, emocional e social dessas doenças para o indivíduo com câncer e sua família, assim como o impacto econômico para a sociedade.

No estabelecimento de estratégias de prevenção primária e diagnóstico precoce, podem ser utilizadas aquelas destinadas à população geral, além das direcionadas a grupos de alto risco para o desenvolvimento do câncer. Para a identificação de indivíduos de alto risco, é necessário o conhecimento dos fatores de risco. Para os tumores de mama, próstata e cólon, a história familiar é um dos mais importantes.

Dessa forma, a avaliação da história familiar deve ser parte integral da avaliação dos indivíduos. Os profissionais de saúde em todos os níveis de atuação devem desenvolver competência para a obtenção da história familiar de indivíduos e suas famílias. Ela é de fundamental importância para a seleção daqueles que possam se beneficiar com o encaminhamento para o serviço de avaliação de risco de câncer. Para a compreensão das correlações clínicas, a frequência das variantes genéticas, a relação entre questões biológicas e determinantes sociais, os efeitos da interação entre o genótipo e o fenótipo torna-se fundamental a organização de registros com informações clínicas e moleculares fidedignas.

Ainda que cerca de 20% a 35% dos tumores apresentem agregação familiar, cerca de 5% a 10% dos tumores são considerados hereditários, ou seja, foi identificada uma variante patogênica germinativa (Zelli et al 2020).

Segundo Zelli et al. (2020), os dados desses estudos sobre a predisposição ao câncer sugerem que a identificação de genes ou variantes podem caracterizar uma quantidade significativa da predisposição genética ao câncer.

População do Estudo

- **Casos índices:** homens ou mulheres com idade igual ou superior a 18 anos, não aparentados entre si, com diagnóstico atual de câncer de mama, próstata ou colorretal.
- **Familiares dos casos índices:** familiares de primeiro ou segundo grau (pais, irmãos, avós, tios ou sobrinhos) de ambos os sexos com idade igual ou superior a 18 anos. Após a construção e análise do heredograma, dois familiares serão convocados para a coleta de sangue.

Probandos

Critérios de Inclusão

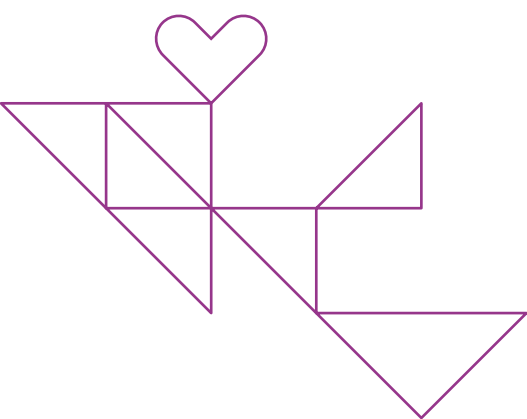
- **Câncer de mama:** Mulheres, com 18 anos ou mais, não aparentadas entre si, com diagnóstico de câncer de mama em programação para abordagem

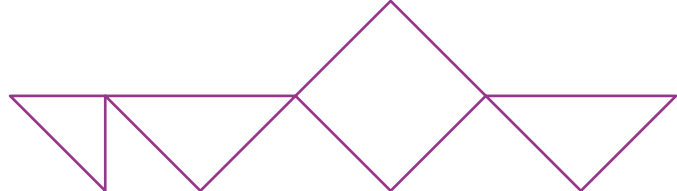
cirúrgica do tumor primário.

- **Câncer colorretal:** Homens ou mulheres, com 18 anos ou mais, não aparentados entre si, com diagnóstico de câncer colorretal em programação para abordagem cirúrgica do tumor primário.
- **Câncer de próstata:** Homens, com 18 anos ou mais, não aparentados entre si, com diagnóstico de câncer de próstata em programação para abordagem cirúrgica do tumor primário.

Critérios de exclusão

- Tratamento prévio do tumor atual em outra instituição.
- Tratamento neoadjuvante prévio a retirada da amostra tumoral.
- Impossibilidade de comparecimento de familiares de primeiro grau (dois) ao longo do período de coleta de dados do projeto.





Familiars dos Probandos

Crêterios de Inclusão

- Homem ou mulher, com 18 anos ou mais, familiares de primeiro (pais, irmãos ou filhos) ou de segundo grau (avós, tios ou sobrinhos) de um probando incluído no Subprojeto I do Projeto Mapa Genoma Brasil.
- Serão incluídos dois familiares por probando participante do Subprojeto I.

Fontes para identifica o de potenciais participantes

O centro coordenador realizar  reuniões para estabelecer a infraestrutura disponível no centro coparticipante e será definido o fluxo para a inclusão de pacientes, considerando as especificidades de cada institui o e respeitando a metodologia do projeto.

O enfermeiro do centro coparticipante receberá a indica o de um dos médicos da equipe que há na agenda um potencial participante para o projeto Mapa Genoma Brasil. O enfermeiro irá verificar os cr terios de inclusão e abordará o participante de acordo com o fluxo de atendimento da institui o (Quadro 1).

Responsável	Procedimentos
Enfermeiro ou médico do centro coparticipante	Identifica preenchimento do critério de inclusão Subprojeto I – Oncologia Projeto Mapa Genoma Brasil.
Enfermeiro do centro coparticipante	Envia e-mail aos enfermeiros do projeto PROADI da BP a programa�o de agendamentos de participantes potenciais para o projeto Mapa Genoma Brasil.
Enfermeiro de gestão de agendas	Solicita diariamente às enfermeiras dos centros coparticipantes relatório de agendamento de participantes potenciais para o projeto. Registra em planilha a programa�o dos agendamentos.
Enfermeiro ou médico do centro coparticipante	Convida o paciente para participar do projeto e orienta que o enfermeiro do centro coparticipante fará orienta�es mais detalhadas e entrevista para coleta de dados. Abordagem do paciente e aplica�o do TCLE.
Enfermeiro do centro coparticipante	Orienta potencial participante, e familiares (se presentes no momento da abordagem) sobre os objetivos e procedimentos do projeto. Aplica TCLE no probando, solicitando assinatura nas duas vias. Entrega uma via do TCLE ao probando. Verifica preenchimento dos cr�terios de inclusão dos familiares presentes � consulta. Aplica TCLE aos familiares que preencham o critério de inclusão e concordem em participar do projeto.

Quadro 1- Inclusão do Probando e Familiares – Subprojeto I (Oncologia) - Projeto Mapa Genoma Brasil.

Subprojeto II - Cardiopatias Genéticas

As doenças cardiovasculares representam 30% das mortes no Brasil e ainda são a maior causa de mortalidade mundial, mesmo com a redução destas taxas nas últimas duas décadas, principalmente nos países desenvolvidos. A genômica e a monitorização à distância de variáveis cardiovasculares serão importantes para o desenvolvimento de algoritmos mais robustos necessários à gestão de saúde populacional.

Os testes para as doenças cardiovasculares mendelianas são realizados de maneira reativa, quando o paciente está em clínica especializada. Não existem estratégias sistêmicas para rastrear ativamente os pacientes ou indivíduos com risco aumentado ou estratégias preventivas para as doenças cardiovasculares mais prevalentes e de natureza complexa, como a hipertensão arterial.

Cardiomiopatias

Uma grande porcentagem das cardiomiopatias é de origem genética e são transmitidas de forma hereditária, podendo a herança ser de forma dominante ou recessiva. Estima-se que a prevalência combinada das cardiomiopatias acometa cerca de 3% da população mundial (Cecci et al. 2012).

Uma das classificações mais usadas das cardiomiopatias leva em conta os fenótipos morfológicos e funcionais. Considerando esses aspectos, as cardiomiopatias se classificam ao menos nas seguintes classes: Cardiomiopatia Hipertrófica (HCM), Cardiomiopatia Dilatada (DMC), Cardiomiopatia Restritiva (RMC) e Cardiomiopatia Arritmogênica do Ventrículo Direito (ARVC). Adicionalmente, cada fenótipo é subclassificado com relação à herdabilidade da doença, se classificando em familiar e não familiar (Towbin et al. 2014).

A classificação das cardiomiopatias é de extrema importância na prática clínica. Identificar a cardiomiopatia como familiar ou não familiar torna possível a conscientização do paciente sobre a etiologia da sua doença. Além disso, a elucidação da causa específica da doença, que pode ser uma mutação de um gene, influenciar diretamente no manejo dos pacientes e de seus familiares.

Arritmias

Arritmias hereditárias são uma causa importante de morte súbita, especialmente em crianças e jovens. Esta denominação caracteriza um conjunto de doenças, muitas das quais já tem sua causa genética bem estabelecida. Como a primeira manifestação clínica pode ser a morte súbita, o diagnóstico genético, a correta estratificação de risco e o rastreamento familiar são os pilares do manejo médico.

As doenças quase sempre estão relacionadas a defeitos nos canais iônicos (canalopatias) ou a cardiopatias estruturais congênitas (miocardiopatia hipertrófica, cardiomiopatia dilatada idiopática e cardiopatia arritmogênica do ventrículo direito). Um desequilíbrio das correntes iônicas, gerado a partir de defeitos genéticos, intervenções farmacológicas ou anormalidades cardíacas estruturais, pode resultar em vários fenótipos arritmogênicos, levando a arritmias cardíacas de complexidade variável, incluindo morte súbita (Bagnall et al, 2016).

As principais canalopatias são a síndrome

do QT longo (SQTL), a síndrome de Brugada (SBr), a Taquicardia Ventricular Polimórfica catecolaminérgica (TVPC), respectivamente 1 a cada 2.500 pessoas, 1-5 a cada 10.000 e 1:10.000 que causam MSC em pacientes jovens com coração estruturalmente normal (Schwartz et al, 2009).

Dislipidemias

A Hipercolesterolemia Familiar (HF) é a dislipidemia mais frequente, descrita como doença de herança autossômica dominante caracterizada por elevação do colesterol total e do LDL-colesterol (LDL-c), causada por mutações no gene que codifica o receptor da LDL ou nos genes codificadores da Apo B e da proteína convertase subtilisina/kexina 9 (PCSK9).

Trata-se da primeira doença genética do metabolismo lipídico a ser caracterizada clinicamente e molecularmente (Steinberg, 2005).

Aortopatias e Doença do Tecido Conjuntivo

O aneurisma de aorta é uma dilatação irreversível do seu calibre, que excede uma vez e meia o diâmetro normal para idade e peso do indivíduo. Trata-se de um quadro assintomático, silencioso até a dissecação e ruptura do vaso, associada a uma taxa de mortalidade > 80% (Bonser e cols., 2011). A patologia está associada a fatores de estilo de vida, como tabagismo e níveis elevados de colesterol.

Um desafio importante no manejo desses pacientes é a determinação do momento da intervenção cirúrgica. O tratamento clínico visa prevenir o crescimento do aneurisma e suas complicações por meio de medicamentos que controlam a pressão arterial, a frequência cardíaca e o perfil lipídico; e quando for o caso, a suspensão do tabagismo. O procedimento cirúrgico é indicado quando seu risco for menor que o risco de ruptura, que é determinado basicamente pelo diâmetro da aorta (Erbel R et al., 2014).

A classificação dos aneurismas se dá de acordo com a localização anatômica, sendo aneurisma de aorta torácica (AAT) quando ocorre nas porções ascendentes, arco e descendente; e aneurisma de aorta abdominal (AAA) quando na porção abaixo do diafragma (Isselbacher EM, 2005).

Os AAT podem ser classificados em síndrômicos (AATs) ou isolados (AATi).

Os AATs têm alto componente hereditário e faz parte de espectros patológicos de doenças genética síndrômicas, tais como as síndromes de Marfan, Loeys-Dietz e Ehlers-Danlos. Enquanto a herdabilidade dos AATs é bem conhecida,

o padrão de transmissão dos AATi familiar não está bem estabelecido.

Tem se tornado cada vez mais evidente que AAT tem características de doença familiar (Francke et al., 1995; Biddinger et al., 1997; Vaughan et al., 2001; Hasham et al., 2004), sendo que mais de 20% dos pacientes com AATi possuem pelo menos um membro familiar de 1º grau com aneurisma. O modo de herança é predominantemente autossômico dominante com diferentes graus de penetrância e expressividade. É importante citar a existência de padrão recessivo também descrito para AAT.

Cardiopatias Congênitas

A cardiopatia congênita corresponde à anomalia congênita mais comum ao nascimento (Hoffman et al, 2002, Wren et al, 2012), acometendo até 3% dos neonatos em estudos que incluem valva aórtica bicúspide (Towbin et al, 2006, Tutar et al, 2005). Apesar dos avanços no tratamento clínico e cirúrgico, elas permanecem com grande impacto na morbimortalidade mundial, principalmente as complexas e as que acometem as câmaras esquerdas. Nesse sentido, têm sido realizados diversos esforços para elucidação da causa etiológica destas doenças. O desenvolvimento da genética vem tendo grande impacto na determinação da etiologia das cardiopatias congênitas isoladas como também das síndromes genéticas (Pierpont et al, 2018, Agergaard et al, 2012, Hitz et al, 2012), fornecendo ferramentas importantes de screening para a prática clínica atual.

