

**MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO NORTE
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS DA SAÚDE**

**AVALIAÇÃO ECOCARDIOGRÁFICA EM CRIANÇAS COM FENDA ORAL, PARA
ESTUDO DE OCORRÊNCIA DE CARDIOPATIA**

GISELE CORREIA PACHECO LEITE

NATAL/RN

2018

GISELE CORREIA PACHECO LEITE

**AVALIAÇÃO ECOCARDIOGRÁFICA EM CRIANÇAS COM FENDA ORAL, PARA
ESTUDO DE OCORRÊNCIA DE CARDIOPATIA**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde da Universidade Federal do Rio Grande do Norte como requisito para a obtenção do título de Mestre em Ciências da Saúde.

Orientadora: Prof^a. Dra. Adriana Augusto de Rezende, UFRN

Coorientadora: Prof^a. Dra. Vera Lúcia Gil-da-Silva-Lopes, UNICAMP

NATAL/RN

2018

ii

FICHA CATALOGRÁFICA

Universidade Federal do Rio Grande do Norte - UFRN

Sistema de Bibliotecas - SISBI

Catálogo de Publicação na Fonte. UFRN - Biblioteca Setorial do Centro Ciências da Saúde - CCS

Leite, Gisele Correia Pacheco.

Avaliação ecocardiográfica em crianças com fenda oral, para estudo de ocorrência de cardiopatia / Gisele Correia Pacheco Leite. - Natal, 2018.

117f. : il.

Orientadora: Prof.^a Dr.^a Adriana Augusto de Rezende.

Coorientadora: Prof.^a Dr.^a Vera Lúcia Gil-da-Silva-Lopes.

Dissertação (Mestrado) – Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde. Centro de Ciências da Saúde. Universidade Federal do Rio Grande do Norte.

1. Fenda Oral – Dissertação. 2. Cardiopatia congênita – Dissertação. 3. Cardite Reumática – Dissertação. 4. Prolapso de Valva Mitral – Dissertação. I. Rezende, Adriana Augusto de. II. Gil-da-Silva-Lopes, Vera Lúcia. III. Título.

Elaborado por ANA CRISTINA DA SILVA LOPES - CRB-15/263

**MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO NORTE
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS DA SAÚDE**

Coordenador do Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde:

Profa. Dra. Ana Katherine da Silveira Gonçalves de Oliveira

GISELE CORREIA PACHECO LEITE

**AVALIAÇÃO ECOCARDIOGRÁFICA EM CRIANÇAS COM FENDA ORAL, PARA
ESTUDO DE OCORRÊNCIA DE CARDIOPATIA**

Aprovada em 19/06/18

Presidente da banca:

Prof^a. Dr^a Adriana Augusto Rezende

Membros da banca:

Prof^a. Dr^a Isabella Lopes Monlleó
(Universidade Federal de Alagoas)

Prof^a. Dr^a Vivian Nogueira Silbiger
(Universidade Federal do Rio Grande do Norte)

DEDICATÓRIA

A DEUS, a quem eu devo minha existência e tudo o que eu conquistei e a quem agradeço por estar aqui, por me ter dado força para superar os inúmeros obstáculos e ter me carregado no colo nos momentos mais difíceis.

A minha família, meu princípio, meio e o fim. Em particular, aos meus pais (Paulo e Lourdes) e esposo (Juliano), apoiadores incondicionais, e que souberam compreender os inúmeros momentos de minha ausência, para poder seguir nesta trajetória acadêmica e chegar até aqui.

AGRADECIMENTOS

A Deus, por me permitir seguir esta trajetória vocacional, por ser a minha Fortaleza, o meu Escudo, o meu Tudo.

A minha família, especialmente aos meus pais (Paulo Guilherme Miranda Pacheco e Maria de Lourdes Correia Pacheco), irmãos e esposo, Juliano Augusto de Farias Leite. Vocês me deram a base e o apoio para que eu pudesse iniciar esta caminhada e seguir na mesma.

À Prof^a. Dr^a. Adriana Augusto de Rezende (UFRN), por ter assumido minha orientação, pela compreensão nos momentos mais difíceis, pois foi o que me permitiu êxito nos concursos e, principalmente, pelos ensinamentos que ficaram e ficarão para minha carreira profissional, bem como para a vida.

À Prof^a. Dr^a. Vera Lúcia Gil-da-Silva-Lopes (UNICAMP), por ter assumido minha coorientação, auxiliar a me enveredar nos caminhos da pesquisa clínica; bem como a compreensão nos momentos mais difíceis para mim, e toda atenção ofertada ao nosso grupo de pesquisa.

Ao Dr. Ênio de Oliveira Pinheiro, cardiopediatra, que me acolheu e me ajudou na caminhada por aqui. Foi um dos que me disse que eu tinha “perfil para carreira acadêmica”, informou-me do concurso para professor substituto de pediatria na UFRN, e assim ingressei na mesma em 2012.

Ao Prof. Dr. Reginaldo Antônio de Oliveira Freitas Júnior (UFRN), o qual me acolheu na Obstare, incentivou-me na carreira acadêmica e mostrou-me os caminhos para eu chegar até a mesma.

Ao Departamento de Pediatria da UFRN, no qual ingressei inicialmente como docente substituta e posteriormente como efetiva. Agradeço a acolhida de todos os docentes, em especial de Prof^a. Dr^a. Áurea Nogueira de Melo (um dos meus exemplos de docente, quem me incentivou fortemente a seguir carreira acadêmica, e me orientou no ingresso ao mestrado) e Prof^a. Dr^a. Jussara Melo de Cerqueira Maia (minha tutora, exemplo de docente a seguir).

Aos colegas do LABMULT/LABIOMOL/ UFRN: João Felipe Bezerra, Gustavo Henrique de Medeiros Oliveira, Marcela Abbott Galvão Ururahy, Heglayne Pereira Vital da Silva; Valéria Morgiana Gualberto Duarte Moreira Lima, André Ducati Luchessi, Raul

Hernandes Bortolin, Karla Simone Costa de Souza; alunos da iniciação científica. Vocês são gigantes na pesquisa e me auxiliaram (e ainda auxiliam) – incondicionalmente - no enveredar na mesma. O convívio permitiu o início de uma amizade que levarei para vida inteira.

Aos meus colegas da Pós-graduação, em especial, aos amigos que fiz na mesma: Antônio Arildo Reginaldo de Holanda, Christian Assunção da Silva, Maria Helena Vieira de Melo, Maria do Perpétuo Socorro Nobre Medeiros e Silva, e Werusca Alcoforado Costa. Fui muito feliz em poder compartilhar os momentos de estudos com vocês e ter iniciado amizade que será levada para a vida.

Aos funcionários do antigo Hospital de Pediatria da UFRN, atual Hospital Universitário Onofre Lopes (HUOL) que se encontram lotados nos ambulatórios, enfermarias e centro de diagnóstico por imagens (CDI).

Especialmente, à equipe do Programa de Atendimento Multidisciplinar a Pacientes Portadores de Fissuras Labiopalatais do HUOL/ UFRN, tendo como pediatra de referência Dr^a. Maria Edinilma Felinto de Brito; e à equipe do Ambulatório de Especialidades Pediátricas do HUOL/UFRN, composto por seus funcionários e pacientes e seus responsáveis.

No CDI, agradecemos especialmente, a Antônio José Freire de Souza e Adriana Kely de Medeiros Rocha, pela disponibilidade do serviço de ecocardiograma. À equipe do setor de ecocardiografia, pelo acolhimento e viabilidade da pesquisa.

À Dra. Maria da Guia de Medeiros Garcia (Maternidade Escola Januário Cicco - MEJC/UFRN), pela viabilidade na realização dos ecocardiogramas.

A Dra. Maria Ione Ferreira Costa, médica geneticista, que fez avaliação de alguns de nossos pacientes. Aos órgãos de fomento, CAPES e CNPQ.

Aos pacientes, pais e responsáveis dos mesmos, que permitiram que esta pesquisa ocorresse ao darem seu consentimento.

Aos secretários e docentes do Programa de Pós-Graduação do Centro de Ciências da Saúde da UFRN.

Aos membros de nossa banca de qualificação e defesa.

A todos que direta e/ou indiretamente contribuíram para a conclusão deste trabalho.

“Bem-aventurado o homem que sofre a tentação; porque, quando for provado, receberá a coroa da vida, a qual o Senhor tem prometido aos que o amam”.

Tiago 1:12

RESUMO

O objetivo deste trabalho é descrever achados de avaliação cardiológica clínica-eletrocardiográfica-ecocardiográfica em um grupo de pacientes com fenda oral (FO) do Rio Grande do Norte. Quanto ao método foi feita análise dos dados de avaliação clínica (com um único cardiologista pediátrico) e de exames complementares, por meio de triangulação metodológica intramétodo, de pacientes portadores de FO atendidos no Programa de Atendimento Multidisciplinar aos Pacientes com Fissuras Labiopalatais do Hospital Universitário Onofre Lopes (HUOL)/UFRN. Os pacientes foram avaliados quanto à idade, sexo, tipo de FO, indícios clínicos de probabilidade de cardiopatias (queixas, comorbidades, antecedentes pessoais e familiares) e achados eletro e ecocardiográficos. Nos resultados obtidos de 70 pacientes inclusos, observou-se faixa etária variando de neonato a adolescentes (13 dias de vida a 19 anos de idade; média de 4,6 anos); 42 (60,0%) eram do sexo masculino e 40 (57,2 %) dos pacientes apresentavam fenda labiopalatal. 28 (40,0%) pacientes apresentavam queixas de saúde no momento da consulta com cardiologista pediátrico e comorbidades estiveram presentes em 31 (44,3%) pacientes. Antecedentes gestacionais relevantes ocorreram em 39 (55,7%) pacientes, neonatais em 19 (27,1%), familiares em 47 (67,2%), e pessoais em 17 (24,3%). Dentre os antecedentes familiares, os mais frequentes foram Hipertensão Arterial (20 / 20,0%), Dislipidemia (17 / 17,0%) e Diabetes melito (12 / 12,0%); e os pessoais, quadros respiratórios (12 / 52,2%) e cardiopatias (2 / 8,7%). Houve um caso de bloqueio atrioventricular. Ecocardiograma foi normal em 45 (64,3%) exames e alterado em 25 (35,7%), dentre os quais cinco (20,0%) apresentavam prolapso de valva mitral (PVM). Destes, um foi diagnosticado com cardite reumática. Assim, os achados deste estudo sugerem a importância de anamnese com atenção a fatores de risco pessoais e familiares, bem como da avaliação cardiológica rotineira por ecocardiograma fetal e triangulação metodológica (clínica, eletrocardiográfica e ecocardiográfica) na investigação diagnóstica de pacientes com FO. Essa estratégia possibilitaria o rastreamento de cardiopatias congênitas, alterações no ritmo cardíaco e prevenção de cardiopatias adquiridas; permitiria medidas de prevenção de comorbidades e planejamento do tratamento individualizado. A presença significativa de PVM na amostra pode indicar aumento de risco para cardite reumática em indivíduos com FO e dirijem para a necessidade de estudos específicos sobre o tema.

Palavras-chave: Fenda Oral, Cardiopatia congênita, Cardite Reumática, Prolapso de Valva Mitral.

ABSTRACT

Objective: The present study aims to describe the clinical, electrocardiographic, and echocardiographic cardiologic findings in a group of patients with oral clefts (OC). **Methods:** Analysis of the clinical evaluation data (by a single pediatric cardiologist) and complementary examinations, by intra-method methodological triangulation, of patients with OC attended in the Multidisciplinary Care Program for Patients with Oral Clefts, University Hospital Onofre Lopes (HUOL). Patients were evaluated for age, sex, type of oral cleft, clinical signs of probability of heart disease (complaints, comorbidities, personal and family history) and electrocardiographic findings. **Results:** Seventy patients were included. Age range varied from neonate to adolescents (13 days of life to 19 years of age, mean of 4.64 years); 42 (60.0%) were male and 40 (57.2%) of the patients presented with lip and palate cleft. Twenty-eight (40.0%) patients presented health complaints at the time of consultation with a pediatric cardiologist and comorbidities were present in 31 (44.3%) patients. Relevant pregnancy, neonatal, family and personal antecedents were present in 39 (55.7%), 19 (27.1%), 47 (67.2%), and 17 (24.3%) of the patients, respectively. Regarding family history, the most frequent were Arterial Hypertension (20 / 20,0%), Dyslipidemia (17 / 17,0%) and Diabetes mellitus (12 / 12,0%); and personal, respiratory (12 / 52.2%) and heart diseases (2 / 8.7%). Electrocardiographic evaluation showed one case of atrioventricular block. The echocardiogram was normal in 45 (64.3%) and abnormal in 25 (35.7%) of the exams, including 05 cases of mitral valve prolapse (MVP)—one of them diagnosed with rheumatic heart disease (RHD). **Conclusions:** Our findings highlight the importance of the anamnesis with attention to personal and family risk factors, as well as, routine cardiological evaluation by fetal echocardiogram and methodological triangulation (clinical-electrocardiographic-echocardiographic) in the investigation of patients with OC. That strategy would permit the tracking of congenital heart diseases, cardiac rhythm alteration and prevention of acquired heart diseases. Moreover, it would contribute to comorbidity prevention and individualized planned treatment. The significant presence of MVP in this population may indicate increased risk for RHD in subjects with OC and highlight the need of more specific studies about this theme.

Keywords: oral cleft, congenital heart disease, rheumatic heart disease, mitral valve prolapse.

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

American Heart Association - AHA
Anomalias congênitas - AC
Base Brasileira de Dados Clínicos e Familiares de Fendas Orofaciais Típicas - BD
Canal Arterial Patente - PCA
Cardiopatias congênitas - CC
Centro de Diagnóstico por Imagem - CDI
Comitê de Ética e Pesquisa - CEP
Complexo Hospitalar e de Saúde - CHS
Comunicação interatrial - CIA
Comunicação interventricular - CIV
Defeito do septo atrioventricular - DSAV
Eletrocardiograma - ECG
Estados Unidos da América - EUA
Estudo Colaborativo Latino-Americano de Malformações Congênitas - ECLAMC
Fenda labial - FL
Fenda labiopalatal - FLP
Fenda Oral – FO
Fenda palatal - FP
Fendas Orais - FOs
Forame oval patente - FOP
Hipertensão pulmonar - HP
Hospital Universitário Ana Bezerra - HUAB
Hospital Universitário Onofre Lopes - HUOL
Maternidade Escola Januário Cicco - MEJC
Organização Mundial de Saúde - OMS
Programa de Pós-Graduação do Centro de Ciências da Saúde - PPGCSA
Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas - PPGCF
Projeto Crânio-face Brasil - PCFB
Prolapso de valva mitral - PVM
Protocolo de atendimento clínico-cardiológico e ecocardiográfico para pacientes com fenda oral - PACE
Rio Grande do Norte - RN
Sistema de Informações sobre Nascidos Vivos - SINASC

Sistema Único de Saúde - SUS
Taxa de mortalidade infantil - TMI
Termo de Consentimento Livre e Esclarecido - TCLE
Tetralogia de Fallot - T4F
Transposição dos grandes vasos da base - TGVB
Ultrassom - USG
Unidade de Terapia Intensiva - UTI
Universidade de São Paulo - USP
Universidade Estadual de Campinas - UNICAMP
Universidade Federal do Rio Grande do Norte - UFRN

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	15
2. JUSTIFICATIVA	21
3. OBJETIVOS	22
3.1 OBJETIVO GERAL.....	22
3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	22
4. MÉTODOS	23
5. ARTIGO PRODUZIDO	28
6. COMENTÁRIOS, CRÍTICAS E SUGESTÕES.....	35
REFERÊNCIAS	60
APÊNDICES.....	69
APÊNDICE A – Termo de Consentimento Livre Esclarecido	69
APÊNDICE B – Formulário de coleta de dados clínicos com indícios de probabilidade de cardiopatias.....	68
APÊNDICE C – Formulário de coleta de dados de exames gerais	68
APÊNDICE D – Formulário de coleta de dados do ecocardiograma.....	68
APÊNDICE E – Protocolo de atendimento clínico-cardiológico e ecocardiográfico para pacientes com fenda oral	68
ANEXO A – Aprovação do Estudo pela Comissão de Pesquisa e direção do HUOL /UFRN	85
ANEXO B – Aprovação do Estudo pelo Comitê de Ética e Pesquisa do HUOL/UFRN	86
ANEXO C – Solicitação de mudança no projeto de pesquisa	89
ANEXO D – Aceite do paper	90
ANEXO E – Application of high-resolution array platform for genome-wide copy number variation analysis in patients with nonsyndromic cleft lip and palate	87
ANEXO F – Risk factors and comorbidities in brazilian patients with orofacial clefts.....	99

1. INTRODUÇÃO

As anomalias (ou malformações) congênitas (AC) são defeitos estruturais em um único órgão ou em vários, determinados por fatores causais antes do nascimento, podendo ocorrer antes, durante ou após a concepção (1,2).

A incidência geral dessas malformações na América do Sul é de 5,0% (3). Em países com problemas socioeconômicos importantes, a real incidência não é conhecida e a população afetada carece de centros de referências que possam acolher e minimizar o sofrimento.

Em relação à etiologia, a Organização Mundial de Saúde (OMS) indica aproximadamente 10% dos óbitos no período neonatal relacionados às AC (4). Mundialmente, estas anomalias afetam aproximadamente um em cada 33 neonatos e são responsáveis pela incapacidade de 3,2 milhões de recém-nascidos por ano (5). De modo geral, as AC constituem uma das principais causas de mortalidade infantil. Quando esta não ocorre, o grande desafio no cuidado de saúde é lidar com as deficiências secundárias, que podem perpetuar na idade adulta (6).

Além dos aspectos relacionados à mortalidade infantil, as AC também estão implicadas na maior mortalidade hospitalar, morbidade e cronicidade. No Brasil, no ano de 2006, a mortalidade hospitalar na faixa etária pediátrica (de 0 a 19 anos), no grupo com AC, foi três vezes maior do que no grupo sem elas (1). Tal situação evidencia a urgência de novas políticas e estratégias que visem à redução dessa realidade (2).

O conhecimento das AC mais prevalentes e os possíveis fatores de risco associados podem permitir intervenção precoce, buscando a prevenção primária e repercutindo - positivamente - na qualidade de vida da criança e da família (7).