RASopatias

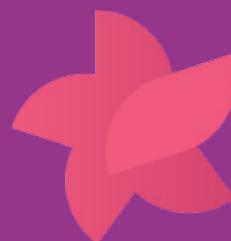
As RASopatias são uma classe de distúrbios do desenvolvimento causados por variantes genéticas patogênicas germinativas em genes que codificam componentes ou reguladores da via Ras/MAPK. A via Ras/MAPK é uma das vias de transdução de sinal mais bem estudadas e é crítica na regulação do ciclo celular e do crescimento celular, diferenciação e senescência.

Apesar de cada RASopatia exibir um fenótipo bem característico, devido a mecanismos de sinalização em comum – a desregulação da via Ras/MAPK –, essas síndromes compartilham muitas características em comum como dismorfia craniofacial; anormalidades cardíacas como cardiomiopatia hipertrófica, defeitos de septo, arritmia e estenose pulmonar valvar; anomalias cutâneas, musculoesqueléticas e oculares; comprometimento neurocognitivo; hipotonia; e um risco aumentado de câncer. Juntas, essas síndromes afetam aproximadamente 1 em 1.000 indivíduos, sendo a Síndrome de Noonan a mais frequente (Romano et al. 2021). Apesar da complexidade destes quadros, o diagnóstico molecular é importante para o manejo dos casos, considerando a grande sobreposição de fenótipos com outras doenças.

Para saber mais

Genética e genômica na cardiopatia congênita: uma revisão clínica. J. Saliba et al. *Pediatr. (Rio J.)* 96 (3) - May-Jun 2020

<https://doi.org/10.1016/j.jped.2019.07.004>



População do Estudo e Critérios de Inclusão

A população será composta por 2200 indivíduos com diagnóstico clínico de uma das seguintes doenças: cardiomiopatias, arritmias, dislipidemias, aortopatias, cardiopatias congênitas e RASopatias e 3000 familiares de pacientes.

Critérios de inclusão - Caso índice

- Diagnóstico clínico de uma das patologias acima (verificar critérios específicos nos folders disponíveis nos conteúdos complementares);
- Qualquer idade.

Critérios de inclusão – Familiar

- Caso índice associado com presença de alteração patogênica, possivelmente patogênica ou variante de significado incerto (quando associada ao quadro clínico);
- Qualquer idade.

2. Aspectos éticos na condução de pesquisas em seres humanos

Aplicação do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE) e Termo de Assentimento Livre e Esclarecido (TALE)

Primeiramente, antes de aplicar o TCLE, verifique se está de posse documento correto; as versões dos TCLEs e TALEs podem ser observadas abaixo e na Figura 2.

Caso-índice

- TCLE – maiores de 18 anos: deve ser assinado por participantes casos-índices legalmente capazes e alfabetizados com idade superior a 18 anos.
- TCLE – responsável legal: deve ser assinado pelos pais ou responsáveis legais de participantes casos-índices menores de 18 anos e/ou de participantes casos-índices legalmente incapazes.
- TALE – 12 a 17 anos: deve ser assinado por participantes casos-índices com idade entre 6 e 11 anos que sejam alfabetizados. A assinatura desse termo não anula a obrigatoriedade da assinatura do TCLE – responsável legal.
- TALE – 6 a 11 anos: deve ser assinado por participantes com idade entre 6 e 11 anos que sejam alfabetizados. A assinatura desse termo não anula a obrigatoriedade da assinatura do TCLE – responsável legal. Esta versão do documento é a mesma para caso-índice e familiar.

Familiares

- TCLE – familiar maior de 18 anos: deve ser assinado por participantes familiares legalmente capazes e alfabetizados com idade superior a 18 anos.
- TCLE – responsável legal: deve ser assinado pelos pais ou responsáveis legais de participantes familiares menores de 18 anos e/ ou de participantes familiares legalmente incapazes.
- TALE – 12 a 17 anos: deve ser assinado por participantes familiares com idade entre 6 e 11 anos que sejam alfabetizados. A assinatura desse termo não anula a obrigatoriedade da assinatura do TCLE – responsável legal.

Este documento deve ser impresso em duas vias, frente e verso.

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO (TCLE)
Maiores de 18 ANOS

TÍTULO DO ESTUDO: Saúde de precisão: correlação entre perfil genômico, epidemiológico, clínico e familiar em doenças cardiovasculares.

CENTRO COORDENADOR: Hospital BP - A Beneficência Portuguesa de São Paulo (BP)

PESQUISADOR RESPONSÁVEL: Prof. Dr. Jose Eduardo Krieger

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO (TCLE)
Responsável legal

TÍTULO DO ESTUDO: Saúde de precisão: correlação entre perfil genômico, epidemiológico, clínico e familiar em doenças cardiovasculares.

CENTRO COORDENADOR: Hospital BP - A Beneficência Portuguesa de São Paulo (BP)

PESQUISADOR RESPONSÁVEL: Prof. Dr. Jose Eduardo Krieger

TERMO DE ASSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO (TALE)
12 a 17 anos

TÍTULO DO ESTUDO: Saúde de precisão: correlação entre perfil genômico, epidemiológico, clínico e familiar em doenças cardiovasculares.

CENTRO COORDENADOR: Hospital BP - A Beneficência Portuguesa de São Paulo (BP)

PESQUISADOR RESPONSÁVEL: Prof. Dr. Jose Eduardo Krieger

TERMO DE ASSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO (TALE)
6 a 11 anos

TÍTULO DO ESTUDO: Saúde de precisão: correlação entre perfil genômico, epidemiológico, clínico e familiar em doenças cardiovasculares.

CENTRO COORDENADOR: Hospital BP - A Beneficência Portuguesa de São Paulo (BP)

PESQUISADOR RESPONSÁVEL: Prof. Dr. Jose Eduardo Krieger

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO (TCLE)
Familiar maior de 18 anos

TÍTULO DO ESTUDO: Saúde de precisão: correlação entre perfil genômico, epidemiológico, clínico e familiar em doenças cardiovasculares.

CENTRO COORDENADOR: Hospital BP - A Beneficência Portuguesa de São Paulo (BP)

PESQUISADOR RESPONSÁVEL: Prof. Dr. Jose Eduardo Krieger

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO (TCLE)
Familiar responsável legal

TÍTULO DO ESTUDO: Saúde de precisão: correlação entre perfil genômico, epidemiológico, clínico e familiar em doenças cardiovasculares.

CENTRO COORDENADOR: Hospital BP - A Beneficência Portuguesa de São Paulo (BP)

PESQUISADOR RESPONSÁVEL: Prof. Dr. Jose Eduardo Krieger

TERMO DE ASSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO (TALE)
Familiar 12 a 17 anos

TÍTULO DO ESTUDO: Saúde de precisão: correlação entre perfil genômico, epidemiológico, clínico e familiar em doenças cardiovasculares.

CENTRO COORDENADOR: Hospital BP - A Beneficência Portuguesa de São Paulo (BP)

PESQUISADOR RESPONSÁVEL: Prof. Dr. Jose Eduardo Krieger

Figura 2 - TCLEs e TALEs do Subprojeto II – Cardiopatias Genéticas.

Para a aplicação do termo, garanta um ambiente tranquilo e privacidade para a conversa. A explicação deve ser pautada em um convite para participar do projeto. Você pode dar seu estilo ao processo, mas é preciso que todas as etapas sejam cumpridas: diga o nome do projeto e pesquisador responsável; explique que trata-se de estudo multicêntrico, cujo coordenador é o Hospital BP; dê detalhes sobre os objetivos e finalidades do estudo; certifique-se que deixou claro que a participação do caso-índice e/ou familiares é totalmente voluntária; descreva os procedimentos do estudo acerca da coleta de sangue e/ou de saliva; descreva também sobre os formulários que serão preenchidos e sobre as informações coletadas; explique os riscos aos quais o sujeito de pesquisa poderá estar submetido, incluindo perda da confidencialidade dos dados – aproveite o momento para explicar todos os procedimentos que garantem redução do risco e anonimização dos dados.

Tenha certeza que antes das assinaturas, você deixou claro sobre os benefícios do estudo, liberdade de recusa ou saída do estudo posteriormente, custos/remuneração, destino dos materiais biológicos, garantias de sigilos de dados, tempo de armazenamento de amostras, contatos para esclarecimento de dúvidas posteriores. Após sua explicação, dê tempo hábil para que o participante ou familiar possam ler com calma o termo de consentimento e possam perguntar sobre dúvidas ou termos que não ficaram claros durante sua explicação ou durante a leitura.

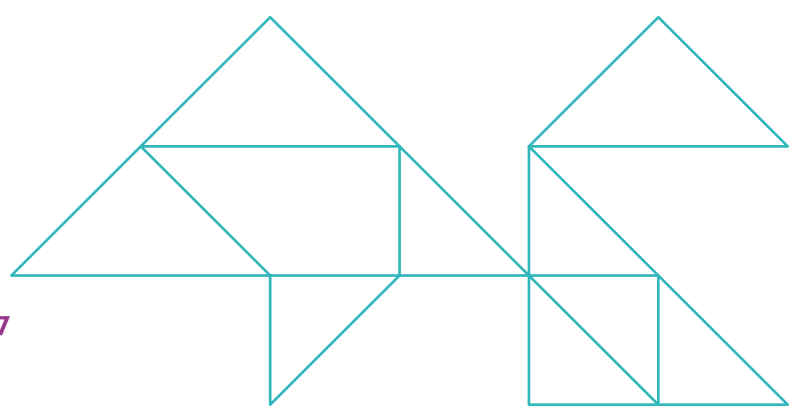
Outro ponto importante que deve ser esclarecido ao participante durante a

obtenção do consentimento se refere aos achados incidentais que poderão ser encontrados durante a análise do teste genético. Achados incidentais ou secundários são informações genéticas de significado clínico obtidas em sequenciamentos de exoma e/ou genoma que não estão diretamente relacionadas ao propósito inicial do exame; no nosso caso, são alterações genéticas não relacionadas a doenças cardiovasculares.

Achados incidentais apenas serão reportados caso estejam presentes entre a lista de recomendações de achados incidentais publicado pela ACMG (American College of Medical Genetics) (Kalia et al., 2017) e seguindo as recomendações da resolução do Conselho Nacional de Saúde nº 340, de 8 de Julho de 2004.

O responsável pelo atendimento deverá informar o participante da possibilidade de serem encontradas variantes genéticas não associadas a sua doença primária e deverá ser escolha do participante do estudo fazer ou não o teste havendo ciência dessa possibilidade.

Caso o participante decida participar do estudo, ele deve assinalar a sua escolha de ser informado e notificado sobre os achados incidentais encontrados durante a análise do seu genoma/exoma no campo destinado para esse fim (Figura 3).



Você gostaria de ser notificado e receber um laudo com as informações de achados incidentais, caso esses sejam encontrados durante seu teste genético?

Sim () Não ()

Figura 3 - Achados incidentais.

O termo de consentimento e/ou assentimento dos familiares não tem o questionamento quanto aos achados incidentais, pois o teste genético realizado será somente de mutação pontual que foi previamente identificada no caso-índice relacionado. O termo de assentimento para crianças com idade entre 6 e 11 anos foi elaborado com linguagem simples e lúdica para possibilitar a criança compreender sua participação no estudo.

Dessa forma, foi incluída uma representação gráfica para que a criança indique seu desejo de participar da pesquisa, que pode ser vista na figura 4.

Você aceita participar dessa pesquisa?
Assinale sua resposta.

Sim () Não ()

Figura 4 - Aceite da pesquisa no termo de assentimento para crianças de 6 a 11 anos.

Todas as páginas devem ser rubricadas frente e verso por todos os envolvidos na assinatura do TCLE: participante ou seu responsável legal, responsável pela obtenção do consentimento e testemunha.

Na última página (Figura 5), você verá os campos apropriados para assinatura dos envolvidos: o nome deve ser escrito por extenso, data em formato DD/MM/AA ou AAAA e Assinatura. Atenção para que cada indivíduo assine no local adequado.

Nome por extenso do participante de pesquisa ou representante legal	
Data	Assinatura
Nome por extenso do responsável que explicou e obteve o Termo de Consentimento	
Data	Assinatura
Nome por extenso da testemunha imparcial (para casos de analfabetos, semi-analfabetos ou portadores de deficiência auditiva ou visual)	
Data	Assinatura

Figura 5 – Campo de assinaturas e data

Atenção

O TCLE precisa ser rubricado e assinado por todos no mesmo momento da aplicação do termo; caso o paciente queira levar o termo para casa para leitura e discussão com outros familiares, permita, mas garanta que a assinatura será realizada em sua presença em momento combinado. Não pode haver rasuras ou uso de canetas de cores diferentes. Todos os envolvidos assinam ambas as vias – não se esqueça de entregar uma via ao sujeito de pesquisa e guardar outra cópia consigo.

Participantes com idade entre 6 e 17 anos devem assinar o termo de assentimento específico para sua faixa etária e um de seus pais ou responsáveis deve assinar o termo de consentimento para responsável legal. Caso o participante seja menor de 6 anos ou que não seja alfabetizado, os pais ou responsáveis devem assinar somente o termo de consentimento para responsável legal.

Em caso de participantes analfabetos, semi-analfabetos ou deficientes visuais, deve ser aplicado o termo de consentimento de acordo com a faixa etária e uma testemunha imparcial deve estar presente para realizar a assinatura do termo no local específico para este fim.



Na figura 6 podemos ver o fluxo geral de inclusão no Subprojeto II – Cardiogenética.

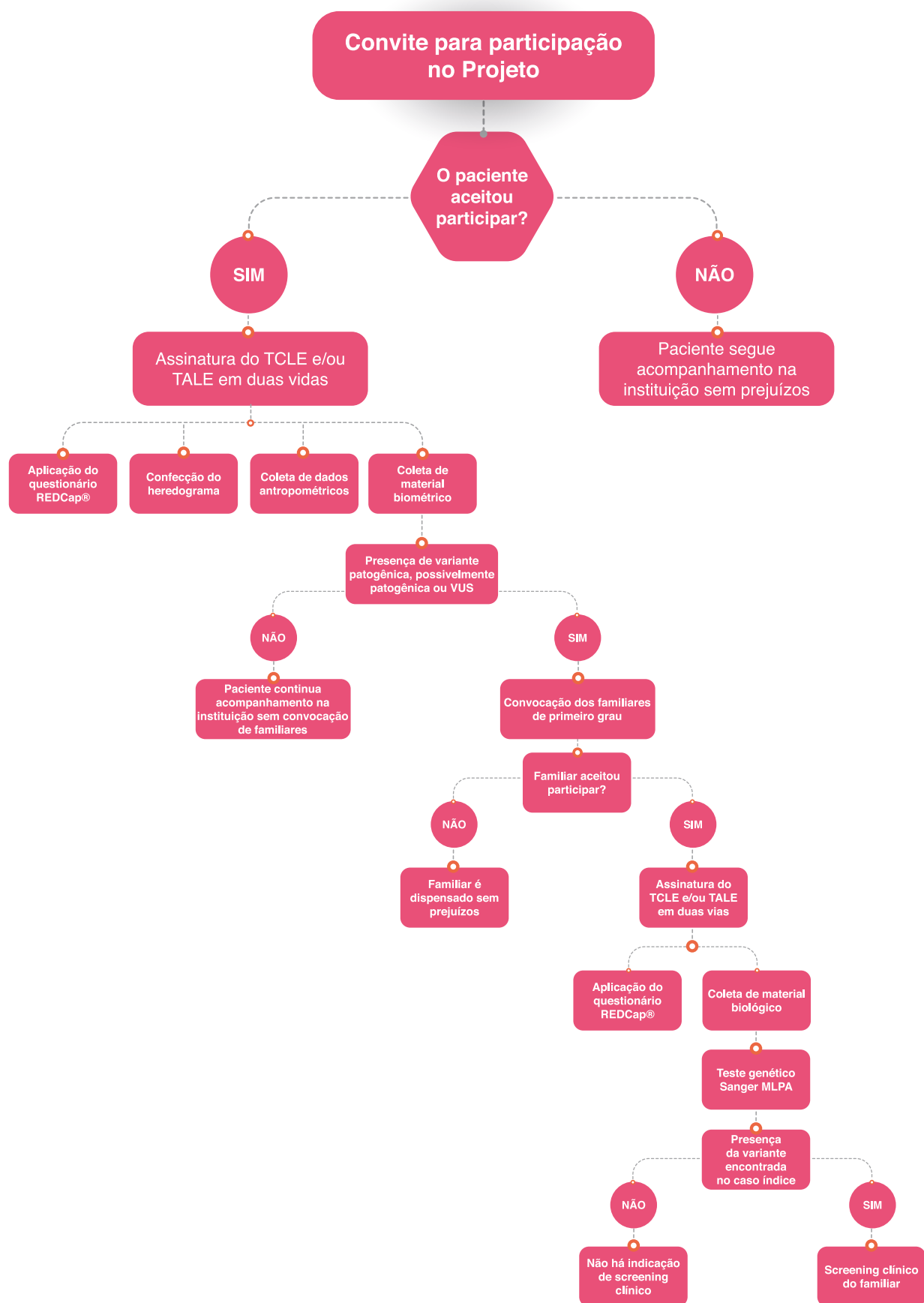
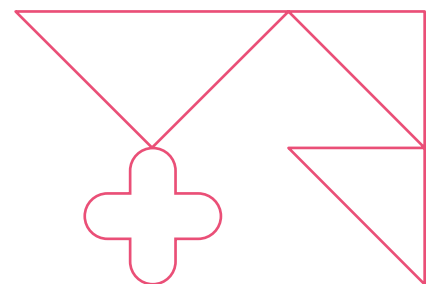


Figura 6 – Fluxo geral de inclusão no Subprojeto II – Cardiogenética.

3. Procedimentos de coleta e registro de dados



Após a aplicação e assinatura do termo de consentimento livre e esclarecido, a equipe do projeto deverá coletar dados epidemiológicos, clínicos e familiares.

A coleta de dados e a inserção de dados em plataforma REDCap® são processos sistemáticos e contínuos. A coleta de dados é composta por entrevista e análise de prontuários e é realizada ao longo do projeto em diferentes momentos, incluindo visitas presenciais dos probandos e familiares e momentos de preenchimento de dados a partir de documentos e prontuário médico.

A equipe do projeto deve se comportar de maneira imparcial e explicar ao participante a importância de responder aos questionários e perguntas de maneira verdadeira, ressaltando que o conteúdo da resposta em nada interfere na relação indivíduo-pesquisador-centro de tratamento. Deve-se explicar também o conteúdo da entrevista e a estimativa de tempo que ela irá durar. Importante verificar a disponibilidade de tempo do participante para o preenchimento adequado.

Se necessário, orientá-lo que a entrar em contato posteriormente para passar alguma informação adicional que não tenha se lembrado no momento da entrevista.

Como obter os dados epidemiológicos?

Os dados epidemiológicos são obtidos a partir da entrevista com o participante (caso-índice e familiares). Os dados epidemiológicos estão relacionados à fatores de risco para desenvolvimento de câncer. Foi elaborada uma ficha que está disponibilizada no REDCap® (apresentado à diante).

Como obter os dados clínicos?

Os dados clínicos deverão ser obtidos a partir da análise no prontuário do paciente. Foi elaborada uma ficha de coleta de dados exclusiva para o projeto, e a mesma foi transformada em um banco de dados no REDCap®, local onde devem ser registradas as informações. O REDCap® (Research Electronic Data Capture) é um sistema criado em 2004 por pesquisadores da Vanderbilt University (Tennessee, Estados Unidos). Conta com o suporte financeiro do National Institute of Health (NIH), e tem apoio técnico-científico do REDCap Consortium, constituído por mais de 2.600 instituições em mais de 117 países nos 6 continentes. A estrutura e funções do REDCap® independe do subprojeto. As variáveis e fichas dos subprojetos são diferentes, no entanto, as regras para o preenchimento são padronizadas.

No Brasil, foi introduzido em 2011, através da Faculdade de Medicina da USP. Hoje, o Consórcio REDCap Brasil é a entidade responsável no país pela representação oficial da ferramenta junto a mais de 100 renomadas instituições.

O software REDCap® é livre, por isso não há custos de aquisição ou de atualizações. É uma plataforma digital com uso amigável, a partir de um computador, de um tablet ou até mesmo de um smartphone. Funciona em modos online e offline (REDCap® Mobile App). Possui ferramentas que permitem o gerenciamento dinâmico

de dados, reduzindo drasticamente os principais problemas de qualidade; também permite a importação e exportação de dados, a construção de relatórios reprodutíveis e a transferência de dados para os principais softwares de análises estatísticas, garantindo o máximo de precisão, segurança e rapidez na obtenção de informações confiáveis.

Para acessar o banco de dados do Subprojeto II, você deve acessar o endereço eletrônico: <https://redcap.hc.fm.usp.br> (Figura 7).

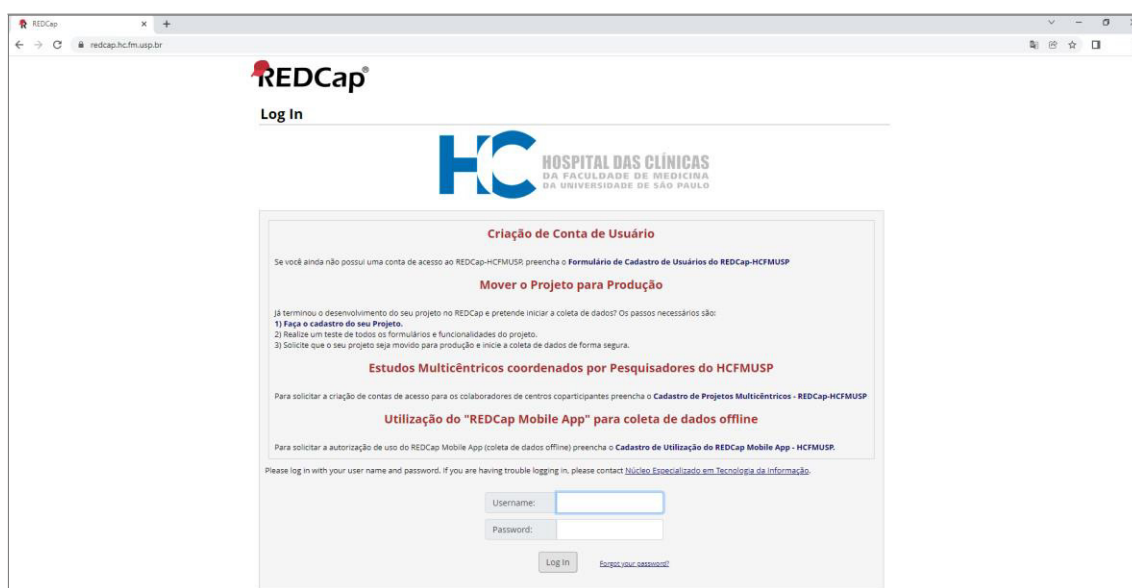


Figura 7 - Acesso ao ambiente REDCap - HCFMUSP.

Lá, insira o nome de usuário (username) e senha fornecidos pelo Centro Participante InCor. Na tela My Projects, acesse o projeto 17540 – PROADI SUS Subprojeto Mapa Genoma Brasil – Banco de dados REDCap®: Saúde de Precisão – Correlação entre perfil genômico, epidemiológico, clínico e familiar em câncer (Figura 8).

PROADI-SUS - Subprojeto Cardiogenética - Mapa Genoma Brasil - Saúde de precisão: correlação entre perfil genômico, epidemiológico, clínico e familiar em doenças cardiovasculares	0	621	26 forms		
---	---	-----	----------	--	--

Figura 8. Visualização do projeto no REDCAP - HCFMUSP

Os participantes incluídos pelo centro de pesquisa deverão ter seus dados anonimizados através da codificação da identificação pessoal dos mesmos. Essa codificação será composta por uma sigla que representa o projeto (CMG) + a sigla que identifica o centro (ex.: Hospital Beneficência Portuguesa: sigla BP) seguidas de um número sequencial a partir do número 1. Dessa forma, seguindo o exemplo, o primeiro participante incluído pelo Hospital Beneficência Portuguesa será identificado como CMGBP 1 e assim por diante. Esse código de identificação deve ser inserido na plataforma REDCap para inclusão dos dados na ficha clínica do participante. O mesmo código deve estar identificando a pasta do participante no projeto, onde serão arquivados o TCLE assinado e demais documentos fonte.

Para adicionar um caso-índice, acesse “add/edit records”, em “Enter a new or existing REDCap ID” verifique se o “Arm 1: Caso índice” está selecionado e digite no campo a frente o ID do participante no projeto (figura 9). Para adicionar um familiar, escolha a opção “Arm 2: Familiares” e digite no campo a frente o ID do familiar.

Figura 9 - Etapa de inclusão de participantes.