Dentre as AC, as que envolvem o arcabouço craniofacial afetam uma significativa proporção de pessoas no mundo (8, 9, 10, 11, 12, 13). Esse é um grupo bastante heterogêneo e complexo, cujas condições clínicas mais frequentes são as fendas orais (FOs) e a síndrome de deleção 22q11.2 (14).

As FOs são um grupo heterogêneo e importante de defeitos congênitos com prevalência de 1: 500 - 2.500 recém-nascidos vivos (12, 13, 15, 16, 17, 18)

dependendo da ascendência, localização geográfica, idade materna, exposições pré-natais e status socioeconômico (12). As principais diferenças populacionais foram relatadas, com as taxas mais altas em asiáticos e nativos americanos (1 em 500 nascimentos) e a menor taxa em africanos (1 em 2.500 nascimentos) (12).

As FOs decorrem de etiologias genéticas ou ambientais no período da formação da maxila e palato, no primeiro trimestre de gestação (12). Estas podem ser decorrentes de alterações da diferenciação celular e/ou da fusão dos processos faciais e/ou palatinos (12, 19). Em aproximadamente 70% dos casos, as FOs podem ter apresentação isolada (não-sindrômica), sendo as demais associadas a outros defeitos congênitos (sindrômicas) (6, 12, 16). De acordo com Fogh-Andersen (1942) (20), as FOs são classificadas em fenda labial (FL), fenda palatal (FP) e fenda labiopalatal (FLP).

Na maioria dos casos, a FOs tem apresentação clínica isolada, contudo, 30% dos casos apresentam malformações associadas (12, 18, 21, 22, 23). A alta prevalência de malformações sublinha a necessidade de exame sistemático e investigação clínica minuciosa (18). Ainda, a mortalidade precoce nos primeiros dias de vida dos pacientes com FO é estimada em 10-15% na literatura (12).

As FOs são reconhecidas pela OMS como um problema de saúde pública (10). No Brasil, existem problemas no registro epidemiológico de AC. A despeito disso, uma estimativa recentemente publicada previu o nascimento de 2.900 a 4.000 crianças com FO no país em 2011(17). No estado do Rio Grande do Norte (RN), um levantamento realizado entre 2000 e 2005 - utilizando as notificações feitas ao Ministério da Saúde, através do Sistema de Informações sobre Nascidos Vivos (SINASC) - revelou uma prevalência de FO na ordem de 0,49:1.000 nascidos vivos (24). São estimados que a cada ano nasçam cerca de 100 a 120 crianças com FO. Entretanto, não existe, até o momento, estudo epidemiológico específico para as FOs no estado.

A incidência de malformações associadas às FOs varia amplamente na literatura, de 1,5 – 63,0% (25) e depende do procedimento de diagnóstico utilizado (14, 26). Estima-se que ocorra em 30% dos casos de FL com ou sem FP e em 50% dos casos de FP (17). É de grande importância o diagnóstico dessa associação para

o acompanhamento clínico e manejo multiprofissional apropriado, assim como para o aconselhamento genético (17, 27).

Outro grupo importante de AC são as cardiopatias congênitas (CC), que estão entre as malformações mais comuns em fetos humanos e, como grupo, são o tipo mais frequente de malformação (07, 28, 29, 30) sendo as AC com maior prevalência ao nascimento (07, 29).

A Incidência de CC nos Estados Unidos da América (EUA) é cerca de 8 por 1.000 nascidos vivos (31). Constituem-se no principal grupo de causas de óbito infantil, sendo responsáveis por até um terço das mortes nos neonatos com malformações congênitas (07).

Em 2007, no Brasil, 6% dos óbitos em crianças menores de um ano de idade foram por CC (32). Diante destes dados alarmantes faz-se necessário o diagnóstico precoce das CC: para a comunicação às famílias, bem como o planejamento de medidas terapêuticas viáveis. Apesar disso, encontram-se poucos trabalhos com dados do Brasil (29).

A *American Heart Association* (AHA) define como defeitos cardiovasculares congênitos os problemas estruturais que se seguem à formação anormal do coração ou dos grandes vasos, com muitas variações anatômicas funcionais. Cita os defeitos menores, com resolução espontânea, e aqueles maiores, que levam a óbito fetal ou na infância e adolescência. É importante o conhecimento do grau de gravidade da doença para programação do manejo diagnóstico e terapêutico e melhoria em termos prognósticos (31).

Na América Latina, ainda há poucos trabalhos publicados que estudaram o perfil dos pacientes com CC, sendo a maioria relacionada ao Estudo Colaborativo Latino-Americano de Malformações Congênitas (ECLAMC). Estudo recente estimou a prevalência de CC em 25.757 novos casos/ ano, no Brasil (32).

As CC podem se apresentar isoladamente (80-85%), fazer parte de síndromes cromossômicas (5,0-10,0%) ou gênicas (3,0-5,0%), de associações bem estabelecidas ou ocasionais, serem determinadas por fatores genéticos, ambientais, infecciosos ou não. Quando isoladas, na maioria das vezes, têm herança multifatorial ou poligênica (29).

No que tange às duas anomalias congênitas, FO e CC, sabe-se que as malformações cardiovasculares estão entre as mais comuns AC em pacientes com FO (13, 14, 25, 33). Panamonta (2015) (13) em revisão sistemática, considerando o período de 1950 a 2015, incluiu nove artigos (sendo cinco estudos prospectivos e quatro retrospectivos) e encontrou: 598 cardiopatas em 5.707 pacientes com FO, com prevalência de CC em pacientes com FO variando entre 3,9 – 23,9%.

Dentre as malformações associadas mais frequentes em pacientes com FO, as CC representaram 47% nos pacientes da Jordânia (34); 51% em pacientes com FO no Paquistão (35); 45% na China (25) e 12,2% no estudo de Fakhim (2016) (14). A associação entre FO e CC varia de acordo com a população estudada, e a prevalência de CC com a duração e intensidade do achado do caso e a sensibilidade da técnica utilizada para o diagnóstico (18). O uso de ecocardiografia bidimensional ajudou no diagnóstico das CC, mesmo nos casos de defeitos muito pequenos; desse modo, as taxas de prevalência aumentaram, à medida que o diagnóstico foi aprimorado (18).

A prevalência de CC em crianças com FO é mais elevada do que na população pediátrica geral, variando de 1,3 - 27,0 % nos diferentes estudos (13, 36, 37). No que tange à distribuição das cardiopatias quanto ao tipo de FO, Panamonta (2015) (13) descreveu as CC mais frequentes em pacientes com FP do que em FL ou FLP, e os pacientes com FO sindrômicos apresentaram maior prevalência de CC do que os com FO não sindrômicos.

Segundo Calis (2017) (33), dentre os 178/1.134 (15,6%) pacientes identificados como portadores de anomalia cardíaca, 13,1% apresentaram status sindrômico. Fakhim (2016) (14) não encontrou diferença significativa entre o tipo de FO e as CC associadas ($p = 0,428$). Calis (2017) (33) observou anomalia valvar em 16,9% dos pacientes com FO, não encontrando também diferença significativa entre o tipo de FO e as CC associadas ($p > 0,05$), com exceção das anomalias valvulares (embora estas não terem sido observadas isoladamente).

Dentre os dois tipos mais comuns de CC nos pacientes com FO têm-se a comunicação interatrial (CIA) isolada e a comunicação interventricular (CIV) (13, 18, 37). Panamonta (2015) (13) encontrou CIA seguida da CIV em sua revisão

sistemática. Priyadharshini (2017) (18) igualmente, sendo em ambos os grupos de pacientes com FO, síndrômicos e não síndrômicos.

No estudo de Wyse (1990) (38), as anomalias conotruncais (truncus arteriosus, transposição dos grandes vasos da base, Tetralogia de Fallot, dupla via de saída de ventrículo direito) foram identificadas como sendo mais frequentes em pacientes com FO, sendo descrito também a CIA e CIV, bem como canal arterial patente (PCA), estenose valvar (aórtica e pulmonar), drenagem anômala (sistêmica e venosa) e defeito do septo atrioventricular (DSAV).

Outros autores descrevem: CIA, CIV, forame oval patente (FOP), PCA, Tetralogia de Fallot (T4F) (33, 39, 40, 41); truncus arteriosus, transposição dos grandes vasos da base (TGVB), hipertensão pulmonar (HP) (39); prolapso de valva mitral (PVM), estenose mitral, aneurisma pulmonar e achados de regurgitações valvares (mitral, tricúspide e aórtico) sem significado clínico (41); coarctação da aorta (18) e síndrome de hipoplasia de ventrículo esquerdo (26).

No estudo de Calis (2017) (33), múltiplas anomalias cardíacas foram identificadas em 74 (41,6%) pacientes, não se identificando diferença estatisticamente significativa nas taxas de incidência entre os casos que apresentaram uma única e múltiplas CC ($p = 0,446$).

A natureza da malformação cardiovascular em pacientes com FO não tem sido descrita com detalhes, nem o impacto da malformação cardiovascular nos mesmos tem sido avaliado (36). De fato, os estudos referentes a defeitos cardíacos em crianças com FO são usualmente anatômicos, incluindo achados ecocardiográficos (14, 25, 26, 33, 35, 37, 38, 41, 42, 43), havendo poucos estudos correlacionando achados clínicos e ecocardiográficos (18, 34, 36, 39, 40, 44).

As CC afetam a morbidade pré-operatória dos pacientes com FO. Uma vez que as AC podem acompanhar frequentemente um portador de FO, a presença e a gravidade delas podem indicar o tempo para o tratamento cirúrgico da FO e pode ser indicativo da ocorrência de complicações pós-operatórias (34).

A principal causa de morte entre lactentes com FO é CC (13, 43). Van Nunen (2014) (43) encontrou como causas de morte em pacientes com FO, malformações: cardíacas (40,6%), via aérea/pulmão (15,6%) e sistema nervoso (15,6%). Em seu

estudo sobre mortalidade nos pacientes com FO, observou que a taxa de mortalidade infantil (TMI) elevada em pacientes holandeses com FO é quase exclusivamente causada por malformações congênitas associadas, sendo que a CC foi relatada como a principal causa de morte entre lactentes com FO, responsável por cerca de 40% das mortes por tipos de fissura (43).

Ainda não têm sido encontrados estudos que descrevam e correlacionem achados clínicos, eletrocardiográficos e ecocardiográficos com a presença de alteração do ritmo cardíaco, cardiopatia congênita e/ou cardiopatia adquirida em pacientes com FO.

Nesse contexto, o presente trabalho objetivou descrever os achados da avaliação cardiológica clínica-eletrocardiográfica-ecocardiográfica, realizadas pelo mesmo cardiopediatra, em uma amostra de indivíduos com FOs no RN.

2. JUSTIFICATIVA

Malformações associadas são encontradas em 30% dos casos de FO (12, 18, 21, 22, 23), sendo as CC as mais encontradas nesse grupo de pacientes. A patogênese das FO e das CC envolvem tanto fatores genéticos como ambientais. A natureza da malformação cardiovascular em pacientes com FO não tem sido descrita com detalhes, nem o impacto da malformação cardiovascular, nos mesmos, tem sido avaliado (36).

Ainda, no estado do RN não existe, até o momento, estudo epidemiológico específico para as FOs e para as CC, isoladamente, ou em conjunto.

Assim, este estudo contribui universalmente sobre a associação de FO e cardiopatias, como também para o reconhecimento de características desse grupo de indivíduos no estado do RN. Portanto, os resultados obtidos serão úteis para o incremento da atenção à saúde global dos indivíduos com FO.

3. OBJETIVOS

3.1 OBJETIVO GERAL:

Avaliar a ocorrência de malformações cardiovasculares, em pacientes com fenda oral atendidos no Programa de Atendimento Multidisciplinar aos Pacientes com Fissuras Labiopalatais do Hospital Universitário Onofre Lopes (HUOL)/ Universidade Federal do Rio Grande do Norte (UFRN).

3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS:

- Descrever o perfil epidemiológico dos pacientes atendidos no Programa supracitado, do HUOL/UFRN, quanto ao sexo e o tipo de fissura;
- Verificar a frequência e o tipo de cardiopatias identificadas;
- Avaliar a frequência e o tipo de cardiopatias de acordo com o tipo de FO.

4. MÉTODOS

4.1 LOCAL DO ESTUDO

O estudo foi desenvolvido no Ambulatório de Referência do Programa de Atendimento Multidisciplinar aos Pacientes com Fissuras Labiopalatais do HUOL/UFRN e no Centro de Diagnóstico de Imagem (CDI) do HUOL/UFRN.

O HUOL/UFRN é a unidade de referência do estado para várias doenças e desordens pediátricas, onde são desenvolvidos inúmeros Programas Assistenciais Multidisciplinares, entre eles destaca-se o Programa de Atendimento Multidisciplinar aos Pacientes com Fissuras Labiopalatais.

No contexto da UFRN, o HUOL caracteriza-se como uma de suas Unidades Suplementares, servindo de suporte ao ensino, à pesquisa e à extensão. Conjuntamente com HUOL, a Maternidade Escola Januário Cicco (MEJC) e o Hospital Universitário Ana Bezerra (HUAB) integram de modo importante o Complexo Hospitalar e de Saúde (CHS) desta Universidade. Em nível nacional, essas unidades hospitalares compõem os 46 hospitais de ensino do Ministério da Educação.

No cenário do Rio Grande do Norte, o HUOL desempenha – especialmente - um papel significativo nos sistemas de educação e saúde do estado, sendo um dos maiores e mais importantes hospitais públicos prestadores de serviços ao Sistema Único de Saúde (SUS). Nesse sistema, o hospital está inserido como referência de média e alta complexidade em diversas áreas para todo o estado, além de ser uma unidade referenciada para as urgências cardiológicas para o referido Sistema. O CDI do HUOL reúne os serviços e equipamentos de imagem de tecnologia avançada.

4.2 CASUÍSTICA

O presente trabalho foi aprovado pela Comissão de Pesquisa e direção do HUOL /UFRN (Anexo A) e pelo Comitê de Ética e Pesquisa do HUOL/UFRN (CAAE: 30958114.7.0000.5292) (Anexo B). O termo de consentimento livre e esclarecido (TCLE) (Apêndice A) foi obtido de todos os responsáveis legais dos pacientes.

Trata-se de estudo e integrante do Projeto Crânio-Face Brasil (PCFB) (<http://www.fcm.unicamp.br/fcm/cranio-face-brasil/projeto-cranio-face-brasil>) (46), o qual é multicêntrico e multiprofissional, contando com diferentes áreas de atuação, incluindo a Base Brasileira de Dados Clínicos e Familiares de Fendas Orofaciais Típicas (BD), de indivíduos examinados por médico geneticista de maneira padronizada, garantindo maior precisão na caracterização dos casos.

Estudo prospectivo de corte transversal tendo como amostra de conveniência pacientes com FO acompanhados no Programa de Atendimento Multidisciplinar aos Pacientes com Fissuras Labiopalatais do HUOL/UFRN, Natal/RN, Brasil, no período de março/2013 a setembro/2014. Os indivíduos foram classificados de acordo com Fogh-Andersen (1942) (20) em portadores de FL, FP e FLP.

O cálculo amostral foi realizado assumindo que a prevalência de CC fosse de aproximadamente 13%, segundo Baptista (2007) (27); assim, uma amostra de 100 pacientes proporcionaria um erro da estimativa de cerca de 6% para a prevalência de CC e de aproximadamente 4,0% para a prevalência de cardiopatias específicas. Desse modo, a amostra desta pesquisa foi idealizada em 100 pacientes com FO atendidos no HUOL/UFRN.

Do total de 96 pacientes com FO, cadastrados no Programa, 70 foram incluídos neste estudo e avaliados por um único cardiologista pediátrico (GCPL) por meio de exame clínico, eletrocardiograma (ECG) e ecocardiograma, com posterior reavaliação.

Os critérios de exclusão foram pacientes com fenda de úvula e submucosa. As variáveis consideradas foram: idade, sexo, tipo de FO, indícios clínicos de probabilidade de cardiopatias (dados gestacionais, neonatais, familiares e pessoais) e achados eletro e ecocardiográficos.

Para a realização do ecocardiograma utilizou-se o equipamento Philips iE33 e HD11.XE (Philips Medical Systems, Andover, Massachusetts, USA) e para o ECG equipamento DIXTAL modelo EP-3 (DIXTAL Biomédica Indústria e Comércio Ltda, Brasil). As malformações cardiovasculares foram definidas baseadas na *AHA* (45). A gravidade das CC foi descrita conforme Hoffman & Kaplan (28) em leve, moderada e grave.

A abordagem estatística descritiva foi realizada utilizando o programa de dados SPSS versão 21.0 (IBM Inc., EUA). Os resultados foram expressos em tabelas de frequências e porcentagens.

4.3 AVALIAÇÃO CLÍNICA-ELETROCARDIOGRÁFICA-ECOCARDIOGRÁFICA

Quando se iniciou o estudo, os pacientes já haviam sido avaliados e eram acompanhados por pediatra geral, sem história de avaliação cardiológica prévia, nem como pré-operatório das cirurgias específicas para FO, pois não havia cardiopediatra no serviço e havia déficit importante deste profissional no estado do RN.

Após o início do estudo, os pacientes do Programa passaram a ser encaminhados para avaliação cardiológica como rotina nos pacientes com FO, sempre associando a clínica ao eletrocardiograma bem como ao ecocardiograma.

Os pacientes que já tinham realizado ecocardiograma previamente foram convidados para realização de novo exame com a cardiopediatra pesquisadora. Estes exames externos ficaram como controles e comparativos aos exames realizados pela pesquisadora.

Os exames positivos para cardiopatia foram encaminhados para seguimento especializado no Ambulatório de Cardiologia Pediátrica do HUOL/UFRN com a pesquisadora. Se fosse necessária a investigação do quadro cardiológico, para o bom seguimento clínico do paciente, seriam solicitados outros exames complementares (tomografia cardíaca, cateterismo cardíaco, etc), via SUS, sendo avaliados pela própria pesquisadora, para melhor orientação terapêutica do paciente. Regurgitações valvares com padrão fisiológico não foram incluídas nos achados ecocardiográficos.

Os pacientes já inseridos no Programa de Atendimento Multidisciplinar aos Pacientes com Fissuras Labiopalatais do HUOL/UFRN foram convidados para realizar avaliação cardiológica no Ambulatório de Especialidades Pediátricas do HUOL/UFRN. Inicialmente, os indivíduos tinham mensurados peso e estatura e realizado o eletrocardiograma, por técnicos de enfermagem. Em seguida, o atendimento era realizado pela pesquisadora por meio de consulta médica. Os

pacientes recebiam o TCLE, e, conforme aceitação de participação na pesquisa, foram encaminhados para realização de ecocardiograma com a pesquisadora.