A próxima tela (Figura 10) mostrará todos os formulários disponíveis para preenchimento. Os formulários "Sociodemográfico e antropométrico", "Histórico familiar", "Diagnóstico clínico", "ECO" e "ECG" são obrigatórios para todos os casos-índices; os demais formulários são de preenchimento opcional. Para os familiares somente os formulários "Sociodemográfico e antropométrico" e "Diagnóstico clínico" são obrigatórios. Quanto mais informações clínicas tivermos dos participantes melhor será para a elucidação do caso o que auxiliará na elaboração do relatório médico com o resultado do teste genético. O formulário "Variantes" será preenchido pela equipe do Centro Participante InCor com os dados obtidos no teste genético realizado.

NEW REDCap ID: teste
Arm 1: Casos indices

Data Collection Instrument	Inclusao	Exames complementares	Procedimentos	Teste Genetico	Desfecho
Sociodemografico e antropometrico	☐				
Historico familiar	☐				
Diagnostico clinico	☐				
Exames Laboratoriais	☐				
Medicamentos	☐				
ECO		☐			
ECG		☐			
Angiotomografia		☐			
Cateterismo		☐			
Cintilografia		☐			
Teste Estresse		☐			
Holter		☐			
RMC		☐			
Ablacao			☐		
Cirurgia Aorta			☐		
Cirurgia Valvar			☐		
Cirurgia Congenita			☐		
Marcapasso			☐		
Angioplastia e Revasc			☐		
Tx e Biopsia			☐		
Miectomia			☐		
Cirurgia de varizes			☐		
Variantes				☐	
Relatorio Medico				☐	
Internacao					☐
Desfecho					☐

Figura 10 - Formulários do projeto.

No formulário “Sociodemográfico e antropométrico” há um campo específico para o upload do TCLE ou TALE assinado. Para isso, acesse “Upload file” para enviar os arquivos correspondentes; acesse “escolher arquivo” e localize o arquivo, clique em “Upload file” para finalizar o processo (Figura 11).

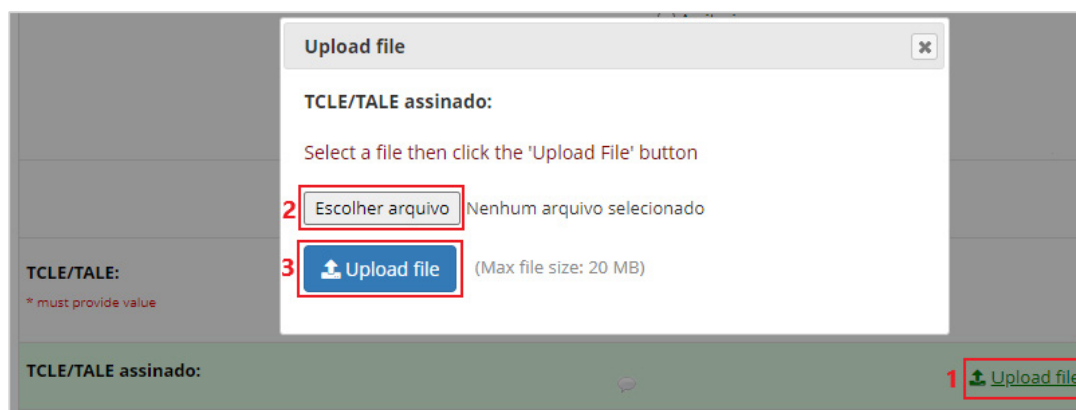


Figura 11 - Procedimento para upload do TCLE/TALE assinado.

Ao finalizar o preenchimento de um formulário, caso o mesmo esteja completo, selecione a opção “complete” e após clique em “Save and Go To Next Form” para ir para o próximo formulário. Caso não seja possível preencher todas as informações do formulário naquele momento, selecione a opção “Incomplete” antes de salvar e seguir para o próximo formulário (Figura 12). O REDCap® não permitirá que você siga para o próximo formulário sem preencher itens obrigatórios (sinalizados com a mensagem “* must provide value” em vermelho).

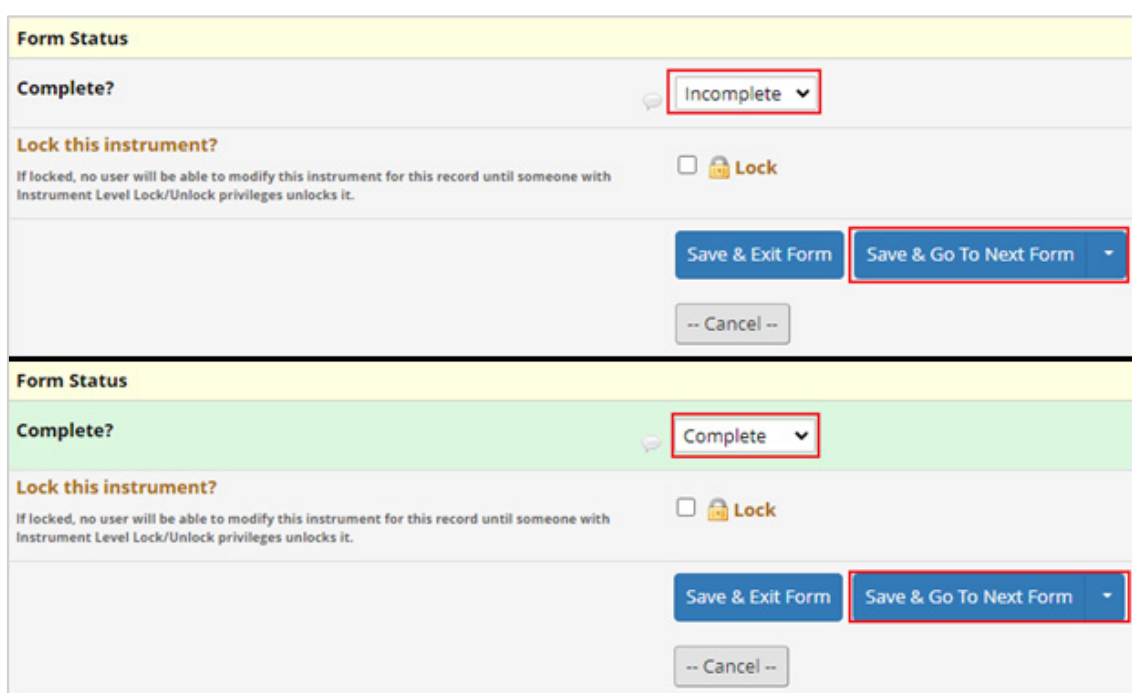


Figura 12 - Procedimento para salvar um formulário.

Para verificar as fichas preenchidas, acesse "Record Status Dashboard" que mostrará os registros do seu centro e o estado atual de preenchimento através de círculos coloridos (Figura 13):

- círculo vermelho: formulário incompleto
- círculo verde: formulário completo
- círculo amarelo: formulário pendente de verificação
- círculo cinza: formulário vazio/não preenchido

Nessa tela, você poderá navegar entre os dois braços do projeto (Braço 1: casos-índices e Braço 2: familiares) para verificar os participantes incluídos.

PROADI-SUS - Subprojeto Cardiogenética - Mapa Genoma Brasil - Saúde de precisão: correlação entre perfil genômico, epidemiológico, clínico e familiar em doenças cardiovasculares PID 7788

Record Status Dashboard (all records)

Displayed below is a table listing all existing records/responses and their status for every data collection instrument (and if longitudinal, for every event). You may click any of the colored buttons in the table to open a new tab/window in your browser to view that record on that particular data collection instrument. Please note that if your form-level user privileges are restricted for certain data collection instruments, you will only be able to view those instruments, and if you belong to a Data Access Group, you will only be able to view records that belong to your group.

Legend for status icons:

- Incomplete
- Incomplete (no data saved) ?
- Unverified
- Complete
- Many statuses (all same)
- Many statuses (mixed)

Dashboard displayed: [Default dashboard] Create custom dashboard

Displaying Data Access Group: -- ALL --

Displaying record: Page 1 of 1: "CMG 1045" through "CMG 950" of 36 records ALL (36) records per page

Enter new record name for this arm: Create

Displaying: Instrument status only | [Lock status only](#) | [All status types](#)

Arm 1: Casos índices **Arm 2: Familiares**

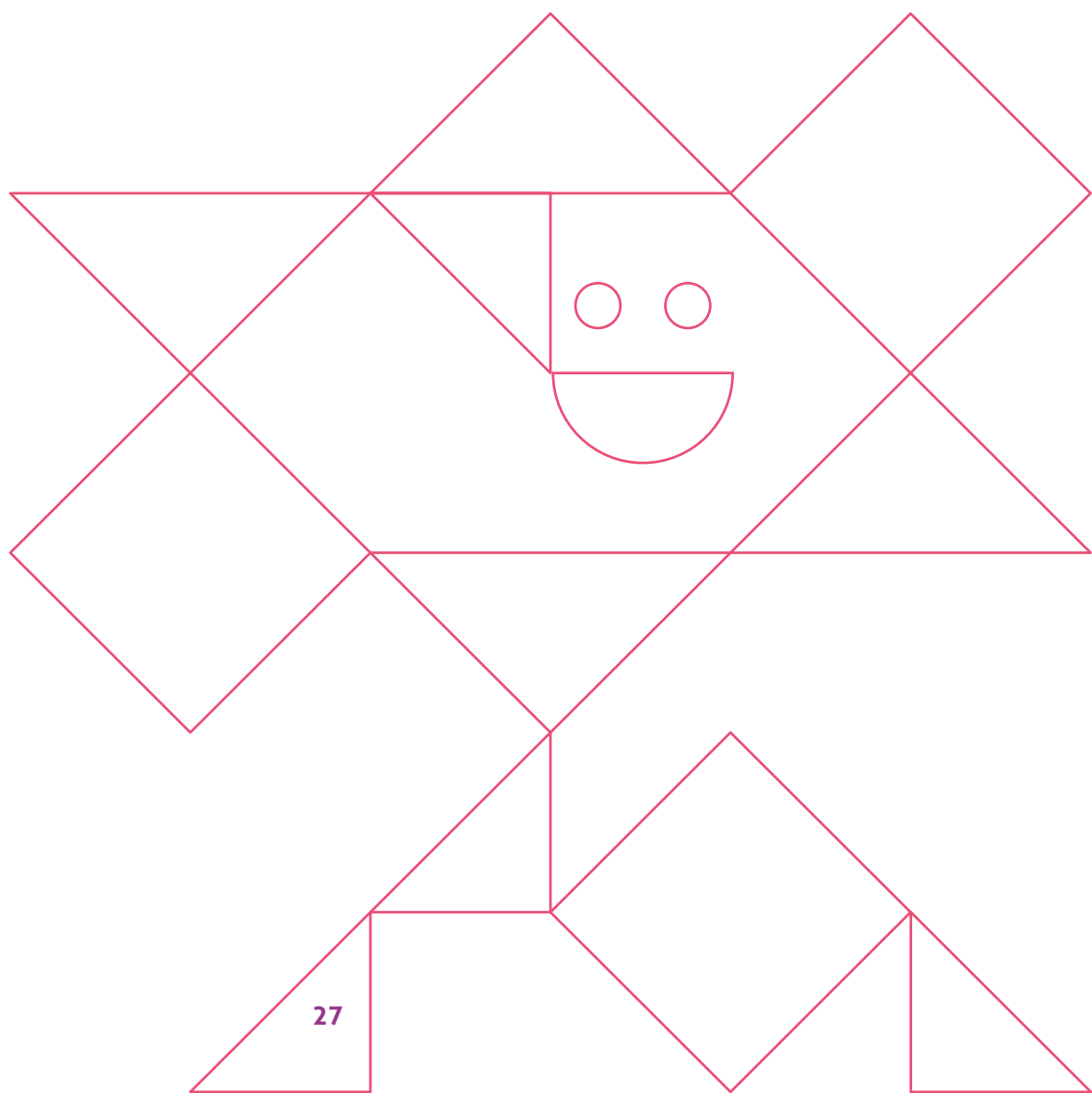
REDCap ID:	Inclusao				Exames complementares							
	Sociodemografico e antropometrico	Diagnostico clinico	Exames Laboratoriais	Medicamentos	ECO	ECG	Angiotomografia	Cateterismo	Cintilografia	Teste Estresse	Holter	RMC
CMG 267	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●

Figura 13 - Painel 'dashboard' para visualização das fichas incluídas.

Os formulários para inclusão de dados de exames e procedimentos são repetíveis, ou seja, é possível preencher mais de um formulário para cada paciente. Para incluir um novo registro de um mesmo formulário, clique no sinal “+” localizado ao lado do círculo de status do formulário na tela “Record Status Dashboard” (figura 14).

Exames complementares								Procedimentos									
ECO	ECG	Angiotomografia	Cateterismo	Cintilografia	Teste Estresse	Holter	RMC	Ablacao	Cirurgia Aorta	Cirurgia Valvar	Cirurgia Congenita	Marcapasso	Angioplastia e Revasc	Tx e Biopsia	Miectomia	Cirurgia de varizes	

Figura 14 - Formulários repetíveis.