A pesquisadora elaborou um formulário de coleta de dados clínicos com indícios de probabilidade de cardiopatias, de exames complementares e específico para o ecocardiograma (Apêndices B, C e D, respectivamente), visto não haver questionário validado para coleta de dados deste tipo de estudo.

A avaliação clínica constou de anamnese e exame físico pediátrico e cardiológico completos, seguidos de avaliação do eletrocardiograma e encaminhamento para realização de ecocardiograma. Este foi realizado pela própria pesquisadora. Após, foi programado retorno para conclusão do caso.

Os pacientes diagnosticados com cardiopatia ficaram em seguimento ambulatorial no setor de cardiopediatria, conjuntamente com a pediatria e equipe multidisciplinar do serviço. Aqueles sem CC foram encaminhados para acompanhamento pediátrico e retorno se necessário. Os que apresentassem fator de risco para síndrome metabólica, febre reumática ou alterações renais aos exames complementares, mesmo sem CC, eram orientados para seguimento cardiológico, devido à possibilidade de evoluir com cardiopatia adquirida e/ou fatores de risco cardiovascular (como hipertensão arterial) no *follow-up*.

4.4 PROCEDIMENTO PARA O ECOCARDIOGRAMA

Os exames de ecocardiograma foram realizados no Serviço de Ecocardiografia do CDI/HUOL/UFRN, equipado com dois aparelhos de ecocardiografia: Philips IE33 (Philips Medical Systems, Andover, MA) e Philips HD11.XE (Philips Medical Systems, Andover, MA). Ambos são dotados de:

- Software para cardiologia (adulto, pediátrico, neonatal e transesofágico), com o modo-M, color M-Mode, doppler colorido, doppler espectral (pulsado e contínuo) em tela inteira, mapeamento de fluxo a cores, função cine, função Power Doppler Direcional, Função Tissue Doppler (color e pulsado);
- 3D/4D Color para cardiologia;
- Software Dicom 3.0;

- 01 transdutor para cardiologia neonatal, 01 transdutor para cardiologia pediátrico, 01 transdutor para cardiologia adulto.

O ecocardiograma é um exame indolor e sem prejuízos aos pacientes. Para esse exame, os pacientes deitarão em um leito, e o examinador passará o transdutor em seu abdome, tórax e região supraesternal, com um gel que propicia a transmissão do feixe ultrassônico.

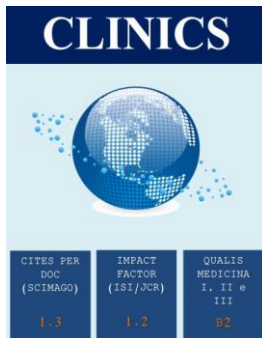
Quanto à técnica do exame, foram aplicados os cortes habituais e suas variações, pelas janelas: subcostal, apical, paraesternal e supraesternal. A análise segmentar foi padronizada, conforme laudo padrão (Apêndice D), sendo constituída por: tipo de situs cardíaco, posição do coração, conexões venoatriais, atrioventriculares e ventrículo-arteriais, integridade dos septos interatrial e interventricular, avaliação do arco aórtico e defeitos associados. O exame foi realizado pelo modo bidimensional, color e doppler com avaliação das câmaras cardíacas atriais e ventriculares, das valvas atrioventriculares, das dimensões cavitárias e da função sistólica e diastólica biventricular.

Os pacientes do começo do estudo (piloto) tiveram seus exames realizados no aparelho IE33. A pesquisadora observou que haveria melhor aquisição de imagens em cine, com maior duração das mesmas, no aparelho HD11.XE, podendo fazer banco de imagens estáticas e dinâmicas dos exames realizados. O armazenamento dos exames se mostrou importante para comprovação dos achados e, caso necessário, revisão dos mesmos.

Desse modo, todos os demais exames foram realizados no aparelho HD11.XE. Todos os exames realizados em ambos os aparelhos, bem como os laudos dos mesmos, foram arquivados em computador, onde só a pesquisadora tem acesso.

5. ARTIGO PRODUZIDO

5.1 O artigo **CARDIOVASCULAR ABNORMALITIES IN PATIENTS WITH ORAL CLEFT: A CLINICAL-ELECTROCARDIOGRAPHIC-ECHOCARDIOGRAPHIC STUDY** foi publicado no periódico Clinics que possui fator de impacto 1,17 e Qualis B2 da CAPES para área de Medicina II.



Cardiovascular abnormalities in patients with oral cleft: a clinical-electrocardiographic-echocardiographic study

Gisele C.P. Leite,¹ Marcela A.G. Ururahy,^{II} João F. Bezerra,^{II} Valéria M.G.D.M. Lima,^{II} Maria I.F. Costa,¹ Sandra S.C. Freire,¹ André D. Luchessi,^{II} Jussara M.C. Maia,¹ Maria E.F. Brito,¹ Vera L. Gil-da-Silva-Lopes,^{III} Adriana A. Rezende^{II,*}

¹Departamento de Pediatria, Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Natal, RN, BR. ^{II}Departamento de Análises Clínicas e Toxicológicas, Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Natal, RN, BR. ^{III}Departamento de Genética Médica, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, SP, BR.

Leite GC, Ururahy MA, Bezerra JF, Lima VM, Costa MI, Freire SS, et al. Cardiovascular abnormalities in patients with oral cleft: a clinical-electrocardiographic-echocardiographic study. *Clinics*. 2018;73:e108

*Corresponding author. E-mail: adrirezende@yahoo.com

OBJECTIVES: The present study aims to describe the clinical, electrocardiographic, and echocardiographic cardiographical findings in a group of patients with oral clefts.

METHODS: This is a prospective cross-sectional study on 70 children (age range from 13 days to 19 years) with oral clefts who attended the multidisciplinary program of a university hospital from March 2013 to September 2014. The patients were evaluated by a pediatric cardiologist and underwent detailed anamnesis, physical examination, electrocardiogram, and echocardiogram.

RESULTS: Sixty percent of the patients were male; 55.7% presented with cleft lip and palate, and 40.0% presented with health complaints. Comorbidities were found in 44.3%. Relevant pregnancy, neonatal, family and personal antecedents were present in 55.7%, 27.1%, 67.2%, and 24.3% of the patients, respectively. Regarding the antecedents, 15.2% of the patients presented with a cardiac murmur, 49.0% with a familial risk of developing plurimetabolic syndrome, and 6% with family antecedents of rheumatic fever. Electrocardiographic evaluation showed one case of atrioventricular block. Echocardiograms were abnormal in 35.7% of the exams, including 5 cases of mitral valve prolapse — one of which was diagnosed with rheumatic heart disease.

CONCLUSION: The finding of a family risk of developing plurimetabolic syndrome and a diagnosis of rheumatic heart disease indicates that patients with oral clefts may be more prone to developing heart disease. Thus, our findings highlight the importance of anamnesis and methodological triangulation (clinical-electrocardiographic-echocardiographic) in the investigation of patients with oral clefts and emphasize that cardiographical follow-up to evaluate acquired and/or rhythm heart diseases is necessary. This strategy permits comorbidity prevention and individualized planned treatment.

KEYWORDS: Oral Cleft; Congenital Heart Disease; Rheumatic Heart Disease; Mitral Valve Prolapse.

INTRODUCTION

Oral clefts (OCs) are a heterogeneous group of important congenital defects with a prevalence of 1:500-1000 live births (1,2). OCs are recognized by the World Health Organization (WHO) as a public health problem (3). In 70% of cases, OCs have an isolated presentation (non-syndromic), whereas the rest are associated with other congenital defects (syndromic) (1,2).

According to Fogh-Andersen (4), OCs are classified as cleft lip (CL), cleft palate (CP), and cleft lip and palate (CLP).

The incidence of malformations associated with OCs varies widely in the literature, ranging from 1.5% to 63% (5). These associations are extremely important for clinical follow-up and appropriate multidisciplinary management (6).

Cardiovascular malformations are one of the most common congenital anomalies in patients with CLP (5). Congenital heart disease (CHD) has been reported as the most common anomaly associated with OC in Jordan (7), Pakistan (8), and China (5).

CHD prevalence is higher in children with OC than in the general pediatric population and occurs at various rates (5.4%-15%) in different studies (9,10). These CHDs include atrial septal defect (ASD), ventricular septal defect (VSD), patent foramen ovale (PFO), patent ductus arteriosus (PDA), Tetralogy of Fallot (TOF), truncus arteriosus, transposition of the great vessels, and pulmonary hypertension (PH) (10-12). Studies regarding cardiac defects in children with OC are

Copyright © 2018 CLINICS – This is an Open Access article distributed under the terms of the Creative Commons License (<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>) which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium or format, provided the original work is properly cited.

No potential conflict of interest was reported.

Received for publication on May 9, 2017. Accepted for publication on October 16, 2017

DOI: 10.6061/clinics/2018/e108



usually anatomic and include echocardiographic findings (5,8,10-12), with a few studies correlating with clinical and echocardiographic findings (7,9,13-15). To the best of our knowledge, there is no study describing and correlating clinical, electrocardiographic, and echocardiographic findings with cardiac rhythm abnormalities, CHD, and/or AHD.

Thus, this study aims to describe the findings of a clinical-electrocardiographic-echocardiographic cardiologist evaluation in a sample of individuals with OCs.

PATIENTS AND METHODS

This is a prospective cross-sectional study on patients with OCs who attended the Multidisciplinary Program for Patients with CL and/or CP at University Hospital Onofre Lopes (HUOL)/Federal University of Rio Grande do Norte (UFRN), Natal/RN, Brazil, from March 2013 to September 2014. OCs were categorized into CL, CP, and CLP according to the Fogh-Andersen classification (4).

From the total 96 recruited patients, 70 were evaluated by the same pediatric cardiologist (GCPL) and underwent detailed anamnesis, physical examination, electrocardiogram (ECG) and echocardiogram. The evaluated variables were age, sex, OC type, clinical evidence of heart disease probability (pregnancy, neonatal, family and personal antecedents) and electrocardiographic and echocardiographic findings. The echocardiogram was performed using a Philips iE33 (Philips Medical Systems, Andover, Massachusetts, USA), and the ECG was performed using a DIXTAL model EP-3 (DIXTAL Biomédica Indústria e Comércio Ltda, Brazil). Cardiovascular malformations were defined according to the American Heart Association (16). The severity of CHD was described according to Hoffman and Kaplan (17) as mild, moderate, or severe.

Statistical analyses were performed using the SPSS software, version 21.0 (IBM Inc., USA). The results are expressed in tables of frequencies and percentages.

This study is part of Brazil's CranioFacial Project (<http://www.fcm.unicamp.br/fcm/cranio-face-brasil/projeto-cranio-face-brasil>) (18) and was approved by the Ethics and Research Committee of UFRN. All who were legally responsible for the participants signed a written consent form.

Ethics

This study was carried out according to the ethical standards of the committee responsible for human experimentation (institutional or regional) and the Helsinki Declaration of 1975, revised in 1983, according to the Institution's Ethics and Research Committee numbers (CAAE: 30958114.0000.5292).

RESULTS

Patients

Table 1 shows the clinical and diagnostic data of patients with OCs at the time of the pediatric cardiologist evaluation. Of the 70 patients, 42 (60.0%) were male. Patient ages ranged from 13 days to 19 years old (mean: 4.64 years). Ten (14.3%) patients were younger than a year old (one neonate and nine with ages ranging from 2 to 10 months).

Regarding OC type, 40 (55.1%) patients presented with CLP, and familial cleft history was noted in 32.9% of patients. A pediatrician evaluated all patients, and most had undergone some type of OC correction. Forty-five (64.3%) were evaluated by a geneticist, with two (2.9%) cases of diagnosed syndromes and nine (12.9%) cases suspected of having a syndrome.

Table 1 - Descriptive data of patients with oral clefts during clinical evaluation with pediatric cardiologist.

Variables	n=70	%
Sex		
Male	42	60.0
Type of oral cleft		
Lip/palate cleft	40	57.1
Palate cleft	15	21.4
Lip cleft	15	21.4
Oral cleft recurrence		
No	40	57.1
Yes	23	32.9
Unknown*	7	10.0
Submitted to surgical oral cleft correction		
Yes	55	78.6
No	11	15.7
Unknown*	4	5.7
Clinical evaluation by a geneticist		
Yes	45	64.3
Syndromic		
No	36	51.4
Yes	2 ⁺	2.9
Suspect	9 ⁺⁺	12.9
Unknown*	23	32.9

⁺ Noonan syndrome (n=1), arthrogyposis (n=1).

⁺⁺ Suspicious of Marfan (n=1), Goldenhar (n=1), Moebius (n=1), Noonan (n=1), undefined (n=5).

* In these cases, the patients were accompanied by relatives who did not know the answer to the requested information.

Regarding the clinical evaluation, 28 (40.0%) patients had general health complaints. Thirty-one (44.3%) patients presented with comorbidities (Table 2).

Cardiovascular evaluation

Table 3 shows the pregnancy (PrA), neonatal (NA), family (FA), and personal antecedents (PeA).

Among the nine (11.8%) pregnancies with malformations on obstetric ultrasound, four had OC diagnosis, and one was a suspected case of fetal cardiac malformation. This patient had to undergo surgical treatment of PDA evolving with PH.

FA was found in 47 (67.2%) patients, and six (6.0%) cases had rheumatic fever (RF). From the 10 FA of heart diseases, five were acquired (one case of RHD), and five were congenital. Regarding the congenital cases, one was a cousin with a cardiac murmur and a history of sudden death at 21 years old, and another was a cousin with a diagnosis of Down syndrome. Of the six cases with FA of RF, two were the patients' mothers, and one was an aunt with RHD who underwent cardiac surgery at 35 years of age.

Relevant PeA was present in 17 individuals (24.3%). Heart diseases occurred in two (8.7%). One presented with ASD noted on echocardiogram on the 5th day of life, which closed spontaneously during the 7th month of life, but the patient developed extrasystoles after the first year. The other patient presented with agenesis of the corpus callosum, PDA and PH by hyperflow and underwent surgical treatment of PDA, but the patient had persistent PH and was noted to have a large ASD on subsequent echocardiography.

In regard to ECG (Table 4), 16 (22.9%) patients were found to have abnormalities upon final evaluation, with 14 (87.6%)

**Table 2** - Description of complaints and comorbidities of patients with oral clefts during clinical evaluation with the pediatric cardiologist.

Variables	n	%
Complaints	n=70	%
Yes	28	40.0
Number of complaints	n=28	%
1	13	46.4
>1	15	53.6
Description of complaints	n=50*	%
Dyspnea on exertion	10	20.0
Cyanosis on exertion	9	18.0
Tachycardia crisis	7	14.0
Cardiac murmur	6	12.0
Chest pain	5	10.0
Recurrent upper airway infections	3	6.0
Syncope	2	4.0
Pain in lower members	2	4.0
Others	6	12.0
Comorbidities	n=70	%
Yes	31	44.3
Number of comorbidities	n=31	%
1	17	54.8
>1	14	45.2
Description of comorbidities	n=58[†]	%
Recurrent upper airway infections	13	22.4
Short stature	5	8.6
Asthma	5	8.6
Constipation	4	7.0
Recurrent tonsillitis	3	5.2
Seizures	3	5.2
Hyperactivity	3	5.2
Delay in neuropsychomotor development	2	3.4
Hearing deficit	2	3.4
Omphalocele	2	3.4
Others	16	27.6

*The total number of complaints is 50, since some patients presented with more than one complaint at the time of cardiological evaluation.

[†]The total number of comorbidities is 58, since some patients presented with more than one comorbidity.

cases of right bundle branch block (RBBB). A patient who underwent cardiological preoperative evaluation for OC correction presented with atrioventricular block (AVB) on ECG and is presently under investigation.

Echocardiography was performed in all patients, and 25 (35.7%) abnormalities were found in the examinations (Table 5). Of these, 18 patients had isolated abnormalities in the echocardiogram (10 VSDs, 5 mitral valve prolapses or MVPs, 2 PFOs, and 1 PDA), whereas seven had more than one alteration. In two cases, there was suspicion of left ventricular noncompaction (LVNC): one had arthrogryposis syndrome and died before the cardiac angiotomography (CT) was performed; the other underwent CT, and heart disease was ruled out.

Of the two syndromic patients, the one with Noonan syndrome presented with normal ECG but with a PFO on echocardiography. The aforementioned patient with arthrogryposis presented with RBBB and diffused alteration of ventricular repolarization in the ECG and dilatation of the ascending aorta, suspicion of LVNC and endomyocardial fibrosis in the right ventricle on echocardiogram. This patient died without undergoing CT.

Table 3 - Description of reported antecedents of patients with oral clefts during clinical evaluation with pediatric cardiologist.

Variables	n	%
Patients with positive pregnancy antecedents	39/70	55.7
Description of pregnancy antecedents	n=76¹	%
Maternal disease	25	32.9
Alcoholism	11	14.5
Maternal age (13 to 15 years old; 36 to 46 years old)	11	14.5
Malformations/abnormalities in obstetric ultrasound	9	11.8
Smoking	7	9.2
Consanguinity	4	5.3
Drug intake (ASA, captopril, valproic acid)	4	5.3
Vaccine for rubella	2	2.6
Exposure to radiation	1	1.3
Illicit drug use	1	1.3
Unknown (adoptive mother)	1	1.3
Patients with positive neonatal antecedents	19/70	27.1
Description of neonatal antecedents	n=33²	%
Respiratory condition	6	18.2
Neonatal icterus	6	18.2
Cardiac murmur	5	15.2
Prematurity	4	12.2
Low birth weight	3	9.0
Neonatal infection	2	6.0
Heart disease (PDA with Ibuprofen use + PFO)	1	3.0
Others	6	18.2
Patients with positive family antecedents	47/70	67.2
Description of family antecedents	n=100³	%
Arterial hypertension	20	20.0
Dyslipidemia	17	17.0
Diabetes mellitus	12	12.0
Heart disease	10	10.0
Congenital	5	
Acquired	5	
Syncope	7	7.0
Rheumatic fever	6	6.0
Cardiac murmur	5	5.0
Sudden death (<45 years of age)	4	4.0
Cancer (skin, kidney)	2	2.0
Epilepsy	2	2.0
Syndromes	2	2.0
Early infarction (<47 years of age)	2	2.0
Others	11	11.0
Patients with positive personal antecedents	17/70	24.3
Description of personal antecedents	n=23⁴	%
Respiratory	12	52.2
Heart disease	2	8.7
Neurological	2	8.7
Others	7	30.4
Total	23	100

ASA - Acetylsalicylic acid, PDA - patent ductus arteriosus, PFO - patent foramen ovale.