Formulários do Subprojeto II - Cardiogenética

Os formulários REDCap® foram organizados para facilitar a coleta de dados e posterior análise. Estão divididos em:

Sociodemográfico e antropométrico

REDCap ID;

DNA;

Data da inclusão;

Grupo da patologia;

Tipo (Caso-índice ou Familiar);

TCLE/TALE;

Upload do TCLE/TALE assinado;

Material coletado;

Local da coleta;

Data de envio da amostra para Fleury;

Foi necessária recoleta;

Motivo para recoleta;

Data da recoleta;

Nome do paciente;

Matrícula;

Data de nascimento;

Sexo ao nascimento;

Cor/raça autodeclarada (segundo o IBGE);

Estado civil;

Grau de escolaridade;

Estado empregatício;

Estado de nascimento;

Cidade de nascimento;

Telefone do paciente;

Telefone recado;

E-mail;

Estado de moradia;

Cidade de moradia;

Peso;

Altura;

IMC;

Cintura;

Quadril;

PA sistólica;

PA diastólica;

Frequência cardíaca.

Histórico familiar

História de cardiopatia na família?;

Grau de parentesco;

Idade do familiar;

Diagnóstico;

História de morte súbita na família;

Grau de parentesco;

Idade do óbito do familiar;

História familiar de abortamento, óbito fetal ou óbito na infância;

Grau de parentesco;

Causa relatada do óbito;

Consanguinidade na família (ascendentes);

Grau de parentesco com o paciente;

Grau de parentesco entre eles;

Upload heredograma.

Diagnóstico clínico

Prática de exercício físico;
 Nível do exercício;
 Frequência da prática de exercícios;
 Tabagismo;
 Tabagismo maços-ano;
 Etilismo
 Frequência e quantidade de consumo;
 Data do diagnóstico;
 Idade do diagnóstico;
 NYHA;
 Diagnóstico primário;
 Diagnóstico secundário;
 Foi feita avaliação pelo médico geneticista?;
 Descrever avaliação;
 Arco corneano;
 Xantomas tendinosos;
 Xantelasma;
 Critério holandês;
 Critério Simon Broome;
 Foi capturada imagem e/ou voz do participante?;
 Participante assinou termo de consentimento de captura de imagem e voz?;
 Upload do termo assinado;
 Upload da imagem e/ou voz;
 Outras informações relevantes

Exames laboratoriais

Histórico de colesterol alto;
 Exames antes do uso de medicação para

redução do colesterol;

Exames mais altos de colesterol sob uso de medicamentos;

Hemograma completo;

Perfil renal;

Eletrólitos;

Biomarcadores;

Perfil lipídico e glicêmico;

Perfil hepático;

Outros exames laboratoriais

Medicamentos

Data da receita;

Beta-bloqueadores;

Digitálico;

Inibidor de ECA;

Bloqueador do receptor de Angiotensina II;

Diuréticos;

Vasodilatador;

Antagonista de aldosterona;

Anti-arrítmico;

Bloqueador de canal de cálcio;

Anticoagulante;

Estatinas;

Nitrato;

Ivabradina;

Inibidor P2Y12;

Inibidor de neprilisina + BRA;

Inibidor da SGLT-2;

Agonista GLP-1;

Colchicina;

Tratamento para câncer;
Outros medicamentos utilizados.

Exames complementares

Ecocardiograma;
Eletrocardiograma;
Angiotomografia;
Cateterismo;
Cintilografia;
Teste de estresse;
Holter;
Ressonância magnética cardíaca.

Procedimentos

Ablação;
Cirurgia de aorta;
Cirurgia valvar;
Cirurgia congênita;
Marcapasso;
Angioplastia e revascularização;
Transplante cardíaco e biópsia;
Miectomia;
Cirurgia de varizes.
Variantes
Metodologia;
Gene;
Sequência referência;
Coordenada cromossômica;
Tipo de variante;
Variante c.DNA;
Variante proteína;
Zigossidade;

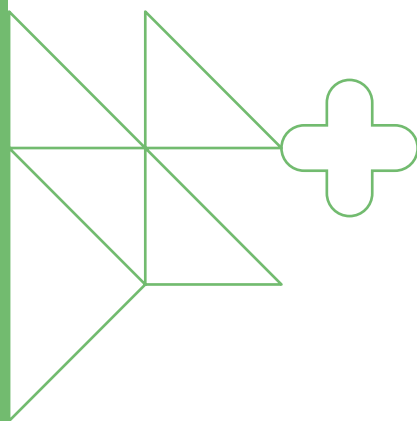
Classificação;
Importação de arquivos de corrida - MLPA;
Importação de arquivos de corrida - Sanger;
Outras informações relevantes.

Relatório médico

Data de entrega do relatório;
Recebido por;
Nome de quem recebeu e grau de parentesco;
Upload do relatório médico;
Observações.
Internação
Paciente esteve internado durante o estudo;
Data da internação;
Motivo da internação;
Desfecho da internação;
Data do óbito;
Causa do óbito;
Data da alta.

Desfecho

Desfecho do paciente;
Matrícula gerada;
Motivo alta;
Data do óbito;
Causa do óbito.



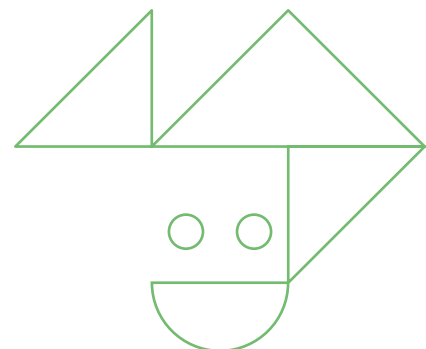
4. Coleta, armazenamento e envio de amostras

O projeto Mapa Genoma Brasil tem como objetivo determinar o perfil genético de pacientes diagnosticados com patologias cardiovasculares.

Esse perfil será obtido a partir do código genético do paciente através do sequenciamento completo do exoma ou genoma e também de testes complementares como MLPA e Sanger.

Qualquer tecido é útil para avaliação do DNA de um indivíduo, ao considerar que o nosso código genético é o mesmo em todas as células (veremos na segunda unidade deste curso).

As amostras mais utilizadas em razão da praticidade na coleta e da extração do DNA são amostras de sangue periférico e de saliva.





Coleta de sangue

- Será realizada coleta de 4 mL de sangue venoso periférico em 1 tubo de coleta de sangue com EDTA (tampa roxa) para os participantes casos-índice diagnosticados com cardiopatia congênita ou aortopatia.
- Antes da coleta, verificar se o TCLE fora devidamente assinado e conferir a identificação do participante em documento oficial com foto.
- Utilize a etiqueta recebida junto com o kit de coleta de sangue para identificar o tubo (este será considerado o número do DNA do participante).
- A coleta deve ser realizada respeitando as técnicas de segurança e assepsia necessárias ao procedimento. Após coleta, os tubos devem ser suavemente homogeneizados 5 a 8 vezes e armazenados em geladeira com temperatura controlada entre 2o a 8o graus, até o momento do transporte.
- Realize o registro do ID do código de barras da amostra no campo "DNA" no REDCap.



Coleta saliva

Será efetuada coleta de saliva utilizando kit de coleta fornecido pelo laboratório parceiro nos participantes conforme especificado abaixo:

- Casos-índice diagnosticados com cardiomiopatias, arritmias, rasopatias ou dislipidemias.
- Familiares, independente do diagnóstico do caso-índice.

O kit de coleta de saliva é composto pelo tubo coletor e uma etiqueta de identificação com um código de barras que será o ID da amostra (número do DNA) no laboratório parceiro.

A coleta deverá ser realizada pelo próprio participante, sob supervisão da equipe do projeto, seguindo as instruções do fabricante que podem ser observadas na imagem a seguir:

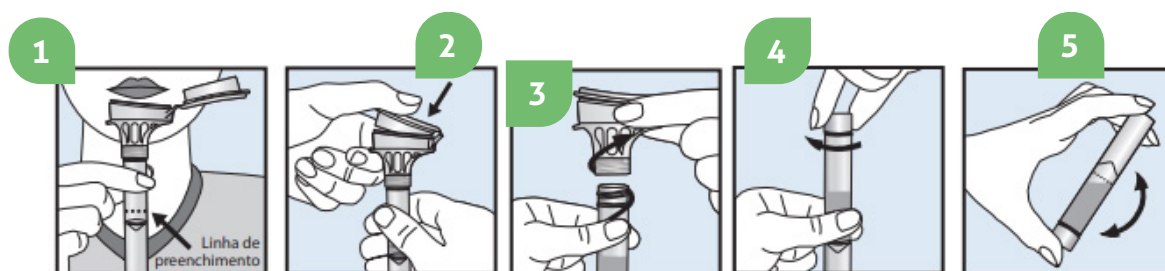
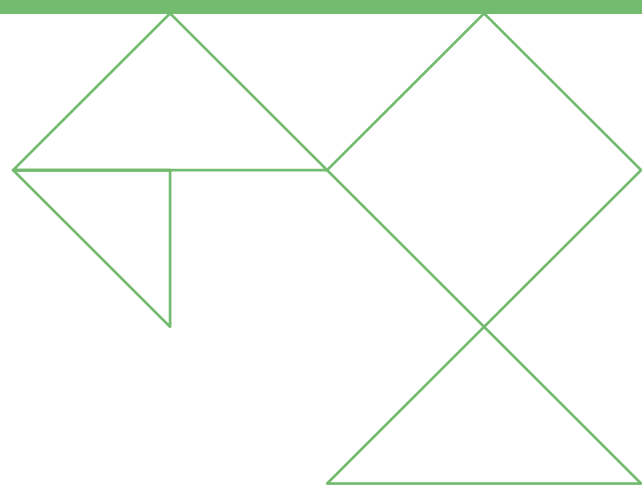


Figura 15 - Instruções para coleta de saliva.

- 30 minutos antes da coleta, enxaguar a boca com água (fazer um bochecho) e iniciar o jejum de alimentos sólidos /líquidos e não fumar.
- Relaxar e massagear as bochechas com a língua para estimular a salivação.
- Cuspir no funil (com cuidado para evitar a formação de bolhas) até que a saliva atinja a linha branca tracejada.
- Segurar o tubo coletor firmemente com uma mão, mantendo-o na posição vertical e com a outra mão feche a tampa do funil até ouvir um 'clique'. O líquido estabilizante irá fluir pelo tubo.
- Manter o tubo na posição vertical, desenroscar o funil e tampar o tubo coletor com a tampa azul que veio com o kit. Verificar se a tampa está bem fechada.
- Agitar o tubo coletor fechado para cima e para baixo, de 10 a 15 vezes.
- Descartar o funil.



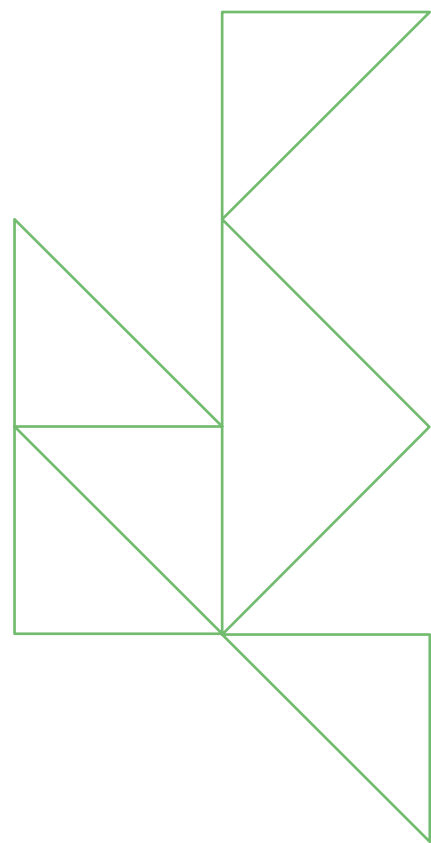
Após a coleta de saliva pelo participante, deve-se certificar-se de que o tubo está bem fechado e proceder com a identificação do tubo com a etiqueta fornecida com o kit. As amostras de saliva devem permanecer em temperatura ambiente até o momento do envio ao laboratório parceiro em local limpo, seco e longe de luz direta.



Transporte de Amostras

- O transporte do sangue coletado será efetuado pelo laboratório parceiro que realizará o processamento das amostras e o sequenciamento do exoma e genoma, atendendo normas da Associação Internacional de Transportes Aéreos (International Air Transport Association – IATA).
- As amostras de sangue devem permanecer refrigeradas entre 2°C e 8°C até o momento do transporte que deve ocorrer no período máximo de até mês após a coleta das amostras.