¹25 of 70 (35.7%) patients presented with more than one positive pregnancy antecedent at the time of cardiological evaluation; hence, the total n is 76.

²19 of 70 (27.1%) patients presented with more than one positive neonatal antecedent at the time of cardiological evaluation; hence, the total n is 33.

³28 of 70 (40.1%) patients presented with more than one positive family antecedent at the time of cardiological evaluation; hence, the total n is 100.

⁴5 of 70 (7.2%) patients presented with more than one positive personal antecedent at the time of cardiological evaluation; hence, the total n is 23.

One patient had a history of recurrent tonsillitis and hip joint pain, which was confirmed to be RHD with MVP. Appropriate treatment and prophylaxis for bacterial endocarditis were implemented, leading to improvement in the mitral valve injury and cure of arthralgia at follow-up.

**Table 4** - Distribution of electrocardiographic findings in patients with oral clefts.

Variables	n	%
Electrocardiograms performed	n=70	
1 exam	33	47.1
>1 exam	37	52.9
Evaluation at electrocardiography	n=70	
Normal	54	77.1
Abnormal	16	22.9
Electrocardiographic abnormalities	n=16	
Right bundle branch block (RBBB)	14	87.6
First degree heart block	1	6.2
RBBB + diffuse alteration of ventricular repolarization*	1	6.2

* Patient diagnosed with arthrogryposis.

Table 5 - Distribution of echocardiographic findings in patients with oral clefts.

Variables	n	%
Echocardiograms performed	n=70	
1 exam	60	85.7
>1 exam	10	14.3
Cardiovascular evaluation at echocardiography	n=70	%
Normal	45	64.3
Abnormal	25	35.7
Echocardiographic abnormalities*	n=25	%
Perimembranous VSD	10	40.0
MVP	5	20.0
PFO	2	8.0
PDA	1	4.0
Dilatation of the ascending aorta + suspected left ventricular noncompaction + suspected endomyocardial fibrosis in right ventricle*	1	4.0
VSD + PFO	1	4.0
PDA + PFO	1	4.0
MVP + PFO	1	4.0
ASD + extrasystoles	1	4.0
ASD + PH	1	4.0
VSD + PFO + PDA	1	4.0
Total	25	100
Severity of heart disease	n=25	%
Mild	23	92.0
Moderate (wide ASD + PH)	1	4.0
Severe (suspected left ventricular noncompaction + suspected endomyocardial fibrosis in the right ventricle*)	1	4.0

ASD - atrial septal defect, MVP - mitral valve prolapse, PDA - patent ductus arteriosus, PFO - patent foramen ovale, PH - pulmonary hypertension, VSD - ventricular septal defect.

* Findings in a patient diagnosed with arthrogryposis according to clinical and genetic evaluation. Patient expired before cardiac angiotomography was performed.

Regarding the severity of heart disease, 92% were classified as mild, 4% as moderate, and 4% as severe.

DISCUSSION

OCs are considered to be a public health problem by the WHO because of their prevalence and the need for integrated, long-term specialized and multidisciplinary treatment (3). In this context, the present study aimed to characterize individuals with OCs based on routine investigation

with methodological triangulation (clinical-electrocardiographic-echocardiographic findings). As a differential, non-anatomic variables were also included to evidence various risks that may influence global individual treatments. Notably, there was no separation in syndromic and non-syndromic OC; this strategy was adopted to widely characterize the cardiological findings.

The higher frequency of male patients with OCs was similar to that in some literature reports (2,10,12); however, other studies (6,13) showed a uniform distribution of OCs in both sexes.

This study showed that among the types of OCs, CLP had the highest frequency, followed by CP and CL, which corroborated the findings of Baptista (6). However, other studies found a higher prevalence of CP (3,9), and another report showed similar frequencies for all three types (5). Available literature regarding the correlation between OC type and associated malformations remains controversial worldwide (5,19), perhaps stemming from variations in study type, methods, and evaluated populations.

In the present study, 32.9% of cases had FA of OC, which was in accordance with the results of Baptista (6), and 23.0% of these cases were found to have family histories, reinforcing the hereditary nature of this malformation. Shafi (8) found family histories of OC in 23% of children with associated anomalies and in 22% of children without associated anomalies. Genetic susceptibility has been identified as a major component of CLP (19-21).

Most patients with OC do not present with any other abnormality (non-syndromic OC); however, a significant portion of patients (30-50%) still present with other malformations that may be related to an unknown syndrome due to the difficult access to genetic consultation and examinations (22). This scenario is common in Brazil, where access to genetic services is limited (18,23,24). Sun et al. (5) found that 30.1% of OC patients had other congenital anomalies, whereas Wyse et al. (11) found abnormalities in other systems in 87% of patients with OCs and CHD. According to Baptista (6), diagnosing these malformations is important for appropriate clinical follow-up and genetic counseling, even when the specific syndromic diagnosis is not conclusive.

The frequency of complaints related to cardiac abnormalities reinforced the need for a cardiological check-up in patients with OCs, as reported by Harry (9).

The recurrent upper airway infections and hearing impairment found in this population may be related to anatomic craniofacial abnormalities (6). The other described comorbidities may be associated with the combined occurrence of OC with other anomalies, and they need to be determined to improve clinical and therapeutic follow-up in these patients.

Cardiac anomalies may be isolated (80-85%) or part of chromosomal (5-10%) or genetic (3-5%) syndromes (25). The heart and palate may develop abnormally as a result of genetic and environmental factors during embryogenesis (9). Several genes have been identified in syndromes that affect the heart and palate; however, the fundamental molecular mechanisms of non-syndromic OCs remain relatively unexplored (9).

The findings of positive PrA, NA, FA, and PeA in a significant portion of the patients reinforce the importance of genetic and environmental factors in both anomalies (OC and cardiovascular malformations). Notably, 15.2% of the patients presented with a cardiac murmur, 49.0% presented with a familial risk of developing plurimetabolic syndrome



(arterial hypertension – 20.0%, dyslipidemia – 17.0%, and diabetes mellitus – 12.0%), and 6% had an FA of RF. These patients have OCs that showed abnormalities in 35.7% of the echocardiographic findings. This result reinforces the importance of a cardiologic exam in the evaluation and follow-up of these patients, including their preoperative evaluation (6,7,10,13), to screen for both congenital and acquired cardiovascular abnormalities; thus, cardiac risk evaluation in OC patients must also address the prevention of AHD.

The described PrA revealed risk factors for malformations in general, such as maternal diseases, malformations on ultrasound, alcoholism, and consanguinity. These are well-documented risk factors associated with OCs (1,6,26); however, the correlation of these malformations in OCs with CHD has been minimally explored. Harry (9) reported that no genetic marker or environmental factor was responsible for non-syndromic malformations of both the heart and palate.

There is a scarcity of literature regarding the nature of cardiovascular malformations in populations with OCs (9). In the present study, methodological triangulation of routine cardiologic evaluation was performed on a group of individuals with OCs.

In the context of the multidisciplinary program in which this study was developed, a pediatrician evaluated all patients, most of whom had already been subjected to OC correction without a previous cardiologic evaluation. Thus, an evaluation of cardiovascular malformations before the surgery, as done by Harry et al. (9), was not possible.

ECG findings of RBBB and AVB in children with OC were also described by Geis et al. (27). These findings are in accordance with the recommendation of Asani et al. (10), who suggested the need for ECG in children with OCs due to the relatively high rate of CHD in this population.

Aside from CHDs, OC patients were also found to have AHDs, with one confirmed case of RHD. Furthermore, there were five cases of MVP (one of which was due to RHD), and 5.2% of cases experienced recurrent tonsillitis. Barbosa et al. (12) described seven MVPs and one bicuspid aortic valve in 24 subjects. MVP and a bicuspid aortic valve, which may be acquired in origin, suggest that patients with OC may be more prone to developing AHD and RF; this increased risk may be related to an increased occurrence of recurrent upper airway infections.

The present study findings identified isolated VSD as the most frequent cardiac malformation, followed by PFO or ASD (isolated or associated with other cardiovascular abnormalities), which agrees with the literature (2,5,9,10). A predominance of mild heart disease was observed in the present study. Severe CHDs cause early death, and without early tracking, they are not diagnosed.

In Brazil, congenital defects have consistently been the second highest cause of perinatal death, contributing to 13% of deaths in the year 2000 (28). CHDs are responsible for up to one-third of deaths in neonates with congenital malformations (29). Early diagnosis of CHD and referral to specialized medical centers for treatment are important measures to avoid deaths. It is therefore necessary to improve pre-natal and newborn care, including fetal cardiac evaluation, and utilize the basic health network (30). Amorim et al. (25) emphasized the need for preparation of the health system to diagnose and treat heart diseases earlier, reducing health costs and minimizing the emotional distress of affected patients and their families.

Thus, the present study results suggest an extension of cardiologic evaluations that includes not only using echocardiogram in patients with OC but also performing screening by fetal echocardiogram in all patients with an intrauterine diagnosis of OC. This screening may be added to routine clinical, electrocardiographic and echocardiographic evaluations for early tracking of cardiovascular malformations in all patients with OC. Therefore, a line of cardiologic care in children with OC that includes the early tracking of cardiovascular alteration by fetal echocardiogram, triangular evaluation at birth (clinical-electrocardiographic-echocardiographic), and cardiologic follow-up to evaluate acquired and/or rhythm heart diseases is necessary.

The finding of family risk of developing plurimetabolic syndrome and RHD diagnosis indicates that patients with OC may be more prone to developing AHD. Thus, our findings highlight the importance of anamnesis with attention to personal and family risk factors and methodological triangulation (clinical-electrocardiographic-echocardiographic) in the investigation of patients with OC and the necessity of cardiologic follow-up to evaluate acquired and/or rhythm heart diseases. This strategy enables CHD tracking, arrhythmia determination, and AHD prevention and adopts actions to prevent comorbidities and plan individualized treatments. Furthermore, the significant presence of MVP may indicate an increased risk of RHD in individuals with OC, which is a topic that may have to be addressed and evaluated in future studies.

■ ACKNOWLEDGMENTS

We are thankful to the patients, families, and staff members of the Pediatrics Specialties Ambulatory Centre and the Image Diagnosis Centre (especially Antônio José Freire and Adriana Kely de Medeiros Rocha) from HUOL/UFRN and to the School of Maternity Januário Cicco (represented by Health Assistant Administrator Dr. Maria da Guia de Medeiros). We also thank electrophysiologist Octávio de Souza Silva Neto. GGPL and JFB were recipients of scholarships from CNPq/Brazil; MAGU, VMGDML, and ADL were recipients of scholarships from CAPES/Brazil. VLGSL is supported by CNPq/Brazil (#304455/2012-1).

■ AUTHOR CONTRIBUTIONS

Rezende AA was the principal investigator and supervised the study. Gil-da-Silva-Lopes VL and Rezende AA designed the study. Leite GC was the pediatric cardiologist who evaluated the patients. Leite GC, Costa MI, Freire SS, Maia JM and Brito ME diagnosed the patients. Leite GC, Ururahy MA, Bezerra JF, Lima VM and Luchessi AD recruited the patients and gathered and analyzed the data. Leite GC, Gil-da-Silva-Lopes VL and Rezende AA interpreted the data. Leite GC, Ururahy MA, Gil-da-Silva-Lopes VL and Rezende AA wrote and revised the manuscript. All authors have read and approved the final version of the manuscript.

■ REFERENCES

1. Gil-da-Silva-Lopes VL, Monlleo IL. Risk factors and the prevention of oral clefts. *Braz Oral Res.* 2014;28 Spec No:1-5.
2. Chan KW, Lee KH, Pang KK, Mou JW, Tam YH. Clinical Characteristics of Children with Orofacial Cleft in a Tertiary Centre in Hong Kong. *HK J Paediatr (new series).* 2013;18:147-51.
3. Organization WHO. Global strategies to reduce the health-care burden of craniofacial anomalies: report of WHO meetings on International Collaborative Research on Craniofacial Anomalies: Geneva, Switzerland, 5-8 November 2000; Park City, Utah, USA 24-26 May 2001: Human Genetics Programme, Management of Noncommunicable Diseases, World Health Organization; 2002.



4. Fogh-Andersen P. Inheritance of harelip and cleft palate; contribution to the elucidation of the etiology of the congenital clefts of the face. Nyt nordisk Forlag. 1942.
5. Sun T, Tian H, Wang C, Yin P, Zhu Y, Chen X, et al. A survey of congenital heart disease and other organic malformations associated with different types of orofacial clefts in Eastern China. *PLoS One*. 2013;8(1):e54726, <http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0054726>.
6. Baptista EV. Malformações congênitas associadas à fissura labial e/ou palatal em pacientes atendidos em um serviço de referência para tratamento de defeitos da face: um estudo de série de casos [dissertation]. Recife, Brazil: Instituto Materno Infantil Prof Fernando Figueira. 2007:67.
7. Aqrabawi HE. Facial cleft and associated anomalies: incidence among infants at a Jordanian medical centre. *East Mediterr Health J*. 2008;14(2):356-9.
8. Shafi T, Khan MR, Atiq M. Congenital heart disease and associated malformations in children with cleft lip and palate in Pakistan. *Br J Plast Surg*. 2003;56(2):106-9, [http://dx.doi.org/10.1016/S0007-1226\(03\)00044-4](http://dx.doi.org/10.1016/S0007-1226(03)00044-4).
9. Harry BL, TeBockhorst S, Deleviannis FW. The impact of congenital cardiovascular malformations on the assessment and surgical management of infants with cleft lip and/or palate. *Cleft Palate Craniofac J*. 2013;50(3):323-9, <http://dx.doi.org/10.1597/12-131>.
10. Asani M, Aliyu I. Pattern of congenital heart defects among children with orofacial clefts in Northern Nigeria. *J Cleft Lip Palate Craniofac Anomal*. 2014;1(2):85-7, <http://dx.doi.org/10.4103/2348-2125.137895>.
11. Wyse RK, Mars M, Al-Mahdawi S, Russell-Eggitt IM, Blake KD. Congenital heart anomalies in patients with clefts of the lip and/or palate. *Cleft Palate J*. 1990;27(3):258-64, [http://dx.doi.org/10.1597/1545-1569\(1990\)027<0258:CHAI PW>2.3.CO;2](http://dx.doi.org/10.1597/1545-1569(1990)027<0258:CHAI PW>2.3.CO;2).
12. Barbosa MM, Rocha CM, Katina T, Caldas M, Codorniz A, Medeiros C. Prevalence of congenital heart diseases in oral cleft patients. *Pediatr Cardiol*. 2003;24(4):369-74, <http://dx.doi.org/10.1007/s00246-002-0335-9>.
13. Otaigbe BE, Akadir OA, Eigbobo JO. Clinical and echocardiographic findings in an African pediatric population of cleft lip/palate patients: A preliminary report. *Nig J Cardiol*. 2013;10(1):6-8, <http://dx.doi.org/10.4103/0189-7969.118574>.
14. Jajja M, Gilani A, Cawasji ZF, Imran S, Khan MS, Hashmi SS, et al. Oral clefts: a review of the cases and our experience at a single institution. *J Pak Med Assoc*. 2013;63(9):1098-102.
15. Altunhan H, Annagür A, Konak M, Ertugrul S, Örs K, Koç H. The incidence of congenital anomalies associated with cleft palate/cleft lip and palate in neonates in the Konya region, Turkey. *Br J Oral Maxillofac Surg*. 2012;50(6):541-4, <http://dx.doi.org/10.1016/j.bjoms.2011.08.001>.
16. Thom T, Haase N, Rosamond W, Howard VJ, Rumsfeld J, Manolio T, et al. Heart disease and stroke statistics—2006 update: a report from the American Heart Association Statistics Committee and Stroke Statistics Subcommittee. *Circulation*. 2006;113(6):e85-151, <http://dx.doi.org/10.1161/CIRCULATIONAHA.105.171600>.
17. Hoffman JI, Kaplan S. The incidence of congenital heart disease. *J Am Coll Cardiol*. 2002;39(12):1890-900, [http://dx.doi.org/10.1016/S0735-1097\(02\)01886-7](http://dx.doi.org/10.1016/S0735-1097(02)01886-7).
18. Monlleo IL, Fontes MI, Ribeiro EM, de Souza J, Leal GF, Felix TM, et al. Implementing the Brazilian database on orofacial clefts. *Plast Surg Int*. 2013;2013:641570, <http://dx.doi.org/10.1155/2013/641570>.
19. Cardoso M, Bezerra J, Oliveira G, Soares C, Oliveira S, Souza K, et al. MSX1 gene polymorphisms in non-syndromic cleft lip and/or palate. *Oral Dis*. 2013;19(5):507-12, <http://dx.doi.org/10.1111/odi.12033>.
20. Shkoukani MA, Chen M, Vong A. Cleft lip—a comprehensive review. *Front Pediatr*. 2013;1:53, <http://dx.doi.org/10.3389/fped.2013.00053>.
21. Bezerra JF, Oliveira GH, Soares CD, Cardoso ML, Ururahy MA, Neto FP, et al. Genetic and non-genetic factors that increase the risk of non-syndromic cleft lip and/or palate development. *Oral Dis*. 2015;21(3):393-9, <http://dx.doi.org/10.1111/odi.12292>.
22. Souza J, Raskin S. Clinical and epidemiological study of orofacial clefts. *J Pediatr*. 2013;89(2):137-44, <http://dx.doi.org/10.1016/j.jpeds.2013.03.010>.
23. Vieira TP, Sgardioli IC, Gil-da-Silva-Lopes VL. Genetics and public health: the experience of a reference center for diagnosis of 22q11.2 deletion in Brazil and suggestions for implementing genetic testing. *J Community Genet*. 2013;4(1):99-106, <http://dx.doi.org/10.1007/s12687-012-0123-z>.
24. Monlleo IL. Atenção a pessoas com anomalias craniofaciais no Brasil: avaliação e propostas para o Sistema Único de Saúde. 2008.
25. Amorim LF, Pires CA, Lana AM, Campos AS, Aguiar RA, Tibúrcio JD, et al. Presentation of congenital heart disease diagnosed at birth: analysis of 29,770 newborn infants. *J Pediatr*. 2008;84(1):83-90, <http://dx.doi.org/10.1590/S0021-75572008000100014>.
26. Watkins SE, Meyer RE, Strauss RP, Aylsworth AS. Classification, epidemiology, and genetics of orofacial clefts. *Clin Plast Surg*. 2014;41(2):149-63, <http://dx.doi.org/10.1016/j.cps.2013.12.003>.
27. Geis N, Seto B, Bartoszesky L, Lewis MB, Pashayan HM. The prevalence of congenital heart disease among the population of a metropolitan cleft lip and palate clinic. *Cleft Palate J*. 1981;18(1):19-23.
28. Monlleo IL, Gil-da-Silva-Lopes VL. Brazil's Craniofacial Project: genetic evaluation and counseling in the Reference Network for Craniofacial Treatment. *Cleft Palate Craniofac J*. 2006;43(5):577-9, <http://dx.doi.org/10.1597/04-203>.
29. Leite Dde L, Mizziara H, Veloso M. Malformações cardíacas congênitas em necropsias pediátricas: características, associações e prevalência. *Arq Bras Cardiol*. 2010;94(3):275-80, 294-9.
30. Brum Cde A, Stein AT, Pellanda LC. Infant mortality in Novo Hamburgo: associated factors and cardiovascular causes. *Arq Bras Cardiol*. 2015;104(4):257-65, <http://dx.doi.org/10.5935/abc.20140203>.