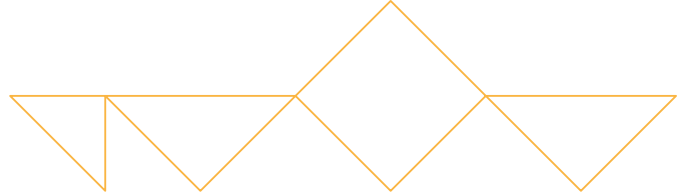
- Para o transporte do sangue, os tubos devem ser acondicionados de forma a minimizar as chances de quebrarem ou vazarem dentro das caixas de transporte e estas devem ser preparadas de forma a manter a temperatura adequada.
- A equipe do projeto deve agendar o transporte das amostras e preparar a documentação necessária para o transporte.
- É importante avaliar se os gelos recicláveis estão disponíveis em quantidade suficiente e se os tubos estão bem fechados e identificados de maneira legível.
- Na caixa de transporte, os tubos devem estar dispostos de maneira adequada a fim de evitar movimentação que produza atrito e lesão nos tubos, com consequente perda de material.
- A caixa deve estar bem vedada com fita adesiva.
- O transporte das amostras de saliva será realizado via Correios. O centro participante receberá os kits de coleta de saliva juntamente com um código de logística reversa para efetuar o envio das amostras coletadas.
- O ideal é utilizar a mesma caixa recebida com os kits para efetuar o envio dos mesmos. As amostras de saliva devem permanecer em temperatura ambiente até o momento do envio.
- O envio pode ser realizado por prazo indefinido após a coleta das amostras desde que estas estejam bem fechadas e acondicionadas.
- A equipe do projeto deve dispor os tubos de saliva dentro de uma caixa de papelão e calçar as laterais a fim de evitar o movimento dos tubos dentro da caixa.
- A caixa deve ser vedada completamente com fita adesiva e encaminhada até uma agência dos Correios para despacho com o código de logística reversa.





Análise Molecular

- As etapas de extração de DNA, análise qualitativa e quantitativa do DNA extraído e sequenciamento do exoma e genoma serão realizadas no laboratório parceiro definido pelo centro coordenador (Hospital BP- A Beneficência Portuguesa de São Paulo).
- Ao final do sequenciamento, os dados brutos (arquivo Fastq, BAM não alinhado e VCF) deverão ser enviados ao Laboratório de Genética e Cardiologia Molecular do Instituto do Coração (LGCM-InCor) onde ocorrerão as análises dos dados brutos provenientes do genoma e exoma que serão realizadas pela equipe de bioinformatas com dedicação ao PROADI.
- As análises das variantes identificadas, assim como as classificações de patogenicidade e preparo dos relatórios técnicos (laudos) serão realizados pela equipe multidisciplinar composta por médicos e analistas do PROADI alocados no LGCM - InCor.
- Os sequenciamentos e análises complementares de MLPA e Sanger também serão realizadas no LGCM - InCor.



5. Registro dos dados familiares e confecção do heredograma

Como obter a história familiar?

A obtenção da história familiar de câncer ou doença cardiovascular é um dos aspectos mais importantes na avaliação do risco. A história familiar pode ser obtida por meio de questionários ou entrevistas, sendo a última a forma mais adequada para a coleta das informações. É importante ressaltar que podem ser necessárias várias consultas até que todos os dados estejam completos (Loescher, 1999).

A história familiar de saúde deve ser obtida por no mínimo três gerações. Sua coleta deve ser pelas informações dos parentes de primeiro grau do probando ou caso-índice (caso que despertou a atenção para a história familiar). Os familiares de primeiro grau são pais, irmãos e filhos e podem compartilhar 50% dos genes do probando. Depois de coletadas as informações destes, deve ser investigada a ocorrência de doenças (câncer, doença cardiovascular ou doença de interesse) nos familiares de segundo grau (tios, avós, sobrinhos) e, finalmente, deve-se obter a história dos familiares de terceiro grau (primos, bisavós).

Os familiares de segundo grau podem compartilhar 25% dos genes, e os de terceiro grau, 12,5% (Loescher, 1999; Santos, Rossi, 2006; Ashcraft et al, 2007).

Para os indivíduos com doenças cardiovasculares, devem ser registradas as seguintes informações: cardiopatia, idade de diagnóstico, data de nascimento ou idade atual e data de óbito. Também se deve questionar sobre diagnósticos de hipertensão arterial, AVC, infarto, morte súbita, uso de dispositivos médicos (marcapasso, CDI, stents, etc), abortamento, distúrbios e malformações congênitas.

As informações registradas devem refletir outras comorbidades, além daquela que é o objeto da investigação. Indivíduos não afetados também devem ser registrados, pois estão sob risco.

Além das informações acima, deve ser investigada a presença de casamento consanguíneo nos ascendentes e a etnia e local de nascimento também devem ser registrados (Santos, Rossi, 2006).

Como elaborar um heredograma?

O registro da história familiar descritivo pode ser confuso e de difícil interpretação, por isso, para a avaliação de risco, deve ser construído o heredograma (pedigree). O heredograma é a representação gráfica da história familiar e é utilizado para visualizar as informações necessárias para a avaliação

de risco. Dessa forma, auxilia no diagnóstico das doenças genéticas, permitindo a identificação dos modos de herança.

Também é útil na identificação dos indivíduos sob risco e na identificação dos relacionamentos sociais e biológicos (Bennett et al, 1995; Bennett et al, 2008).

Na construção do heredograma, devemos usar sempre símbolos padronizados na literatura; identificar o mesmo conforme padronização do estudo; representar pelo menos três gerações; identificar cada indivíduo com seu nome e idade atual; no caso de indivíduos falecidos, colocar data ou idade do óbito; incluir história de câncer ou outras doenças crônicas, e a idade ao diagnóstico; não esquecer de construir legendas de fácil identificação.

Para a construção do heredograma, devem ser seguidos símbolos padronizados como os apresentados na Figura 16 a seguir.

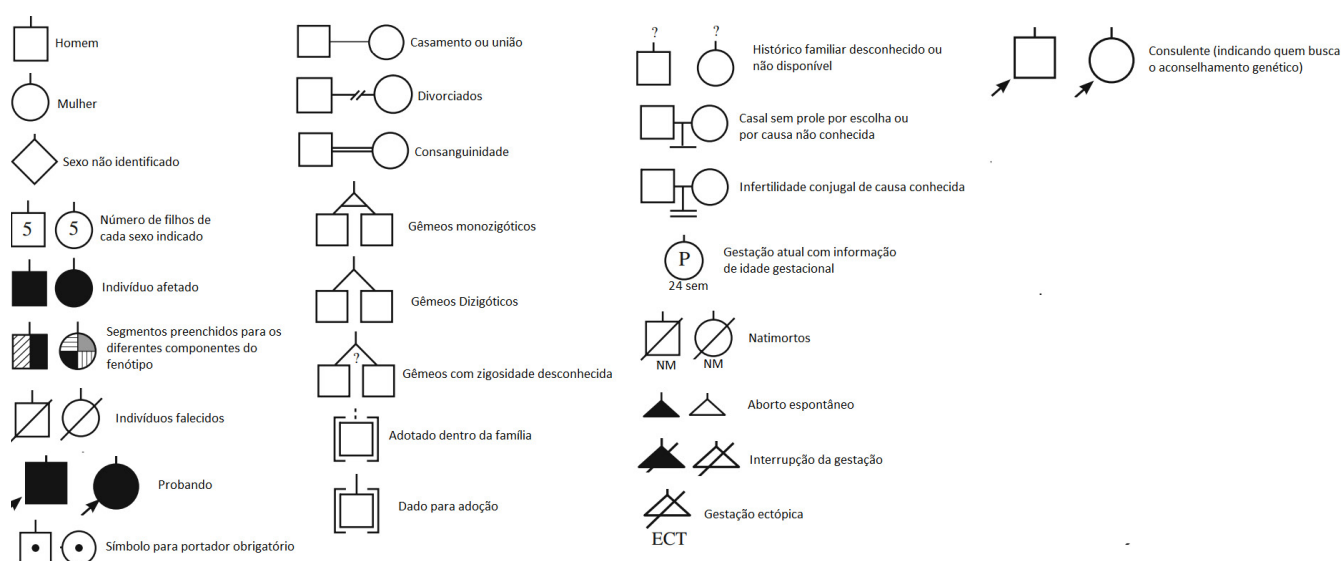
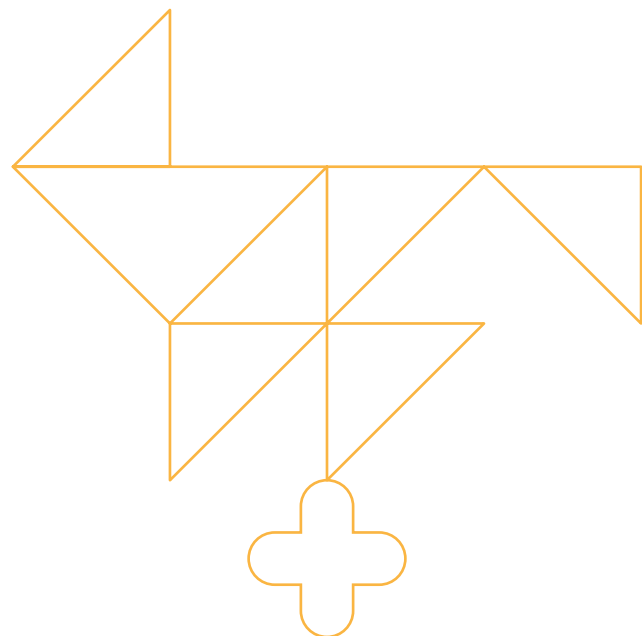


Figura 16 - Principais símbolos utilizados e legendas. Adaptado de Bennet et al, 2008.

A figura 17 apresenta o exemplo de um heredograma de quatro gerações de uma família com uma condição com padrão de herança autossômica dominante.

O heredograma deve ser confeccionado em uma folha de papel A4 na orientação paisagem (horizontal).

Antes de iniciar, deve-se informar ao participante de que juntos vocês construirão a árvore genealógica da família e que ele deve informar o máximo de detalhes sobre sua família que conseguir lembrar; explique também como os símbolos são utilizados e que todos os familiares importam, inclusive os já falecidos.

Deve-se identificar com nome completo e data de nascimento apenas os indivíduos

que assinaram o TCLE. Para os indivíduos vivos que não assinaram o TCLE: colocar o primeiro nome e idade atual.

Para indivíduos com doenças cardiovasculares: registre o diagnóstico de doenças cardiovasculares, a idade do indivíduo ao diagnóstico (caso o probando não saiba da idade exata, registrar idade aproximada).

Ao final, confira com o participante se as informações estão corretas e verifique se alguma informação no heredograma precisa ser validada.

Caso seja necessário, informe um canal de comunicação para que o participante entre em contato para passar informações adicionais que não foi possível coletar no dia da entrevista.

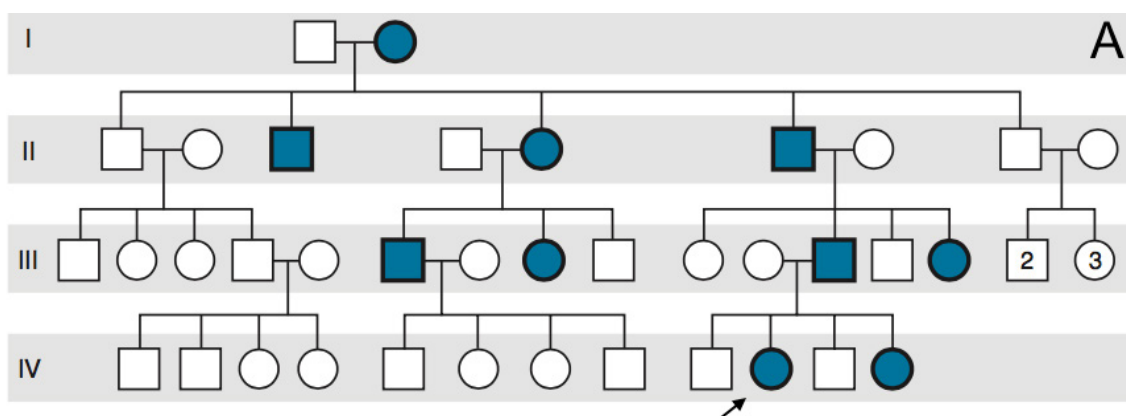


Figura 17 - Exemplo de heredograma (figura extraída de Nussbaum RL, McInnes RR, Willard, editors. Thomson and Thompson: genética médica. 8ª ed. Rio de Janeiro: Elsevier: 2016).

O Progeny®

O Software de Avaliação de Risco e Pedigree Clínico Progeny® foi criado em 1996 para servir de ferramenta para construção de heredogramas, coleta de histórico de saúde da família, avaliação de risco e gerenciamento de dados clínicos.