6. COMENTÁRIOS, CRÍTICAS E SUGESTÕES

Frente à escassez do conhecimento que se tem sobre o padrão de ocorrência e o tipo de malformações congênitas associadas aos portadores de FO no Brasil, e diante da existência de um centro de referência regional voltado ao atendimento dos pacientes com FO em Natal-RN, o presente estudo teve por propósito fornecer maiores informações sobre esse problema e, assim, melhorar o atendimento às necessidades dos pacientes fissurados.

O projeto de pesquisa inicial foi elaborado a partir da inserção do profissional cardiopediatra (a pesquisadora) no hospital universitário (HUOL/UFRN), sendo intitulado “Avaliação ecocardiográfica em crianças com fenda labial e/ou palatina isolada, para estudo de ocorrência de cardiopatia”. O objetivo primário do mesmo era avaliar a ocorrência de malformações cardiovasculares em pacientes com FO isolada (não sindrômicos), atendidos no Programa de Atendimento Multidisciplinar aos Pacientes com Fissuras Labiopalatais do HUOL/UFRN.

Dessa forma, propunha-se avaliar a ocorrência de cardiopatias em pacientes com FO isolada, atendidos em um Centro de Referência Regional, utilizando avaliação clínica cardiológica (consulta clínica + eletrocardiograma) e ecocardiográfica. Seria feita a descrição das cardiopatias ocorridas nos pacientes com FO, e, a partir dos resultados, buscar-se-ia traçar planos de seguimento clínico, terapêutico e de prevenção primária, de modo a reduzir o impacto na saúde pública em termos de morbidade e mortalidade, pelas malformações.

Diante da dificuldade de avaliação dos pacientes pelo geneticista no serviço universitário, não foi possível caracterizar a FO não sindrômica (isolada), sendo solicitada mudança no projeto (Anexo C). O estudo foi ampliado para todos os pacientes com FO (sindrômicos e não sindrômicos), mantendo o enfoque, com novo título "Alterações cardiovasculares em pacientes com fenda labial/palatina: estudo clínico-ecocardiográfico" e com resultados interessantes que teriam o mesmo caráter de publicação e de maior impacto, como programado no estudo anterior.

Com o progredir da pesquisa, a literatura internacional passou a adotar o termo Fenda Oral para os fissurados, de modo que a pesquisadora fez a

modificação nos textos, adotando o termo FO em vez de fenda ou fissura labial e/ou palatal.

O formulário de coleta de dados clínicos encontra-se no Apêndice B. Este embasou o atual Protocolo de atendimento clínico-cardiológico e ecocardiográfico para pacientes com FO (PACE), Apêndice C. O PACE padroniza o atendimento do modo pediátrico e cardiológico, e traz informações que contribuem para o levantamento de informações sobre os indivíduos.

O PACE clínico foi extrapolado aos pacientes cardiopatas passando a compor a ficha protocolar de primeiro atendimento dos pacientes no Ambulatório de Cardiopediatria do HUOL.

O PACE ecocardiográfico foi pioneiro no serviço de ecocardiografia do HUOL/UFRN, tornando-se padrão para os atendimentos fetais e pediátricos, e sendo adotado como modelo aos demais ecocardiogramas transtorácicos.

O PACE foi selecionado entre os seis melhores trabalhos para apresentação oral do trabalho intitulado “PROTOCOLO DE ATENDIMENTO EM AMBULATÓRIO DE PACIENTES CARDIOPATAS” no 14º Congresso Brasileiro de Ensino e Pesquisa em 2014, Campinas/SP, sendo muito elogiado pela Comissão Avaliadora.

Com relação aos outros centros integrantes do PCFB, o PACE foi apresentado em reunião científica anual com os coordenadores de cada centro, ocorrida na Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP)/ SP em 2014, sendo proposta, nessa oportunidade, a sistematização do PACE nos demais centros. O grupo de pesquisa da UFRN, em parceria com a UNICAMP, tornou-se o pioneiro no estudo da avaliação cardiológica específica em FO no PCFB.

Os indivíduos passaram a ser acompanhados pela pediatra de referência e pela cardiopediatra do Ambulatório de Especialidades Pediátricas do HUOL, havendo *feedback* entre estas especialidades por meio da discussão dos mesmos, presencialmente.

Os indivíduos que já tinham realizado ecocardiograma previamente (externo) foram convidados para realização de novo exame com a cardiopediatra pesquisadora. Esses exames externos ficaram como controles e comparativos aos exames realizados pela pesquisadora. Por exemplo, um paciente foi avaliado pela

pesquisadora com idade entre um e dois anos, fez ecocardiograma com achados dentro da normalidade, mas tinha exame prévio indicando FOP e/ou PCA e/ou CIV, que são cardiopatias com resolução espontânea ao longo da evolução clínica do mesmo. Esse relato indica que se fosse considerada somente avaliação momentânea do exame normal, não entraria na casuística de cardiopata, fato que evidencia importância de se fazer o exame cardiológico precocemente e se manter o seguimento do paciente.

Outro ponto importante que foi sugerido através da qualificação do mestrado, (aprovada em 21/05/2015) pela banca examinadora, foi de homogeneizar a amostra de pacientes, agrupando todos os que tivessem realizado avaliação clínica, eletrocardiográfica e ecocardiográfica (visto que alguns pacientes tinham ecocardiograma, mas não eletro e/ou avaliação clínica; e outros tinham esta, mas não o ecocardiograma), buscando um método de triangulação metodológica para avaliação dos mesmos.

Desse modo, foi produzido o artigo encaminhado para publicação “Cardiovascular Abnormalities in Patients with Oral Cleft: A Clinical-Electrocardiographic-Echocardiographic Study” na Revista Clinics.

Não foi atingido o N amostral previsto no início do estudo. Houve problemas de ordem técnica no atendimento dos pacientes com FO no HUOL/UFRN, no que tange à cirurgia, em 2013 - 2014, de modo que os pacientes ficaram, um tempo, ausentes do serviço, mesmo com o convite pela pesquisadora para avaliação cardiológica. Por outro lado, com a sugestão da banca de qualificação para homogeneizar a amostra pela triangulação metodológica, o N do estudo reduziu ainda mais.

Apesar das limitações metodológicas, a pesquisa contribuiu significativamente para o conhecimento científico no que tange às malformações cardiovasculares nos pacientes com FO, sendo o pioneiro na avaliação dos pacientes clínica-eletrocardiográfica e ecocardiográfica por examinador único. Isso possibilitou sugerir uma linha de cuidado cardiológica nos pacientes com FO (desde o diagnóstico fetal da FO) no Serviço Universitário, além de todo o cuidado multidisciplinar já estabelecido na literatura para estas situações clínicas.

Sabe-se que a qualidade da atenção às anomalias craniofaciais constitui uma importante preocupação no meio científico, porém, em todo o mundo ainda

persistem grandes incertezas e controvérsias, em relação às melhores condutas clínicas e cirúrgicas, no acompanhamento dos pacientes. É, ainda, comum a adoção de protocolos não uniformizados (47), embora no PCFB já tenha sido alcançado uma padronização, através de formulários específicos(48).

Nesse ínterim, o presente estudo revela a importância da atuação multiprofissional, integrada, e com sistematização nos atendimentos, buscando protocolos clínicos e de exames complementares para os pacientes com FO. Ao se associar avaliação pediátrica, genética, cardiológica com exames complementares (ECG, ecocardiograma e USG abdominal como *screening*, bem como outros conforme a necessidade de cada paciente), observa-se um aumento no diagnóstico de malformações associadas, melhorando a assistência ao paciente com FO, intervindo na sua história evolutiva e prognóstico, com impacto positivo na sua saúde global, e, por conseguinte, na saúde pública.

Os estudos iniciais foram realizados através do Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas (PPGCF) da UFRN e do Programa de Pós-Graduação do Centro de Ciências da Saúde (PPGCSA)/UFRN, sob coordenação da Professora Adriana Rezende, em colaboração com o Programa de Pós-Graduação em Farmácia da Universidade de São Paulo (USP), sob coordenação do Professor Mário Hirata.

Quando o projeto inicial foi escrito em 2013, já havia resultados prévios do grupo de pesquisa da Professora Adriana Rezende do PPGCF e do PPGCSA/UFRN, com dissertações de mestrado, doutorado e pós – doutorado, que subsidiaram a realização do presente projeto. Trabalhos prévios do grupo já tinham avaliado 158 pacientes com FO não-sindrômicos e 200 indivíduos sadios e suas respectivas mães (grupo controle GC).

Para a nova fase do projeto, a partir de 2013, os pacientes passaram a ser recrutados para realização de avaliação genética e cardiológica, USG abdominal total e ecocardiografia.

Desse modo a proposta de pesquisa aqui apresentada foi vinculada ao Projeto CAPES/PNPD/ PPGCF da UFRN, intitulado "*Estudo Genético em pacientes com Fendas Labiais e/ou palatais e de fatores de risco associados: ações preventivas à população do Estado do Rio Grande do Norte*" e buscou a

complementação de investigação diagnóstica dos pacientes abordados no Estudo Genético, sendo este o primeiro estudo do tipo nesses pacientes no RN.

Os resultados obtidos até o momento são de extrema importância, uma vez que relatam, pioneiramente, informações a respeito do perfil epidemiológico das FO no estado do RN e os fatores de risco associados, sejam ambientais ou genéticos.

Esse estudo fortalece e qualifica o pleito do HUOL/ UFRN de ter o referido programa cadastrado e incluído na Rede de Referência no Tratamento de Deformidades Craniofaciais e no SUS. Isso tem sido fortalecido pela iniciativa do Ministério da Saúde com a publicação da portaria que instituiu, no SUS, a Política Nacional de Atenção Integral em Genética Clínica, no Brasil.

Dentro desse ensejo, o objetivo dos pesquisadores da UFRN também inclui organização e ampliação do aconselhamento genético, exames de diagnóstico e tratamento das doenças de causa genética.

Em nível intelectual, a trajetória no mestrado constituiu-se em um marco científico e acadêmico em minha vida profissional. Direcionou-me a aprofundamento teórico e prático nos temas relacionados ao ensino, pesquisa e extensão.

As disciplinas creditadas (redação do trabalho científico, bioestatística, bioética, metodologia da pesquisa científica e etc) deram a base necessária para o *seguir em frente* de maneira confiante e incentivando a investigação científica. O grupo de pesquisa coordenado pela Professora Adriana na Faculdade de Farmácia/ LABMULT/LABIOMOL/UFRN, no qual este trabalho de pesquisa está inserido, ofereceram o suporte incondicional para que o aprendizado multiplicasse, extrapolando os conhecimentos adquiridos em sala de aula.

A busca por aperfeiçoamento/aprimoramento fez-me ingressar em cursos *online* de capacitação em pesquisa clínica, para que assim eu pudesse melhorar minha produção técnica, bem como a orientação acadêmica a outros alunos da graduação. Nesse contexto, meu ingresso no mestrado ocorreu paralelamente ao meu ingresso como professor substituto no Departamento de Pediatria da UFRN, conseguindo, em pouco tempo, aprovação em concurso público para professor efetivo do mesmo departamento.

A experiência acadêmica adquirida na docência e na Pós-graduação foi se complementando e se ajustando, permitindo que eu pudesse alcançar um nível mais aperfeiçoado nas atividades acadêmicas e científicas.

Além disso, a figura de minha coorientadora Dr^a Vera Lúcia Gil-da-Silva-Lopes, coordenadora do PCFB, foi de extrema importância, uma vez que esteve sempre atuante, o que tornou a experiência muito enriquecedora, contribuindo para uma formação mais completa. A aprovação no concurso para médico cardiologista pediátrico da Maternidade Escola Januário Cicco (MEJC) /UFRN e HUOL/UFRN somou à experiência como aluna da Pós-graduação e docente da cardiopediatria, nos hospitais universitários e de referência no estado, mostraram-me a beleza da arte do ensinar e aprender, e me deram experiência prática significativa e necessária para a condução da pesquisa.

Nesse período da Pós-graduação, pude experimentar orientações de monografias de alunos da graduação, participar de bancas de monografia, orientar trabalhos para eventos científicos e publicações, coordenar ações de extensão e grupos de pesquisa, bem como buscar parcerias com outros departamentos da UFRN (enfermagem, nutrição, psicologia, assistente social, farmácia, etc) para ações mais integradas e multidisciplinares. Essa vivência me incentiva a buscar contribuir com a Pós-Graduação, orientando trabalhos de mestrado e doutorado e fomentando a pesquisa na UFRN.

As metas programadas para esta pesquisa foram alcançadas e extrapoladas, uma vez que se conseguiu uma significativa melhora na assistência à criança com FO no Serviço Universitário, por meio de: busca a implementação da linha de cuidado pediátrico e cardiológico à criança com FO do serviço; parcerias com outros colaboradores em outros centros fora do âmbito da UFRN, promovendo o fluxograma do atendimento ao paciente com FO, para que o mesmo seja assistido de forma multidisciplinar, integrada, resolutive e o mais completa possível, desde o nascimento.

Listo a produção técnico-científica gerada pelo projeto de pesquisa:

1 Participação em congressos e premiações



Olá **GISELE CORREIA PACHECO LEITE!**

Recebemos com sucesso seus dados para inscrição de trabalho científico, em 19/09/2014, às 22:09:25. Código: **56**. Dados do trabalho:

Elaboração de protocolo de atendimento clínico-cardiológico e ecocardiográfico para pacientes com fenda labiais e/ou palatinas.

GISELE CORREIA PACHECO LEITE (Universidade Federal do Rio Grande do Norte); LEANY FARIAS DE MEDEIROS (Universidade Federal do Rio Grande do Norte); JESSICA AQUINO VILAÇA (Universidade Federal do Rio Grande do Norte); MARIA AUGUSTA AZEVEDO (Universidade Federal do Rio Grande do Norte); MARIA SARA GONÇALVES SANTIAGO (Universidade Federal do Rio Grande do Norte); VERA LÚCIA GIL-DA-SILVA-LOPES (Universidade Estadual de Campinas); ADRIANA AUGUSTO DE REZENDE (Universidade Federal do Rio Grande do Norte)

Tipo: Apresentação em Pôster. **Área:** Cardiologia.

Resumo: Objetivos: Elaboração de um protocolo de atendimento clínico-cardiológico e ecocardiográfico (PACE) para pacientes com fenda labiais e/ou palatinas (FLP) atendidos em Programa Multidisciplinar de Serviço de Referência, que possibilite descrever o perfil clínico-epidemiológico e a ocorrência de cardiopatias, bem como

os fatores de risco associados às malformações.

Metodologia: Revisão da literatura sobre: FLP e sua associação com malformações cardíacas; cardiopatias congênitas e fatores de risco (gestacionais, familiares e pessoais) associados; métodos de avaliação cardiológica ao ecocardiograma, com análise segmentar, avaliação estrutural, de função e do ritmo cardíaco. Conforme os achados bibliográficos, elaborado PACE específico para FLP em ambulatório de cardiologia e setor de ecocardiografia pediátricos. O protocolo foi aplicado no período de agosto/2013 a agosto/2014, sendo realizado os ajustes necessários.

Resultados: O PACE foi dividido em formulário clínico e ecocardiográfico, ambos com oito componentes assim distribuídos: Formulário Clínico - dados do preenchimento, dados do paciente, queixas, anamnese (antecedentes pessoais, gestacionais, familiares, neonatais), exame físico, exames complementares, diagnósticos e comentários/informações adicionais; Formulário ecocardiográfico - identificação do paciente, medidas cardíacas, função de ventrículo esquerdo, função de ventrículo direito, observação com relação à técnica do exame, descrição ecocardiográfica (análise segmentar), comentários adicionais, conclusão. As variáveis epidemiológicas e clínicas foram direcionadas à busca de fatores de risco para cardiopatias. Nos exames complementares, anotaram-se todos os exames realizados pelos pacientes, para correlação com os dados clínicos e formulação de hipóteses diagnósticas. No ecocardiograma, registraram-se os dados essenciais para o diagnóstico de cardiopatias.

Conclusões: O PACE apresenta as informações necessárias para o atendimento, diagnóstico e seguimento de crianças fissuradas com possível cardiopatia, constituindo-se em instrumento importante para padronização dos atendimentos. Este permite também levantamento dos dados e estudo de ocorrência de malformação cardíaca em pacientes com FLP. O uso deste instrumento possibilitará planos de seguimento clínico, terapêutico e de prevenção primária, reduzindo o impacto das malformações na saúde pública.

Palavras-Chave: fenda labiais e/ou palatinas, cardiopatia congênita

2



Prezado(a) Sr(a). GISELE CORREIA PACHECO LEITE (165521)

Seu trabalho de código **35969** e título "**Cardite Reumática Em Paciente Com Fenda Labiopalatina: Diagnóstico Ecocardiográfico**" foi alterado com sucesso. Você poderá verificar os detalhes da alteração em sua área restrita. Confira as alterações a seguir.

Atenciosamente,
Secretaria do Evento

Título:

Cardite Reumática Em Paciente Com Fenda Labiopalatina: Diagnóstico Ecocardiográfico

Inscrição Responsável: GISELE CORREIA PACHECO LEITE

Modalidade: Pôster

Eixo Principal: Ecocardiografia de cardiopatias congênitas

Texto (resumo): Introdução: Atualmente ainda estima-se cerca de 500.000 novos casos anuais de Febre Reumática (FR) no mundo, doença que tem como sequela a cardite, principal causa de cardiopatia adquirida na infância e adolescência. Por outro lado, as cardiopatias congênitas estão entre as anormalidades mais frequentes em pacientes com fenda labiopalatina (FLP), sendo descrito defeitos septais, anomalias

vasculares e lesões pulmonares. A apresentação de cardite reumática (CR) em portador de FLP é um achado incomum. Descrição do Caso: Paciente de 16 anos de idade compareceu a ambulatório de cardiopediatria para avaliação de rotina, devido programa de rastreamento de cardiopatias em Hospital Universitário. Antecedentes de 10 cirurgias prévias para correção da FLP, acompanhamento com endocrinologia por baixa estatura (estando em uso de Somatotropina) e dilatação pielocalicial em exame ultrassonográfico. Apresentava ecocardiograma (ECO) realizado em outro serviço, há cerca de 02 meses da data da consulta, constando prolapso de valva mitral (PVM) com degeneração mixomatosa da valva. Ao exame físico, sopro cardíaco em área mitral. Negava artrites, mas havia história de amigdalites de repetição e artralgia em região do quadril. Após 07 meses, paciente evoluiu com dispneia e prostração aos esforços, piorando a artralgia que o levou a suspender atividade de jogo de futebol. ECO revelava PVM, cleft mitral (?) e insuficiência aórtica leve. Iniciado profilaxia para FR. ECO de controle, após 02 meses da terapêutica, mostrou melhora significativa da lesão valvar mitral, e desaparecimento da lesão aórtica. Após 04 meses do início da terapêutica, paciente encontrava-se assintomático, com ausência da artralgia, tendo retornado às atividades laborativas de rotina, e mantendo seguimento multiprofissional. Comentários: A FR é uma doença que pode evoluir com complicações graves, especialmente por suas sequelas nas valvas cardíacas, responsáveis por 40% das cirurgias cardíacas no Brasil. A valvopatia mitral é achado incomum em pacientes com FLP. Descreve-se caso de paciente com FLP que apresentou CR, cujo diagnóstico precoce da doença possibilitou submeter o paciente à terapêutica específica, evitando-se progressão da patologia. As amigdalites de repetição a que os pacientes com FLP estão expostos, podem representar fator de risco para desenvolvimento de CR. Esse relato sugere estudos posteriores para investigação de cardiopatia adquirida em pacientes com FLP.

Apresentador: Gisele Correia Pacheco Leite

Autores:

> Gisele Correia Pacheco Leite - Leite, GCP - Universidade Federal do Rio Grande

do Norte - giselepac@gmail.com

> Filipe Marinho Pinheiro da Câmara - Câmara, FMP - Universidade Federal do Rio Grande do Norte - filipempdc@gmail.com

> João Felipe Bezerra - Bezerra, JF - Universidade Federal do Rio Grande do Norte - jfb_rn@hotmail.com

> Marcela Abbott Galvao Ururahy - Ururahy, MAG - Universidade Federal do Rio Grande do Norte - marcelaururahy@yahoo.com.br

> Thaynnan Thomaz Silva Arruda - Arruda, TTS - Universidade Federal do Rio Grande do Norte - thaynnantsa@hotmail.com

> Vinicius Xavier da Silva - Silva, VX - Universidade Federal do Rio Grande do Norte - viniciusxds@hotmail.com

> Felipe Braga de Lira - Lira, FB - Universidade Federal do Rio Grande do Norte - felipebragadelira@hotmail.com

> Vera Lúcia Gil-da-Silva-Lopes - Gil-da-Silva-Lopes, VL – Universidade Estadual de Campinas vlopes@fcm.unicamp.br

> Adriana Augusto de Rezende - Rezende, AA - Universidade Federal do Rio Grande do Norte - adrirezende@yahoo.com

Promoção:	Gerenciamento:	
	 CCM Worldwide Medical Congresses	Tel: (51) 3086 9100 Fax: (51) 3086 9101 www.ccmew.com

Desenvolvido por Zanda Multimeios da Informação

3



Olá **MAYRA MOREIRA** !

Recebemos com sucesso seus dados para inscrição de trabalho científico, em 31/07/2015, às 17:57:45. Código: **1370**. Dados do trabalho:

Alterações cardiovasculares em pacientes com fenda oral: estudo clínico-eletrocardiográfico- ecocardiográfico

GISELE CORREIA PACHECO LEITE (UFRN); MARCELA ABBOTT GALVÃO URURAHY (UFRN); JOÃO FELIPE BEZERRA (UFRN); THAYNNAN THOMAZ SILVA ARRUDA (UFRN); MAYRA MOREIRA (UFRN); MARIA IONE FERREIRA COSTA (UFRN); JUSSARA MELO DE CERQUEIRA MAIA (UFRN); MARIA EDINILMA FELINTO DE BRITO (UFRN); VERA LÚCIA GIL DA SILVA LOPES (Universidade Estadual de Campinas); ADRIANA AUGUSTO DE REZENDE (UFRN).

Tipo: Pôster Comentado

Área: Cardiologia

Resumo: Objetivo: descrever achados de avaliação cardiológica clínica-eletrocardiográfica-ecocardiográfica em um grupo de pacientes com fenda oral (FO) de Serviço Universitário. Método: análise dos dados de avaliação clínica com cardiologista pediátrico e dos exames complementares de portadores de FO atendidos no período de março/2013 a setembro/2014. Os pacientes foram avaliados quanto à idade, sexo, tipo de FO, indícios clínicos de probabilidade de cardiopatias (queixas, comorbidades, antecedentes pessoais e familiares) e achados eletro e ecocardiográficos. Resultados: De 70 pacientes incluídos, observou-se faixa etária variando de 13 dias de vida a 19 anos de idade; 42 (60,0%) eram do sexo masculino e 40 (57,1 %) apresentavam fenda labiopalatina. 28 (40,0%) pacientes

apresentavam queixas de saúde no momento da consulta com cardiologista pediátrico e comorbidades estiveram presentes em 31 (44,3%) pacientes. Antecedentes gestacionais relevantes ocorreram em 39 (55,7%) pacientes, neonatais em 19 (27,1%), familiares em 47 (67,2%), e pessoais em 17 (24,3%). Dentre os antecedentes familiares, os mais frequentes foram Hipertensão Arterial (20,0%), Dislipidemia (17,0%) e Diabetes melito (12,0%); e os pessoais, quadros respiratórios (52,2%) e cardiopatias (8,7%). Houve um caso de bloqueio atrioventricular. Ecocardiograma foi normal em 45 (64,3%) exames e alterado em 25 (35,7%), dentre os quais 5 (20,0%) apresentavam prolapso de valva mitral (PVM). Destes, um foi diagnosticado com cardite reumática. Conclusão: Os achados deste estudo sugerem a importância de anamnese com atenção a fatores de risco pessoais e familiares, bem como da avaliação cardiológica rotineira por triangulação metodológica (clínica, eletrocardiográfica e ecocardiográfica) na investigação diagnóstica de pacientes com FO. Essa estratégia possibilitaria medidas de prevenção de comorbidades e planejamento do tratamento individualizado. A presença significativa de PVM na amostra pode indicar aumento de risco para cardite reumática em indivíduos com FO e diregem para a necessidade de estudos específicos sobre o tema.

Palavras-Chave: Fenda oral. Cardiopatias. Ecocardiograma.

4

V CONNEGEM - Congresso Norte-Nordeste de Genética Médica, 2015

https://icongresso.itarget.com.br/useradm/_useradmin.php?op=2&k=4&id_tra=55&&lng=P

[Cod. Trabalho : 55] - E-PÔSTER

ANOMALIAS CONGÊNITAS

ALTERAÇÕES CARDIOVASCULARES EM PACIENTES COM FENDA ORAL: UM ESTUDO CLÍNICO-ECOCARDIOGRÁFICO

GISELE CORREIA PACHECO LEITE¹; MARCELA ABBOTT GALVÃO URURAHY¹; JOAO FELIPE BEZERRA¹; GUSTAVO HENRIQUE DE MEDEIROS OLIVEIRA¹; MARIA EDINILMA FELINTO DE BRITO¹; VERA LÚCIA GIL-DA-SILVA-LOPES²; ADRIANA AUGUSTO DE REZENDE¹.

1.UFRN, NATAL - RN - BRASIL; 2.UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS, CAMPINAS - SP - BRASIL.

Palavras-chave: Malformações cardiovasculares;Fenda Oral;Ecocardiograma

Resumo:

INTRODUÇÃO: Malformações cardiovasculares estão entre as mais comuns anomalias congênitas em pacientes com fenda oral. A natureza da cardiopatia e seu impacto neste grupo de indivíduos não tem sido descrita com detalhes. **OBJETIVOS:** descrever o perfil clínico-epidemiológico e cardiológico de um grupo de pacientes com fenda oral. **MÉTODOS:** Análise dos dados da avaliação clínica e dos exames complementares de indivíduos com fendas orais atendidos no Programa de Atendimento Multidisciplinar aos Pacientes Portadores de Fissuras Labiopalatais de Hospital Universitário, no período de março/2013 a setembro/2014. Foram avaliados idade, sexo, tipo de fenda, indícios clínicos de probabilidade de cardiopatias (queixas, comorbidades, antecedentes) e achados ecocardiográficos. **RESULTADOS:** De 81 pacientes inclusos, observou-se faixa etária variando de neonato a 35 anos; 50 (61,7%) eram do sexo masculino e 45 (55,6 %) dos pacientes apresentavam fenda labiopalatal. Dos pacientes tiveram mais de uma consulta com cardiologista pediátrico (42; 51,9%), 31 (38,3%) apresentaram queixas. Comorbidades estiveram presentes em 38 (46,9%) pacientes. Detectaram-se antecedentes gestacionais positivos em 47 (58%) indivíduos, neonatais em 25 (30,9%), familiares em 54 (66,7%), e pessoais em 22 (27,2%). Dentre os antecedentes familiares, os mais frequentes foram Hipertensão Arterial (20,1%), Dislipidemia (16%) e Diabete melito (12,6%). Entre os antecedentes pessoais, destacaram-se quadros respiratórios (57,1%) e neurológicos (11,4%). Houve um

caso de bloqueio atrioventricular. Ecocardiograma foi realizado em 74 (91,4%) pacientes, sendo 28 (37,8%) exames alterados. Confirmou-se um caso de prolapso de valva mitral por cardite reumática. **CONCLUSÕES:** Sugere-se avaliação cardiológica (clínica, ecocardiográfica, eletrocardiográfica) como um dos critérios de investigação diagnóstica complementar aos indivíduos com fendas orais, em vista da suscetibilidade às malformações cardiovasculares. Este procedimento permite intervir na evolução clínica e prognóstico, com impacto positivo na sua saúde global individual e, por conseguinte, na saúde pública.

5

IV Simpósio de Genética Clínica da UFRN , 2016 . BANNER

EXPERIÊNCIA ACADÊMICA EM MUTIRÃO DE ATENDIMENTO A PACIENTES PEDIÁTRICOS PORTADORES DE FENDA ORAL

Moreira, Franklin Q. S.¹; Leite, Gisele C. P.¹; Arouca, Juliana S. C.¹; Raulino, Ana Beatriz M.¹; da Silva, Heglayne P. V.²; Brito, Maria Edinilma F.¹; Ribeiro, Erlane M.³; Maia, Jussara M. C.¹; Gil-da-Sila-Lopes, Vera Lúcia⁴; Rezende, Adriana A.²

giselepac@gmail.com

¹*Departamento de Pediatria, Universidade Federal do Rio Grande do Norte;*

²*Departamento de Análise Clínica e Toxicológica, Universidade Federal do Rio Grande do Norte;* ³*Hospital Infantil Albert Sabin;* ⁴*Departamento de Genética Médica, Universidade de Campinas*

Introdução: As fendas orais (FO) são anomalias congênitas carentes de programas específicos. Este déficit tem sido amenizado recentemente pelo Projeto Crânio-Face Brasil (PCFB): multicêntrico, fornece acolhimento e atendimento aos pacientes com FO; atua também no campo da pesquisa, desenvolvendo novos conhecimentos sobre esta área. Regularmente são realizados mutirões de atendimento, os quais tornam propícia a análise do campo da pesquisa e sua influência sobre a vida dos pacientes abrangidos por ela e dos profissionais que nela atuam. **Objetivo:** Descrever a experiência acadêmica médica em mutirão de atendimento a pacientes pediátricos com FO em Serviço Universitário de Referência (SUR). **Materiais e métodos:** Os pacientes foram submetidos à avaliação clínica com geneticista no

contexto de um dia de atendimentos multidisciplinares (pediatra, serviço social). Paralelamente, estudantes da área da saúde acompanharam os atendimentos e fizeram coleta de dados em formulários padronizados pelo PCFB. **Resultados:** Mais que trabalhos acadêmicos, a pesquisa triunfa quando constrói novos conhecimentos, explorando os limites desse campo na busca de novas abordagens terapêuticas. Além de fornecer ganhos em saúde e ganho de experiência para discentes e profissionais envolvidos, proporciona grande carga de enriquecimento pessoal. Assim, é possível desenvolver nuances que somente a pesquisa fornece, incrementando a prática clínica destes futuros profissionais. Ainda, o contato com os familiares permite um tratamento holístico, à medida que é possível conhecer como esta alteração congênita afeta o desenvolvimento diário do indivíduo e suas relações familiares e sociais. Por fim, a máquina da pesquisa fornece esperança para os pacientes e oportunidade para áreas negligenciadas do conhecimento. **Conclusões:** Esta experiência permite concluir que a ciência, apesar de traduzida em números, não deve perder o seu lado humanitário e o seu objetivo primordial de fornecer maior qualidade de vida. Assim, o campo da pesquisa permite a evolução do conhecimento e uma nova perspectiva sobre verdades já estabelecidas.

Palavras-chaves: Relato de experiência, Pesquisa, Fenda oral, Medicina.

6

IV Simpósio de Genética Clínica da UFRN , 2016 . BANNER

MUTIRÃO DE ATENDIMENTO AO PACIENTE COM FENDA ORAL: UM RELATO DE EXPERIÊNCIA DO PROJETO CRANIO-FACE BRASIL

Arouca, Julianna S.C. ¹; Leite, Gisele C.P.¹; Raulino, Ana Beatriz M.¹; Moreira, Franklin Q.S.¹; da Silva, Heglayne P.V.²; Brito, Maria Edinilma F.¹; Maia, Jussara M.C.¹; Ribeiro, Erlane M ³; Gil-da-Silva-Lopes, Vera Lúcia³; Resende, Adriana A. ²

giselepac@gmail.com

¹*Departamento de Pediatria, Universidade Federal do Rio Grande do Norte;*

²*Departamento de Análise clínica e toxicológica, Universidade Federal do Rio Grande do Norte;* ³*Hospital Infantil Albert Sabin;* ⁴*Departamento de Genética Médica, Universidade de Campinas*

Introdução: O Projeto Crânio-face Brasil (PCFB) é multicêntrico e multiprofissional, incluindo indivíduos examinados por geneticista de maneira padronizada, garantindo maior precisão na caracterização dos casos. Objetiva reunir informações sobre tratamento e prevenção de anomalias craniofaciais, auxiliando os pacientes e familiares quanto à assistência necessária. **Objetivo:** Descrever mutirão de atendimento a pacientes com Fenda Oral (FO) por geneticista em Serviço Universitário de Referência (SUR) integrante do PCFB. **Materiais e métodos:** Relata-se a experiência de articulação entre dois centros do projeto multicêntrico, o evento ocorrido, as atividades exercidas e os principais desfechos. **Resultados:** Havia 144 pacientes com FO atendidos no período de janeiro/2013 a setembro/2016 em SUR integrante do PCFB, aguardando avaliação de geneticista quanto a caracterização de fenda isolada (não sindrômica) ou não. Fez-se articulação entre os dois hospitais universitários inseridos no PCFB e, deste modo, conseguiu-se organizar um mutirão de atendimentos aos pacientes em setembro/2016. Foram convocados 40 pacientes, comparecendo 34, nos períodos matutino e vespertino. Dos 34 pacientes avaliados, 26 (76,5%) não haviam tido a oportunidade de serem atendidos por geneticista antes. A idade dos pacientes atendidos variou de 02 meses a 17 anos, sendo 24 (70,6%) do sexo masculino. Os pacientes foram submetidos a avaliação clínica com geneticista no contexto de um dia de atendimentos multidisciplinares (pediatra, serviço social). Paralelamente, estudantes da graduação e pós-graduação da área da saúde acompanharam os atendimentos aprendendo exame clínico para avaliação de síndromes, obtendo dados em formulários padronizados pelo PCFB e coletando amostra de sangue para avaliação de DNA. **Conclusões:** Percebe-se que ações integrativas entre os centros do PCFB são de grande relevância e capazes de proporcionar resultados extremamente benéficos aos pacientes, à comunidade acadêmica e à continuidade do projeto, no tangente à coleta de dados para pesquisas que possam proporcionar avanços na esfera de atendimento e apoio a esses pacientes.

Palavras-chaves: Mutirão, Projeto Crânio-Face Brasil, Fenda Oral, Relato de experiência.