A premissa da primeira versão do aplicativo foi originalmente conceituada por um oncologista local envolvido em um estudo colaborativo que precisava do seguinte:

- Pedigrees e dados devem ser intimamente ligados e atualizados simultaneamente;
- Pedigrees para serem fáceis de construir e facilmente modificáveis;
- Um banco de dados totalmente funcional que permite ao usuário final personalizá-lo para qualquer estudo hereditário, sem exigir habilidades de programação de banco de dados;
- Capacidade para vários usuários acessarem pedigrees e dados para colaboração.

Essas necessidades resultaram no que ainda hoje é o software de gerenciamento de dados clínicos e pedigree genético mais abrangente disponível em qualquer lugar.

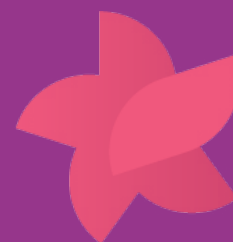
Neste projeto, **após a realização do heredograma na versão em papel, a equipe do projeto deverá passar as informações para o Progeny®.**

A principal diferença é que a versão gratuita não permite a gravação de dados. Portanto, a equipe deve registrar o heredograma no Progeny® e depois anexar uma cópia do arquivo na ficha do caso-índice no REDCap no campo destinado para este fim.

Versão gratuita

A versão sem custo do software pode ser acessada em:

<https://pedigree.progenygenetics.com/>



Acesse o site do Progeny® e na tela inicial clique em “Pedigree Builder” para iniciar a construção do hereograma (Figura 18).

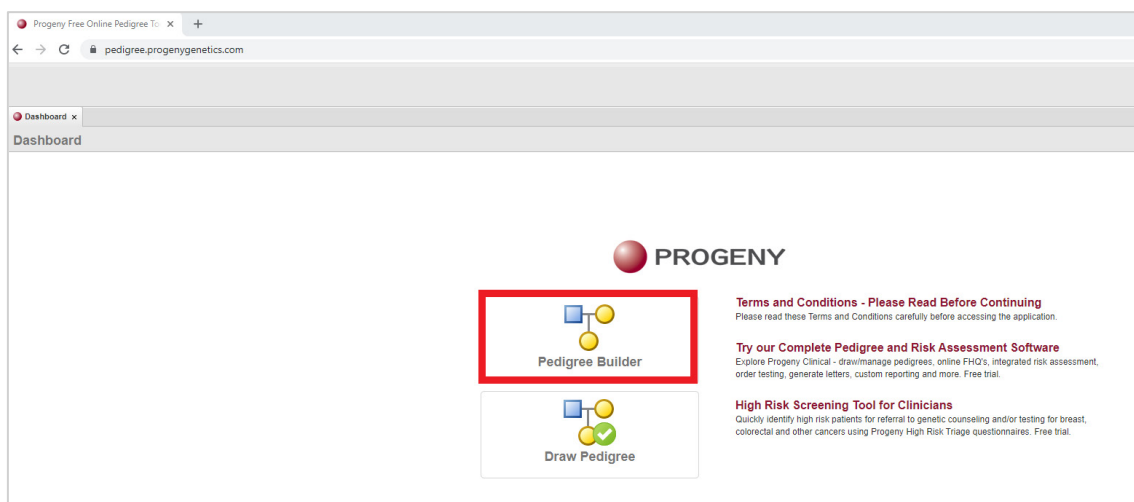


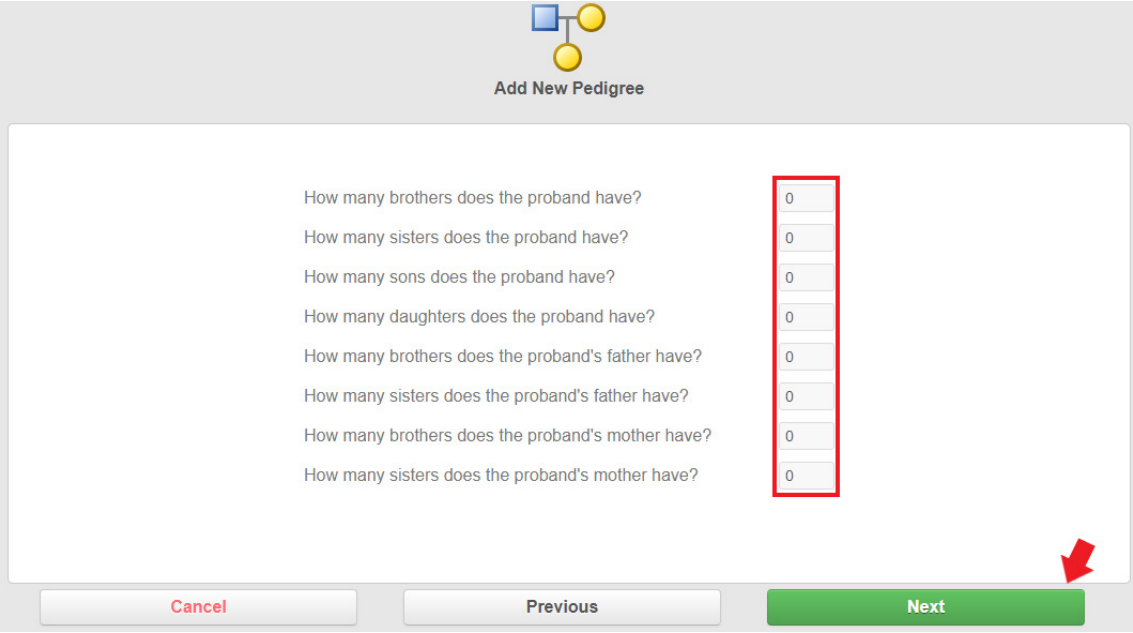
Figura 18 - Tela inicial do software.

Na tela seguinte, digite o código do participante no projeto (o mesmo utilizado na ficha do REDCap) no campo “What is the name of the pedigree you want to create?” e clique em “Next” (Figura 19).

Figura 19 - Nomeando o heredograma.

Na próxima tela, selecione o sexo do Probando ("male" para homem e "female" para mulher) e acione o botão "Next".

O próximo passo é incluir o número de familiares que o Probando tem: número de irmãos; número de irmãs; número de filhos; número de filhas; número de irmãos do pai, número de irmãs do pai, número de irmãos da mãe e número de irmãs da mãe. Depois de tudo preenchido, clique em "Next" (veja Figura 20).




Add New Pedigree

How many brothers does the proband have?	0
How many sisters does the proband have?	0
How many sons does the proband have?	0
How many daughters does the proband have?	0
How many brothers does the proband's father have?	0
How many sisters does the proband's father have?	0
How many brothers does the proband's mother have?	0
How many sisters does the proband's mother have?	0



Figura 20 - Adicionando familiares.

Selecione o indivíduo no heredograma (o quadrado amarelo mostra quem é o indivíduo selecionado). Comece com os dados do probando, clique com o botão direito do mouse no indivíduo selecionado e escolha a opção "Apply Subtext"; na caixa aberta, digite o nome do participante no campo "Name", a idade atual no campo "Age", a cardiopatia no campo "Subtext Line 3" e outros diagnósticos relevantes podem ser incluídos em "Subtext Line 4" e "Subtext Line 5" (veja figura 21). Desabilite a opção "Show Subtext Legend" para o heredograma ficar mais "limpo". Assim que terminar de inserir os dados, clique novamente no indivíduo selecionado para fechar a caixa. Repita esse procedimento para todos indivíduos do heredograma.

The screenshot shows the Progeny Free Online Pedigree Tool interface. The browser address bar displays pedigree.progenygenetics.com. The top toolbar includes buttons for Print, Apply Subtext, Apply Symbols, Palette, Smartdraw, Annotated Text, and Save Image. The main window title is "Pedigree Viewer". On the left, a sidebar contains "Pedigree Display", "Pedigree Dimensions", and "SmartDraw Options". The central area shows a pedigree chart with a yellow square indicating the selected individual. A dialog box is open over this individual, titled "1665664667927-TESTE PROADI 2022-10-13". The dialog has a "Show Subtext Legend" checkbox (unchecked) and a "Click to edit" button. Below these are input fields for "Name", "Age", "Subtext Line 3", "Subtext Line 4", and "Subtext Line 5". The values entered are: Name: "Paciente Teste", Age: "45a", Subtext Line 3: "Sd. Brugada", Subtext Line 4: "CDI em 2015", and Subtext Line 5: "MS abortada em 2014".

Figura 21. Inserindo os dados do indivíduo.

Para familiares falecidos, selecione o indivíduo e clique com o botão direito do mouse; acessar "Change Status" e selecionar "deceased". Informar a idade e a causa do óbito na legenda do indivíduo, caso o participante não saiba informar a causa do óbito, preencher com "NSC" (não sabe a causa) (Figura 22).

Caso o probando não tenha informações sobre a saúde de determinado familiar, indicar na legenda os dizeres "S/ Info"; se o probando indicar um familiar saudável, legendar o indivíduo com a palavra "hígido" (Figura 22).

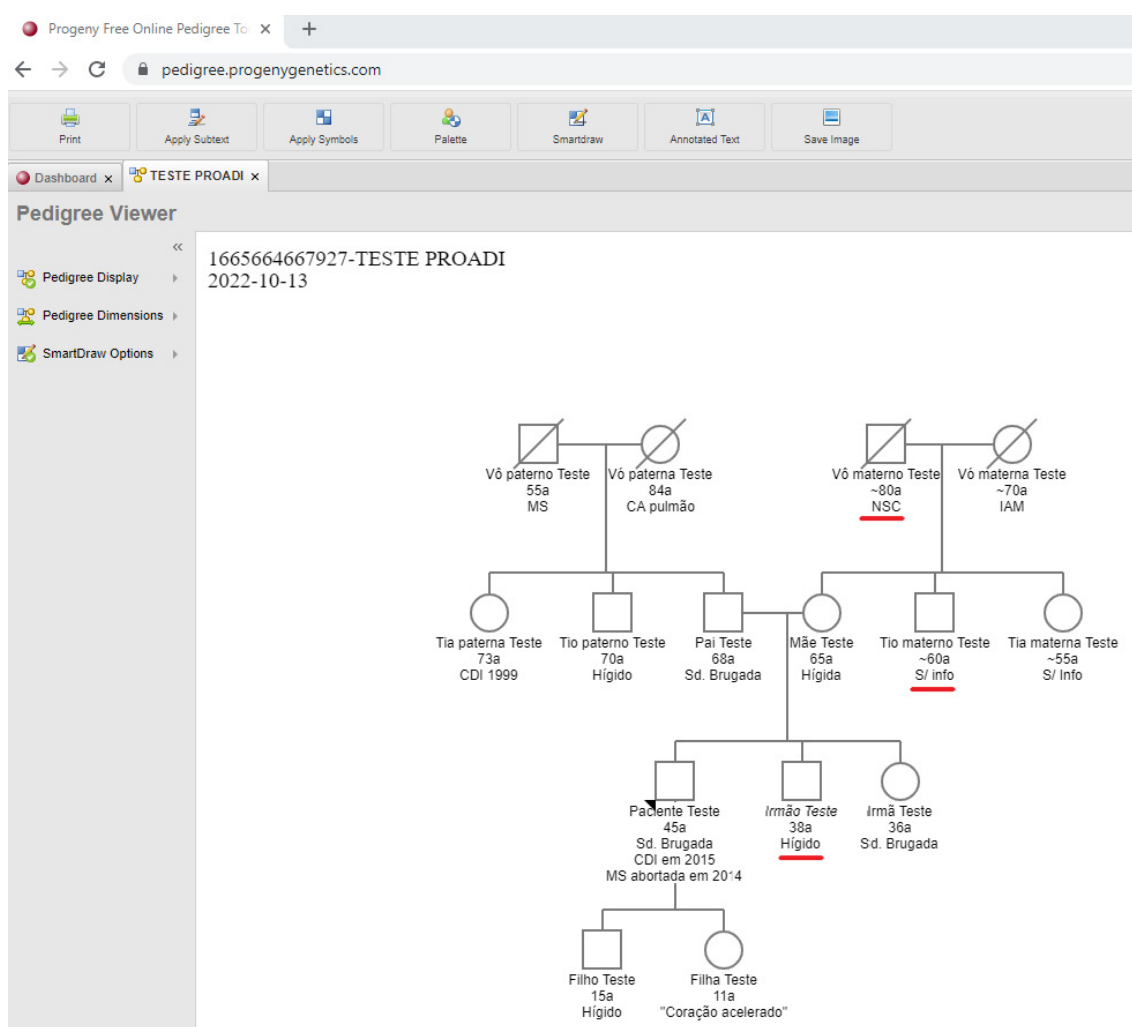


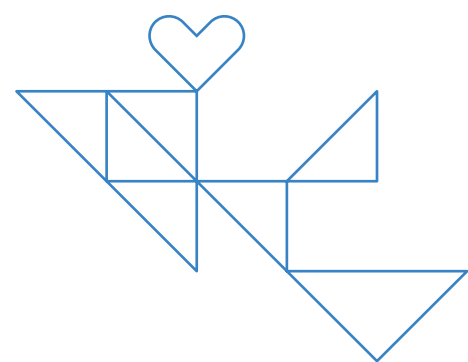
Figura 22 - Heredograma completamente preenchido.