AValiação ULTRASSONOGRÁFICA DE PACIENTES COM FENDA ORAL PARA ESTUDO DA OCORRÊNCIA DE ANOMALIAS DE ÓRGÃOS ABDOMINAIS

Moreira, Franklin Q. S.¹; Leite, Gisele C. P.¹; Arouca, Juliana S. C.¹; Raulino, Ana Beatriz M.¹; da Silva, Heglayne P. V.²; Brito, Maria Edinilma F.¹; Freire, Sandra do Socorro C.¹; Maia, Jussara M. C.¹; Gil-da-Sila-Lopes, Vera Lúcia³; Rezende, Adriana A.² giselepac@gmail.com

¹*Departamento de Pediatria, Universidade Federal do Rio Grande do Norte;*

²*Departamento de Análise Clínica e Toxicológica, Universidade Federal do Rio Grande do Norte;* ³*Departamento de Genética Médica, Universidade de Campinas*

Introdução: As fendas orais (FOs) estão dentre os defeitos congênitos reconhecidos pela Organização Mundial de Saúde como um problema de saúde pública. A incidência de malformações associadas às FOs varia amplamente na literatura (1,5 - 63,0%), sendo de grande importância o diagnóstico desta associação para o acompanhamento clínico e manejo multiprofissional apropriado. **Objetivo:** Descrever achados ultrassonográficos de um grupo de pacientes com FO do Rio Grande do Norte. **Materiais e métodos:** Estudo retrospectivo de dados dos prontuários médicos e laudos de ultrassom (USG) abdominal realizados em pacientes com FO atendidos em Serviço Universitário de Referência (SUR). **Resultados:** De 144 pacientes atendidos com FO em SUR no período de fevereiro de 2011 a outubro de 2016, fez-se a coleta de dados de 132, dos quais 49 (37,1%) possuíam ao menos uma USG abdominal total. Destes exames, 36 (73,5%) apresentaram diagnóstico normal e 13 (26,5%) com descrição de alterações, sendo os órgãos com mais achados: rins 9,0 (70,0%), baço 2,0 (15,0%), vesícula biliar 1,0 (7,5%) e intestinos 1,0 (7,5%). As descrições ultrassonográficas encontradas foram: dilatações pielocaliciais isoladas (3,0), hidronefrose (1,0), litíase renal e disfunção miccional (1,0), hidronefrose e dilatação pielocalicial (1,0), ureterohidronefrose (1,0), cisto renal (1,0) e dilatação pélvica (1,0); baço acessório (1,0), esplenomegalia (1,0); colelitíase biliar (1,0) e hipermeteorismo (1,0). **Conclusões:** Apesar do número de dados coletados ainda não ser estatisticamente significativo, a análise prévia destes, por estudo piloto, permitiu a visualização de uma maior frequência relativa de malformações dos órgãos abdominais, o que poderá ser confirmado ou refutado com o decorrer da pesquisa. Estes achados parciais são um estímulo para a continuação das análises e para a exportação destas para outros centros de pesquisa em FO,

além de, futuramente, permitirem a construção de um conhecimento que no momento é escasso no Estado do Rio Grande do Norte, possibilitando, ao final, uma linha de cuidado para estes pacientes.

Palavras-chaves: Fendas orais, anomalias congênitas, malformações abdominais, Ultrassonografias.

8

IV Simpósio de Genética Clínica da UFRN , 2016 . BANNER

ACHADOS CLÍNICOS-EPIDEMIOLÓGICOS DE PACIENTES COM FENDA ORAL OPERADOS: ESTUDO PILOTO EM SERVIÇO UNIVERSITÁRIO DE REFERÊNCIA

Arouca, Julianna S.C.¹; Leite, Gisele C.P.¹; Raulino, Ana Beatriz M.¹; Moreira, Franklin Q.S.¹; da Silva, Heglayne P.V.²; Brito, Maria Edinilma F.¹; Maia, Jussara M.C.¹; Gil-da-Silva-Lopes, Vera Lúcia³; Resende, Adriana A. ² giselepac@gmail.com

¹*Departamento de Pediatria, Universidade Federal do Rio Grande do Norte;*

²*Departamento de Análise Clínica e toxicológica, Universidade Federal do Rio Grande do Norte;* ³*Departamento de Genética Médica, Universidade de Campinas*

Introdução: As fendas orais (FOs) são um grupo importante de defeitos congênitos reconhecidas pela Organização Mundial de Saúde como um problema de saúde pública. O tratamento das mesmas é cirúrgico, bem como dos problemas a ela associados, devendo ser iniciado em idade prematura, podendo durar vários anos e nem sempre com garantia de sucesso. A época a serem realizados durante a infância varia de acordo com a gravidade da deformação e com a linha seguida pela equipe de atendimento, para a melhor adaptação facial do paciente. **Objetivo:** Descrever achados clínico-epidemiológicos de um grupo de pacientes com FO operados e atendidos em Serviço Universitário de Referência (SUR). **Materiais e métodos:** Avaliação descritiva dos dados clínico-epidemiológicos de pacientes com FO operados no período de fevereiro/2013 a setembro/2016. **Resultados:** Dentre os 144 pacientes atendidos em SUR, 70 (48,6%) ainda não foram operados e 74 (51,4%) realizaram procedimento para reconstrução plástica da fenda. Destes operados, 26/74 (35,1%) eram do sexo feminino e 48/74 (64,9%) masculino, com

idade variando de 02 meses a 38 anos de idade (média 7,8). Os pacientes eram acompanhados por equipe multidisciplinar no pré e pós-operatório, a partir do diagnóstico da FO. **Conclusões:** Feito primeiro levantamento dos dados clínico-epidemiológicos de pacientes com FO operados e atendidos em SUR, através de projeto piloto, cujo enfoque foi documentar parte do amparo a estes pacientes até o presente momento no tangente ao acesso à cirurgia plástica reconstrutiva da condição de fenda. Este estudo piloto mostrou-se importante para a comunidade acadêmica, por abrir caminho e subsidiar novas pesquisas; e para os profissionais e pacientes do SUR, por possibilitar uma melhor estruturação dos serviços.

Palavras-chaves: Fenda Oral, Cirurgia Plástica, Reconstrução Labial, Levantamento epidemiológico.

9

IV Simpósio de Genética Clínica da UFRN , 2016 . **BANNER**

ACHADOS ELETROCARDIOGRÁFICOS EM PACIENTES COM FENDA ORAL ATENDIDOS EM SERVIÇO UNIVERSITÁRIO DE REFERÊNCIA: ESTUDO PILOTO

Coelho, Ormuz D. C.¹; Leite, Gisele C. P.²; Raulino, Ana Beatriz M.²; Arouca, Juliana S. C.²; Moreira, Franklin Q.S.²; da Silva, Heglayne P. V.³; Brito, Maria Edinilma F.²; Maia, Jussara M. C.²; Gil-da-Sila-Lopes, Vera Lúcia⁴; Rezende, Adriana A.³

giselepac@gmail.com

¹*Maternidade Escola Januário Cicco, Universidade Federal do Rio Grande do Norte;*

²*Departamento de Pediatria, Universidade Federal do Rio Grande do Norte;*

³*Departamento de Análise Clínica e Toxicológica, Universidade Federal do Rio Grande do Norte;* ⁴*Departamento de Genética Médica, Universidade de Campinas*

Introdução: As malformações cardiovasculares estão entre as mais comuns anomalias congênitas em pacientes com FO, havendo carência de estudos na literatura mundial sobre a natureza destas malformações nesta população de pacientes. Estudos sugerem a necessidade de realização de eletrocardiograma (ECG) para estes pacientes, dada a relativamente alta taxa de cardiopatia congênita (CC) entre estes. **Objetivo:** Descrever achados eletrocardiográficos em um grupo de pacientes com FO do Rio Grande do Norte atendidos em Serviço Universitário de

Referência. **Materiais e métodos:** Avaliação descritiva de ECGs de pacientes com FO realizados no período de fevereiro/2013 a dezembro/2014. **Resultados:** Obtiveram-se 92 ECGs de 57 pacientes com FO com idade variando entre 07 meses e 12 anos, sendo 11 descartados devido a qualidade ruim ou falta de derivação. Dos 81 ECGs considerados, 12 (14,8%) não apresentaram alterações enquanto 69 (85,2%) sim. Encontrou-se como mais frequente a alteração de repolarização ventricular (ARV), que abrangeu de V1 a no máximo V4, num total de 52/69 (75,3%) ECGs. Outros achados: 09/69 (13,0%) distúrbio de condução do ramo direito (DCRD); 06/69 (8,7%) arritmia sinusal, 02/69 (3,0%) onda “u”. Alguns ECGs com arritmia sinusal e onda “u” também apresentaram alterações de repolarização ventricular ou outros achados, num mesmo ECG. Não foi feita correlação com os tipos de FO, cariótipo ou achados ecocardiográficos por ser tratar de um estudo piloto. **Conclusões:** Este estudo piloto tem achados de alteração de repolarização ventricular e distúrbio incompleto do ramo direito, que no momento não têm força para decisão clínica devido à natureza observacional. Trabalhos mais antigos descreveram distúrbio incompleto do ramo direito, mas não a alteração de repolarização ventricular. Apesar da maior estatística de CC estrutural em fissurados, por este estudo piloto ainda não se pode fazer uma correlação forte entre alguma alteração de ECGs e fendas.

Palavras-chaves: Fenda Oral, anomalias congênitas, eletrocardiograma, cardiopatia congênita, arritmias.

Como perspectiva futura pretende-se: continuar o estudo, ampliando o seguimento cardiológico para desde o período fetal, mantendo o mesmo no período neonatal e infância/adolescência (uma vez que as cardiopatias adquiridas podem ser alvo deste grupo), estabelecendo uma linha de cuidado pediátrico-cardiológico a estes pacientes; buscar marcadores genético-moleculares que possam estar em associação com FO e CC; aumentar a amostra e fazer *follow-up* da mesma de modo mais prolongado com o intuito de confirmar os resultados e contribuir para a validação do método de triangulação metodológica na avaliação cardiológica desses pacientes (clínica-eletrocardiográfica-ecocardiográfica).

Após evolução desse estudo e divulgação da inserção cardiológica no Programa de Atendimento Multidisciplinar aos Pacientes com Fissuras Labiopalatais do HUOL/UFRN, houve um caso de paciente encaminhado para ecocardiograma fetal, devido ultrassom (USG) obstétrico de 29-30 semanas de idade gestacional revelar hidrocefalia e FO. O ecocardiograma fetal foi realizado com o feto em idade gestacional de 35 semanas e 06 dias (pelo USG obstétrico), pela pesquisadora, e evidenciou CC complexa: DSAV forma total tipo A de Rastelli com insuficiência leve da valva atrioventricular; CIA ampla tipo átrio único; suspeita de Isomerismo atrial; importante repercussão hemodinâmica (cardiomegalia, hipertrofia septal, aumento de ventrículo esquerdo, dilatação da artéria pulmonar, sinais de hiperfluxo pulmonar, lâmina pericárdica) e função sistólica biventricular preservada. O feto evoluiu para parto prematuro, tendo nascido gravíssimo, Apgar 4/9, fácies sindrômica, sendo intubado em sala de parto e encaminhado para Unidade de Terapia Intensiva (UTI) neonatal, indo a óbito precocemente, sem ter realizado ecocardiograma neonatal para definição da cardiopatia. Desse modo, não tendo sido incluído neste estudo.

Houve outros casos de neonatos com FO e suspeita de síndrome, evoluindo com sopro cardíaco após o nascimento na MEJC, Maternidade Escola de Referência (onde a pesquisadora atuava como médica cardiopediatra), em que não foi possível diagnóstico da CC, devido evolução para óbito precoce. Esse neonato não foi incluído no estudo, pois, em termos éticos, o projeto havia sido submetido para avaliação ambulatorial dos pacientes, não incluindo pacientes de UTI neonatal. Esses achados levaram o grupo de pesquisa querer ampliar a mesma, com estudos futuros, incluindo rastreamento de CC desde o intraútero, com ecocardiograma fetal dos pacientes diagnosticados com FO na gestação, e seguimento clínico após o nascimento. Os dados da literatura expostos abaixo justificam esta perspectiva futura.

KOGA (2016) (49) incluiu registros de UTI Neonatal em sua casuística e encontrou casos de CC complexas em 20 cardiopatas com FO: 5/20 dupla via de saída de ventrículo direito; 2/20 DSAV; 1/20 TGVB; 1/20 síndrome de hipoplasia do ventrículo esquerdo; 1/20 T4F. A porcentagem de pacientes com malformações associadas no seu estudo foi significativamente maior no levantamento regional realizado em instalações da UTI Neonatal e as porcentagens foram especialmente altas para CC e anormalidades cromossômicas. O autor comenta que os recém-

nascidos com FO requerem tratamento multidisciplinar desde o nascimento, e especialmente em casos de FLP e FP, os neonatos são transferidos da obstetrícia para a UTI neonatal logo após o nascimento no Japão, uma vez que o apoio especializado se faz necessário.

Embora a ocorrência de malformações associadas tenha sido semelhante entre o levantamento regional no estudo de Koga (2016) (49) e inquéritos internacionais, essa ocorrência foi menor na pesquisa nacional no Japão do que em pesquisas internacionais.

Pesquisas epidemiológicas anteriores no Japão sobre FO foram realizadas em cirurgia oral e instalações de obstetrícia. Assim, é possível que essas pesquisas não tenham incluído crianças gravemente afetadas que morreram precocemente ou que as malformações associadas das crianças afetadas não tenham sido diagnosticadas com precisão nessas pesquisas.

Por outro lado, a pesquisa regional de Koga (2016) (49) investigou os pacientes internados na UTIN, onde os exames detalhados são minuciosamente realizados e isso foi considerado o motivo pelo qual a taxa de diagnóstico dessas duas doenças foi maior. Com as melhorias na resolução de equipamentos de USG e habilidades técnicas neste aparelho, um aumento na taxa de diagnóstico pré-natal foi observado globalmente (KOGA, 2016) (49).

Considerando-se as CC isoladamente, Brum (2015) (30) observou que 13,4% dos óbitos em crianças menores de um ano de idade ocorreram por causas cardiovasculares, o que significou uma incidência de 1,8/1.000 nascidos vivos no Município de Novo Hamburgo/Brasil.

No entanto, em um estudo conduzido no Rio Grande do Sul/ Brasil, observou-se incidência de 25,8/1.000 quando 3.980 fetos foram rastreados por USG em um serviço de referência no período de 1996 a 2000 (Hagemann 2004) (51). No estudo de Brum, as crianças que foram a óbito em decorrência de cardiopatias não tinham sido diagnosticadas no pré-natal.

Quando analisados os dados em relação aos óbitos decorrentes de cardiopatias e as variáveis do estudo de Brum, 23,1% das crianças foram a óbito no período pós-neonatal, sendo que a cardiopatia não foi detectada no pré-natal e nem

diagnosticada e tratada ao nascimento. Se diagnosticadas precocemente, essas crianças poderiam ter sido encaminhadas para um serviço especializado e tratadas de forma diferenciada, evitando-se algumas mortes. Brum conclui que se faz necessário qualificar o pré-natal, o atendimento ao recém-nascido em nível hospitalar e na rede básica de saúde, assim como garantir exames de avaliação do coração fetal nas consultas de pré-natal para prevenção de óbitos por doenças cardiovasculares.

Hagemann (2006) (51) relata que o planejamento perinatal inegavelmente aumenta as chances de sobrevivência do feto malformado, chamando a atenção sobre a necessidade de qualificação pré-natal e da disponibilidade de tecnologias indispensáveis ao diagnóstico e tratamento precoces para a obtenção de índices progressivamente menores de mortalidade infantil. Amorim *et. al.* (2008) (52) alerta para a necessidade do sistema de saúde se preparar para diagnosticar e tratar mais precocemente os cardiopatas, reduzindo os gastos econômicos posteriores com as possíveis sequelas e desgaste emocional dos afetados e de suas famílias.

O estudo ultrassonográfico obstétrico é fundamental no rastreamento das alterações cardíacas fetais, mas não para o diagnóstico das mesmas. Programas de rastreamento precoce de CC têm sido desenvolvidos em vários países, com incremento importante da detecção pré-natal, como citado por Velsen (2015) (53) uma taxa de 59,7% de incremento no diagnóstico de cardiopatia. A ecocardiografia fetal é um método confiável para o diagnóstico intraútero de CC, possibilitando o tratamento precoce das alterações graves e uma adequada assistência ao neonato, corroborando para diminuição da mortalidade neonatal (maior índice de mortalidade neonatal está entre os cardiopatas, e principalmente aqueles que não são diagnosticados) e para prevenção de complicações.

Conforme Panamonta (2015) (54) as diferenças com relação ao método usado para diagnosticar CC pode ser uma causa de variação na prevalência das mesmas nos pacientes com FO. Em sua revisão sistemática, cinco estudos usaram ecocardiografia como ferramenta de triagem e as taxas de prevalência de CC, nesses estudos foram relativamente superiores aos que utilizam no diagnóstico de rotina ferramentas como exame físico, radiografia de tórax e eletrocardiografia.

Em 112/510 crianças (21,9%) com FO, a anomalia cardíaca foi capturada por ecocardiografia, dos quais 40/112 crianças (7,8%) tiveram exame cardiovascular normal, sendo estatisticamente significante ($p < 0,000$) (Priyadharshini, 2017) (55). Durante o exame clínico, 27 crianças (6,1%) no grupo não sindrômico e 13 crianças (20,4%) no grupo sindrômico não mostraram anormalidade cardíaca, mas o defeito cardíaco foi captado por ecocardiografia. Um exame físico integrado com ecocardiografia: aumenta o seu rendimento diagnóstico em $> 50\%$; acrescenta maior precisão; e anormalidades clinicamente relevantes, mas insuspeitas, são diagnosticadas em 20% dos pacientes. Isso mostra que todas as crianças com FO devem ser submetidas à ecocardiografia compulsória para descartar anomalia cardíaca, mesmo que o exame clínico seja inconclusivo (Priyadharshini, 2017) (55), principalmente no período neonatal.

Portanto, se uma fenda for diagnosticada antes ou após o nascimento, um exame médico detalhado e uma consulta por pediatra e geneticista clínico são imperativos (50). Segundo Van Nunen (50), seus resultados são aplicáveis em sessões de aconselhamento pré e pós-natal com os pais: um paciente com FO pode ser parte do espectro de anomalias congênitas ou uma síndrome que carrega um risco elevado de mortalidade.

Os achados acima sugerem a importância da avaliação cardiológica rotineira por ecocardiograma fetal e triangulação metodológica (clínica, eletrocardiográfica e ecocardiográfica) na investigação diagnóstica de pacientes com FO, como propusemos. Esta estratégia possibilitaria o rastreamento de cardiopatias congênitas, alterações no ritmo cardíaco e prevenção de cardiopatias adquiridas; permitiria medidas de prevenção de comorbidades e planejamento do tratamento individualizado.