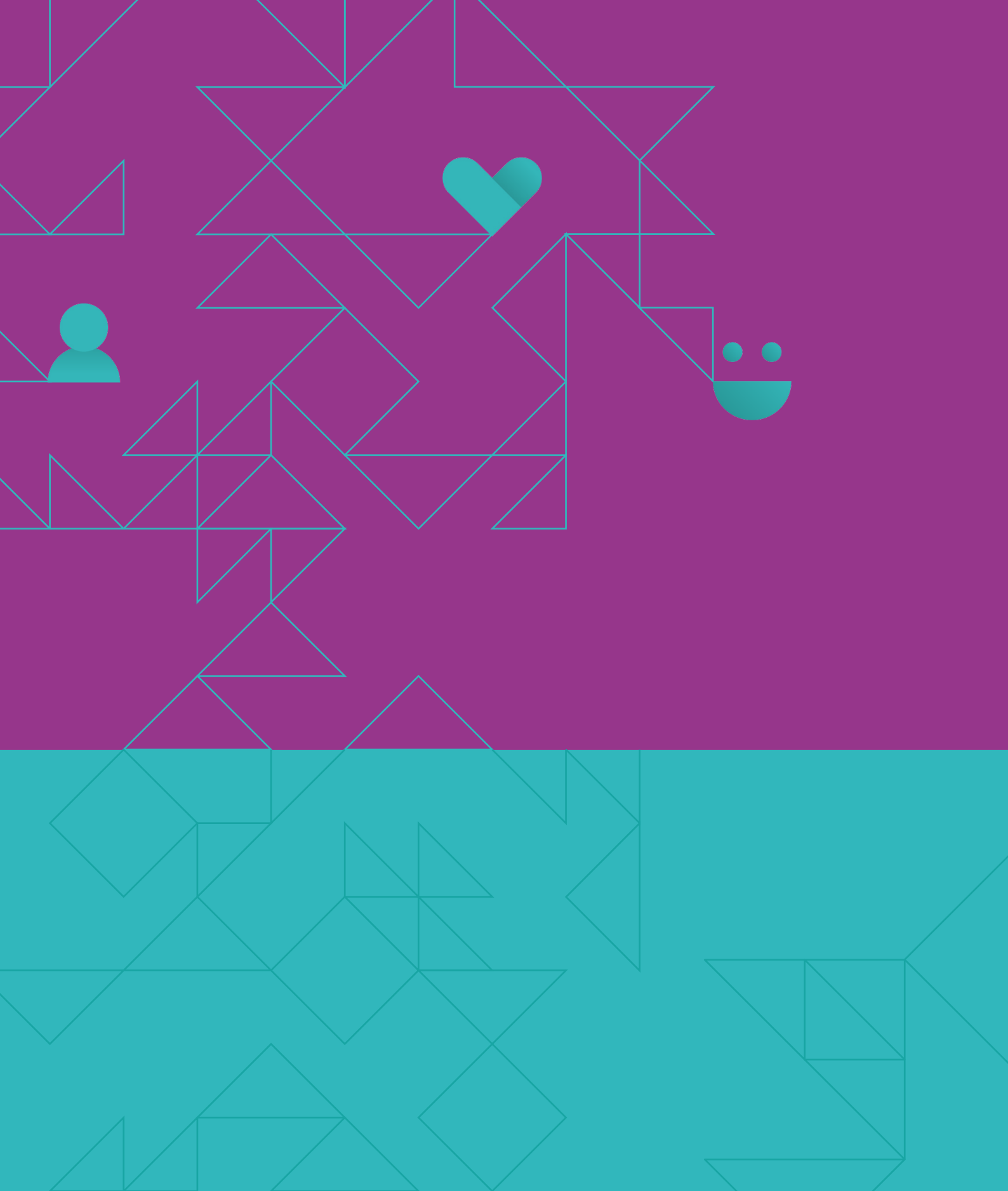
Após finalizar a construção do heredograma, tire um print da tela e salve o arquivo com o código do participante no projeto e depois faça o upload desse arquivo na ficha REDCap do mesmo.

Referências

- Agergaard P, Olesen C, Østergaard JR, Christiansen M, Sørensen KM. The prevalence of chromosome 22q11.2 deletions in 2,478 children with cardiovascular malformations. A population-based study. *Am J Med Genet A* 2012;158A(3):498-508.
- Ashcraft P, Coleman E. et al. Obtaining family histories from patients with cancer. *Clinical Journal of Oncology Nursing* 2007;11:119-24.
- Bennett RL, French KS, Resta RG, Doyle DL. Standardized human pedigree nomenclature: update and assessment of the recommendations of the National Society of Genetic Counselors. *J Genet Couns* 2008;17(5):424-33.
- Bennett RL, Steinhaus KA, Uhrich SB, O'Sullivan CK, Resta RG, Lochner-Doyle D, Markel DS, Vincent V, Hamanishi J. Recommendations for standardized human pedigree nomenclature. Pedigree Standardization Task Force of the National Society of Genetic Counselors. *Am J Hum Genet* 1995;56(3):745-52.
- Bagnall RD, Weintraub RG, Ingles J, Duflou J, Yeates L, Lam L, Davis AM, Thompson T, Connell V, Wallace J, Naylor C, Crawford J, Love DR, Hallam L, White J, Lawrence C, Lynch M, Morgan N, James P, du Sart D, Puranik R, Langlois N, Vohra J, Winship I, Atherton J, McGaughran J, Skinner JR, Semsarian C. A Prospective Study of Sudden Cardiac Death among Children and Young Adults. *N Engl J Med* 2016;374(25):2441-52.
- Biddinger A, Rocklin M, Coselli J, Milewicz DM. Familial thoracic aortic dilatations and dissections: a case control study. *J Vasc Surg* 1997;25(3):506-11.
- Bonser RS, Ranasinghe AM, Loubani M, Evans JD, Thalji NM, Bachet JE, Carrel TP, Czerny M, Di Bartolomeo R, Grabenwöger M, Lonn L, Mestres CA, Schepens MA, Weigang E. Evidence, lack of evidence, controversy, and debate in the provision and performance of the surgery of acute type A aortic dissection. *J Am Coll Cardiol* 2011;58(24):2455-74.
- Cecchi F, Tomberli B, Olivotto I. Clinical and molecular classification of cardiomyopathies. *Glob Cardiol Sci Pract* 2012;2012(1):4.
- Elliott P, Andersson B, Arbustini E, Bilinska Z, Cecchi F, Charron P, Dubourg O, Kühl U, Maisch B, McKenna WJ, Monserrat L, Pankuweit S, Rapezzi C, Seferovic P, Tavazzi L, Keren A. Classification of the cardiomyopathies: a position statement from the European Society Of Cardiology Working Group on Myocardial and Pericardial Diseases. *Eur Heart J*. 2008;29(2):270-6.
- Erbel R, Aboyans V, Boileau C, Bossone E, Bartolomeo RD, Eggebrecht H, Evangelista A, Falk V, Frank H, Gaemperli O, Grabenwöger M, Haverich A, Iung B, Manolis AJ, Meijboom F, Nienaber CA, Roffi M, Rousseau H, Sechtem U, Sirnes PA, Allmen RS, Vrints CJ; ESC Committee for Practice Guidelines. 2014 ESC Guidelines on the diagnosis and treatment of aortic diseases: Document covering acute and chronic aortic diseases of the thoracic and abdominal aorta of the adult. The Task Force for the Diagnosis and Treatment of Aortic Diseases of the European Society of Cardiology (ESC). *Eur Heart J* 2014;35(41):2873-926
- Francke U, Berg MA, Tynan K, Brenn T, Liu W, Aoyama T, Gasner C, Miller DC, Furthmayr H. A Gly1127Ser mutation in an EGF-like domain of the fibrillin-1 gene is a risk factor for ascending aortic aneurysm and dissection. *Am J Hum Genet*;56(6):1287-96.
- Hasham SN, Lewin MR, Tran VT, Pannu H, Muilenburg A, Willing M, Milewicz DM. Nonsyndromic genetic predisposition to aortic dissection: a newly recognized, diagnosable, and preventable occurrence in families. *Ann Emerg Med* 2004;43(1):79-82.
- Hitz MP, Lemieux-Perreault LP, Marshall C, Feroz-Zada

- Y, Davies R, Yang SW, Lionel AC, D'Amours G, Lemyre E, Cullum R, Bigras JL, Thibeault M, Chetaille P, Montpetit A, Khairy P, Overduin B, Klaassen S, Hoodless P, Awadalla P, Hussin J, Idaghdour Y, Nemer M, Stewart AF, Boerkoel C, Scherer SW, Richter A, Dubé MP, Andelfinger G. Rare copy number variants contribute to congenital left-sided heart disease. *PLoS Genet* 2012;8(9):e1002903.
- Hoffman JI, Kaplan S. The incidence of congenital heart disease. *J Am Coll Cardiol* 2002;39(12):1890-900.
- Isselbacher EM. Thoracic and abdominal aortic aneurysms. *Circulation*;111(6):816-28.
- Loescher LJ. The family history component of cancer genetic risk counseling. *Cancer Nursing* 199;22:96-102.
- Pierpont ME, Brueckner M, Chung WK, Garg V, Lacro RV, McGuire AL, Mital S, Priest JR, Pu WT, Roberts A, Ware SM, Gelb BD, Russell MW; American Heart Association Council on Cardiovascular Disease in the Young; Council on Cardiovascular and Stroke Nursing; and Council on Genomic and Precision Medicine. Genetic Basis for Congenital Heart Disease: Revisited: A Scientific Statement From the American Heart Association. *Circulation*;138(21):e653-e711. Erratum in: *Circulation* 2018;138(21):e713..
- Romano AA, Allanson JE, Dahlgren J, Gelb BD, Hall B, Pierpont ME, Roberts AE, Robinson W, Takemoto CM, Noonan JA. Noonan syndrome: clinical features, diagnosis, and management guidelines. *Pediatrics* 2010;126(4):746-59.
- Santos EMM, Rossi BM. Investigação da história familiar. In: _____ (ed.). *Câncer hereditário: atualização*. v.1. São Paulo: Lemar/Santa Isabel, 2006. p. 47-51.
- Schwartz PJ, Stramba-Badiale M, Crotti L, Pedrazzini M, Besana A, Bosi G, Gabbarini F, Goulene K, Insolia R, Mannarino S, Mosca F, Nespoli L, Rimini A, Rosati E, Salice P, Spazzolini C. Prevalence of the congenital long-QT syndrome. *Circulation* 2009;120(18):1761-7.
- Steinberg D. Hypercholesterolemia and inflammation in atherogenesis: two sides of the same coin. *Mol Nutr Food Res* 2005;49(11):995-8.
- Vaughan CJ, Casey M, He J, Veugelers M, Henderson K, Guo D, Campagna R, Roman MJ, Milewicz DM, Devereux RB, Basson CT. Identification of a chromosome 11q23.2-q24 locus for familial aortic aneurysm disease, a genetically heterogeneous disorder. *Circulation* 2001;103(20):2469-75.
- Towbin JA. Inherited cardiomyopathies. *Circ J*. 2014;78(10):2347-56.
- Towbin JA, Lowe AM, Colan SD, Sleeper LA, Orav EJ, Clunie S, Messere J, Cox GF, Lurie PR, Hsu D, Canter C, Wilkinson JD, Lipshultz SE. Incidence, causes, and outcomes of dilated cardiomyopathy in children. *JAMA* 2006;(15):1867-76.
- Tutar E, Ekici F, Atalay S, Nacar N. The prevalence of bicuspid aortic valve in newborns by echocardiographic screening. *Am Heart J* 2005;150(3):513-5.
- WHO. Global health risks. WHO Libr Cat Data. 2009.
- Wren C. The Epidemiology of Cardiovascular Malformations. in *Pediatric Cardiovascular Medicine: Second Edition* (2012). doi: 10.1002/9781444398786.ch19.
- Visscher PM, Wray NR, Zhang Q, Sklar P, McCarthy MI, Brown MA, Yang J. 10 Years of GWAS Discovery: Biology, Function, and Translation. *Am J Hum Genet* 2017;101(1):5-22.
- Zelli V, Compagnoni C, Canitta K et.al. Applications of Next Generation Sequencing to the Analysis of Familial Breast/Ovarian Cancer. *High Throughput*; 2002;10:1.





Rua Maestro Cardim, 769
01323-900 Bela Vista São Paulo
Tel. 11 3505 1000

 [/bporgbr](https://www.bp.org.br)
bp.org.br