REFERÊNCIAS

1. Zlot, R. Anomalias congênitas em natimortos e neomortos: o papel do aconselhamento genético [Dissertação]. Rio de Janeiro: Fundação Oswaldo Cruz, Instituto Fernandes Figueira, 2008.
2. Siedersberger Neto, P, Zhang L, Nicoletti, D, Barth FM. Mortalidade infantil por malformações congênitas no Brasil, 1996-2008. Rev AMRIGS, 2012; 56(2): 129-132.
3. Gomes, MRR, COSTA JSD. Mortalidade infantil e as malformações congênitas no Município de Pelotas, Estado do Rio Grande do Sul, Brasil: estudo ecológico no período 1996-2008. Epidemiol. Serv. Saúde. 2012; 21(1):119-128.
4. World Health Organization. Cherg-WHO: methods and data sources for child causes of death 2000-2013. Geneva: WHO; [Internet]. 2014a [acesso em 22/Out/2016]. Disponível em: http://www.who.int/healthinfo/global_burden_disease/ChildCOD_method_2000_2013.pdf.
5. Organización Mundial de la Salud – OMS. Anomalías congénitas. Nota descriptiva n° 370 [Internet]. OMS, 2015.[acesso em 21/Out/2016]. Disponível em: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs370/es/index.html>.
6. Higashi H, Barendregt JJ, Kassebaum NJ, Weiser TG, Bickler SW, Vos T. The burden of selected congenital anomalies amenable to surgery in low and middle-income regions: cleft lip and palate, congenital heart anomalies and neural tube defects. Arch Dis Child. 2014; 100:233–8.
7. Leite DL, Miziara H, Veloso M. Malformações Cardíacas Congênitas em Necropsias Pediátricas: Características, Associações e Prevalência. Arq Bras Cardiol, 2010; 94(3): 294 - 299.
8. American Cleft Palate-Craniofacial Association (ACPA). Parameters for Evaluation and treatment of patients with cleft lip/palate or other craniofacial anomalies. Chapel Hill, 30p. 1 (2000).

9. Mossey PA, Modell B. Epidemiology of oral cleft 2012: an international perspective. *Front Oral Biol* 2012; 16:1-18.
10. World Health Organization (WHO). Global strategies to reduce the health-care burden of craniofacial anomalies. Geneva: WHO; 148 p. (2002)
11. Carinci F, Scapoli L, Palmieri A, Zollino I, Pezzetti F. Human genetic factors in nonsyndromic cleft lip and palate: An update. *Int. J. Pediatr Otorhinolaryngol.* 2007; 71(10):1509-19.
12. Shkoukani MA, Chen M, Vong A. Cleft Lip – A Comprehensive Review. *Front Ped.* 2013; 1:53.
13. Panamonta V, Pradubwong S, Panamonta M, Chowchuen B. Prevalence of congenital heart diseases in patients with orofacial clefts: A systematic review. *J Med Assoc Thai.* 2015; 98(7): S22-7.
14. Abdollahi Fakhim S, Shahidi N, Lotfi A. Prevalence of associated anomalies in cleft lip and/or palate patients. *Iran J Otorhinolaryngol.* 2016; 28(85): 135-9.
15. Chan KW, Lee KH, PAng KKY, Mou JW, Tam YH. Clinical Characteristics of Children with Orofacial Cleft in a Tertiary Centre in Hong Kong. *HK J Paediatr* 2013;18:147–51.
16. Gil-da-Silva-Lopes VL, Monlleó IL. Risk factors and the prevention of oral clefts. *Braz Oral Res* 2014;28:1–5.
17. Monlleo, IL, Barros AGR, Fontes MIB, Andrade AKM, Brito GM, Nascimento DLL, et al. Diagnostic implications of associated defects in patients with typical orofacial clefts. *J Pediatr.* 2015; 91(5): 485-492.
18. Priyadharshini R, James S, Rathinasamy J, Mahalakshmi R, Gopalakrishnan G, Kharlukhi J. A cross-sectional study of cardiac anomalies among children with orofacial cleft – role of echocardiography. *Int J Contem Pediatr.* 2017; 4(4): 1274-77.
19. Rice DPC. Craniofacial Anomalies: From Development to Molecular Pathogenesis. *Curr Mol Med,* 2005; 5(7):699-722.

20. Fogh-Andersen P. Inheritance of harelip and cleft palate contribution to the elucidation of the etiology of the congenital clefts of the face. Copenhagen, Nyt nordisk forlag, A. Busck 1942.
21. Shprintzen RJ, Siegel-Sadewitz VL, Amato J, Golberg RB. Anomalies associated with cleft lip, cleft palate, or both. *Am J Med Genet.* 1985; 20:585 – 95.
22. Cohen Jr. MM. Syndromes with orofacial clefting. In: Wyszynski DF ed. *Cleft lip and Palate from Origin to Treatment.* New York: Oxford University Press; p.53 – 65. (2002).
23. Wulfsberg, EA. The orofacial examination: normal and abnormal findings. In: Wyszynski DF ed. *Cleft lip and Palate from Origin to Treatment.* New York: Oxford University Press; p.53 – 65. (2002).
24. Figueredo CJR, Vasconcelos WKS, Maciel SSSV, Maciel WV, Gondim LAM, Tassitano RM. Prevalence of oral clefts in the State of Rio Grande do Norte , Brazil , between 2000-2005. *Rev Paul Pediatr.* 2011; 29(1):29-34.
25. Sun T, Tian H, Wang C, *et al.* A Survey of Congenital Heart Disease and Other Organic Malformations Associated with Different Types of Orofacial Clefts in Eastern China. *PLoS One* 2013;8:e54726.
26. Koga H, Lida K, Maeda T, Takahashi M, Fukushima N, Goshi T. Epidemiologic Research on malformations associated with cleft lip and cleft palate in Japan. *PLoS One.* 2016; 11(2): e0149773.
27. Baptista EVP. Malformações Congênitas associadas à fissura labial e/ou palatal em pacientes atendidos em um serviço de referência para tratamento de defeitos da face: um estudo de série de casos. [Dissertação], Recife. Instituto Materno Infantil Professor Fernandes Filgueira, 2007.
28. Hoffman JI, Kaplan S. The Incidence of congenital heart disease: I postnatal incidence. *Pediatr Cardiol.* 1995; 16(4): 103-113.
29. Amorim, LFP. Apresentação das cardiopatias congênitas diagnosticadas ao nascimento: análise de 29.770 recém-nascidos. *J Pediatr.* 2008; 84(1): 83 – 90.

30. Huber J, Peres VC, Santos TJ, Beltrão LF, Baumont AC, Canedo AD, et al. Cardiopatias Congênitas em um Serviço de Referência: Evolução Clínica e Doenças Associadas. *Arq Bras Cardiol.* 2010; 94(3):313 - 318.
31. Mozaffarian D, Benjamin EJ, Go AS, Arnett DK, Blaha MJ, Cushman M, et al. on behalf of the American Heart Association Statistics Committee and Stroke Statistics Subcommittee. Heart disease and stroke statistics—2016 update: a report from the American Heart Association. *Circulation.* 2016; 133(4):e38-e360.
32. Pinto Júnior VC, Castello Branco KMP, Cavalcante RC, Junior WC, Lima JRC, Freitas SM, et al. Epidemiology of congenital heart disease in Brazil. *Braz J Cardiovasc Surg.* 2015; 30(2):219-24.
33. Calis M, Kara M, Ozgur F. Evaluation of the variety and incidence of cardiac anomalies associated with cleft lip and palate: a retrospective evaluation of 1134 patients. *Turk J Plast Surg.* 2017; 25(1):28-33.
34. Aqrabawi HE. Facial cleft and associated anomalies: Incidence among infants at a Jordanian medical centre. *East Mediterr Heal J* 2008;14:356–9.
35. Shafi T, Khan MR, Atiq M. Congenital heart disease and associated malformations in children with cleft lip and palate in Pakistan. *Br J Plast Surg.* 2003;56:106–9.
36. Harry BL, TeBockhorst S, Deleyiannis FW-B. The Impact of Congenital Cardiovascular Malformations on the Assessment and Surgical Management of Infants With Cleft Lip and/or Palate. *Cleft Palate-Craniofacial J.* 2013;50:323–9.
37. Asani M, Aliyu I. Pattern of congenital heart defects among children with orofacial clefts in Northern Nigeria. *J Cleft Lip Palate Craniofacial Anomalies.* 2014;1:85.
38. Wyse R, Mars M, Al-Mahdawi S, et al. Congenital Heart Anomalies in patients with cleft of the lip. *Cleft Palate-Craniofacial J.* 1990;27:258–64.
39. Altunhan H, Annagür A, Konak M, et al. The incidence of congenital anomalies associated with cleft palate/cleft lip and palate in neonates in the Konya region, Turkey. *Br J Oral Maxillofac Surg.* 2012;50:541–4.

40. Raheel M, Jajja N, Ghani A, *et al.* Oral Clefts : A review of the cases and our experience at a single institution. *J Pak Med Assoc.* 2013;63:1098–102.
41. Christabel A, Sharma R, Parameswaran A, Ramanthan M. Incidence of cardiac anomalies in 2150 consecutive cleft patients – a routine of echocardiographic evaluation. *Oral Maxillofac Surg.* 2013; 42(10):1195.
42. Barbosa MM, Rocha CMG, Katina T, Caldas M, Codorniz A, Medeiros C. Prevalence of congenital heart diseases in oral cleft patients. *Pediatr Cardiol.* 2003; 24:369-374.
43. Van Nunen DPF, van den Boogaard MJH, Don Griot JPW, Ruttermann M, van den Veken LT, Breugem CC. Elevated infant mortality rate among Dutch oral cleft cases: a retrospective analysis from 1997-2011. *Front Surg.* 2014;1:48.
44. Otaigbe BE, Akadiri OA, Eigbobo JO. Clinical and echocardiographic findings in an African pediatric population of cleft lip/ palate patients: A preliminary report. *Nig J Cardiol.* 2013; 10(1):6-8.
45. Lloyd-Jones D, Adams R, Carnethon M, *et al.* Heart disease and stroke statistics--2009 update: a report from the American Heart Association Statistics Committee and Stroke Statistics Subcommittee. *Circulation* 2009;119.
46. Monlleo IL, Fontes MIB, Ribeiro EM, Souza J, Leal GF, Felix TM, *et al.* Implementing the Brazilian database on Orofacial clefts. *Plast Surg Int.* 2013; 2013:641570.
47. Monlleo, Isabella Lopes and GIL-DA-SILVA-LOPES, Vera Lúcia. Anomalias craniofaciais: descrição e avaliação das características gerais da atenção no Sistema Único de Saúde. *Cad. Saúde Pública* [online]. 2006, vol.22, n.5, pp.913-922. ISSN 0102-311X. <http://dx.doi.org/10.1590/S0102-311X2006000500004>.
48. Volpe-Aquino, Roberta *et al.* CranFlow: An Application for Record-Taking and Management Through the Brazilian Database on Craniofacial Anomalies First published: 26 September 2017. <https://doi.org/10.1002/bdr2.1123>.

49. Koga, Hiroshi, Koichi Lida, Tomoki Maeda, Mizuho Takahashi, Naoki Fukushima, Terufumi Goshi. Epidemiologic Research on Malformations Associated with Cleft Lip and Cleft Palate in Japan. Plos one | doi:10.1371/journal.pone.0149773 february 22, 2016.
50. Van Nunen S. Galactose-alpha-1,3-galactose, mammalian meat and anaphylaxis: a world-wide phenomenon? Curr Treat Options Allergy. 2014;1:262–277.
51. Hagemann LL, Zielinsky P. Rastreamento populacional de anormalidades cardíacas fetais por ecocardiografia pré-natal em gestações de baixo risco no município de Porto Alegre. Arq Bras Cardiol. 2004;82(4):313-26.
52. Amorim LF, Pires CA, Lana AM, Campos AS, Aguiar RA, Tibúrcio JD, et al. Presentation of congenital heart disease diagnosed at a birth: analysis of 29,770 newborn infants. J Pediatr (Rio J). 2008;84(1):83-90.
53. van Velzen CL, Clur SA, Rijlaarsdam MEB, Bax CJ, Pajkrt E, Heymans MW, Bekker MN, Hruda J, de Groot CJM, Blom NA, Haak MC. Prenatal detection of congenital heart disease—results of a national screening programme. BJOG 2015; DOI: 10.1111/1471-0528.13274.
54. Panamonta V, Pradubwong S, Panamonta M, Chowchuen B. Global Birth Prevalence of Orofacial Clefts: A Systematic Review. J Med Assoc Thai. 2015 Aug;98 Suppl 7:S11-21. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26742364>.
55. Priyadharshini R, James S, Rathinasamy J, Mahalakshmi R, Gopalakrishnan G, Kharlukhi J. A cross-sectional study of cardiac anomalies among children with orofacial cleft- role of echocardiography. Int J Contemp Pediatr 2017;4:1274-7.

APÊNDICES

APÊNDICE A – Termo de Consentimento Livre Esclarecido

Toda a informação médica, assim como os resultados dos exames realizados decorrentes desse projeto de pesquisa serão sigilosos. O sigilo será mantido em todo o estudo, a partir da utilização de um número de código para a identificação dos indivíduos participantes. Os resultados de exames e o prontuário do paciente serão acessíveis apenas aos pesquisadores envolvidos. Os resultados ou informações fornecidas serão utilizados apenas para fins de publicação científica em congressos ou periódicos, não havendo nenhum dado que possa lhe identificar.

Esses dados serão guardados pelo pesquisador responsável por essa pesquisa em local seguro e por um período de cinco (05) anos. Qualquer dúvida sobre a ética dessa pesquisa você deverá ligar para o Comitê de Ética em Pesquisa do HUOL/UFRN, pelo telefone (084) 3342-5003.

Este documento foi impresso em duas vias. Uma ficará com você e a outra com o pesquisador responsável Dra. Gisele Leite.

A participação neste estudo é totalmente voluntária, podendo recusar-se fazer parte do mesmo ou interromper se julgar conveniente, sem prejuízo para o paciente, nem para o andamento do trabalho de pesquisa. Caso você tenha alguma dúvida em relação à pesquisa pode entrar em contato com a **Profa. Dra. Adriana Augusto de Rezende**, a qualquer hora do dia (telefone: 084 - 33 42 98 07).

Consentimento para participação

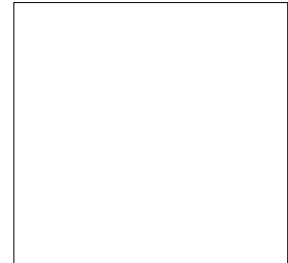
Eu entendo que a minha participação é voluntária e que eu posso me recusar a participar ou retirar meu consentimento e interromper a minha participação ou de minha família no estudo a qualquer momento, sem comprometer os cuidados médicos que eu venha receber no Programa Assistencial Multiprofissional no ambulatório do HUOL/UFRN. No caso de investigações familiares, entendo que o TCLE será obtido de cada indivíduo ou responsável estudado.

Estou de acordo com a participação do estudo descrito acima. Fui devidamente esclarecido (a) quanto aos objetivos da pesquisa e aos procedimentos aos quais meu filho (a) será submetido (a). Foram garantidos esclarecimentos que eu venha a solicitar durante o curso da pesquisa e o direito de desistir (responsável legal ou filho (a)) a qualquer momento, sem que a desistência implique em qualquer prejuízo ao meu filho (a) ou à minha família. A participação na pesquisa não implicará em custos ou prejuízos adicionais, sejam eles de caráter econômico, social, psicológico ou moral. Foi garantido o anonimato e o sigilo dos dados referentes a identificação.

Eu li e/ou me foi explicado, assim como compreendi esse formulário de consentimento e estou de pleno acordo em participar desse estudo.

Nome e RG do sujeito da pesquisa (se for criança, facultativo o RG)

Nome e RG do sujeito do responsável legal



Assinatura do sujeito da pesquisa ou responsável legal

Impressão datiloscópica do
do sujeito da pesquisa ou
responsável legal

Assinatura do pesquisador - Gisele Correia Pacheco Leite.

Assinatura do orientador - Profa. Dra. Adriana Augusto de Rezende

Departamento de Análises Clínicas e Toxicológicas da UFRN.

Av: General Cordeiro de Faria s/n. Petrópolis, Natal, RN, Brasil, CEP 59012-570.

Fone (5584): 3342 9824, 3342 9807 . Fax (5584) 3342 9833.

Natal, _____ de _____ de 201____.

Observação: Rubricar as duas folhas de texto e assinar esta.

APÊNDICE B – Formulário de coleta de dados clínicos com indícios de probabilidade de cardiopatias



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO NORTE
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS DA SAÚDE

PROJETO: Avaliação ecocardiográfica em crianças com fenda labial e/ou palatina isolada, para estudo de ocorrência de cardiopatia nestes pacientes.

Data do preenchimento: ___/___/___ Responsável pelo preenchimento: _____

Informante: _____

DADOS DO PACIENTE

Nome: _____ Código do Caso (PCFB): _____

Nº prontuário no HOSPED: _____ Sexo: () M / () F / () I Data de Nascimento: ___/___/___ Idade: ___ () M () A

QUEIXAS: _____

- Cansaço aos esforços: () Sim () Não. Se sim, especificar: _____
- Crises de cianose ou palidez: () Sim () Não. Se sim, especificar: _____
- Crises de taquicardia: () Sim () Não. Se sim, especificar: _____
- Dor no peito: () Sim () Não. Se sim, especificar: _____
- Sopros Cardíacos: () Sim () Não. Se sim, especificar: _____
- Pré-síncope, síncope (*perda de consciência, rápida e súbita, que ocorre com exercício ou repouso*) e mal-estar ~~relacionado~~: () Sim () Não. Se sim, especificar: _____
- Infecções respiratórias de repetição: () Sim () Não. Se sim, especificar: _____
- História de Febre Reumática ou Doença de Kawasaki: () Sim () Não. Se sim, especificar: _____
- Doenças hereditárias: ~~doenças hereditárias~~ distrofias musculares (tipo ~~Duchenne~~), ~~osteogênese~~ osteogênese ~~imperfecta~~, esclerose tuberosa, anemia falciforme, aritmias congênitas, Síndrome de Down, Síndrome de ~~Marfan~~ e outras. () Sim () Não. Se sim, especificar: _____

ANAMNESE

Dados gestacionais:

1. Idade materna: _____ anos
2. Doenças maternas (diabetes, hipertensão, Hipus ~~dieta~~ ou ~~polidramiô~~, etc): () Sim () Não. Se sim, especificar: _____
3. Translucência nucal ao ultrassom: () normal () anormal () desconhece informação () outro _____
4. Exposição da mãe ao vírus da rubéola ou outros patógenos: () Sim () Não. Se sim, especificar: _____

5. Uso de medicamentos teratogênicos durante a gravidez (litio, ~~hidantoinas~~, antefamínicos, etc): () Sim () Não.

Se sim, especifique: _____

6. Mãe fumante ou usuária de drogas: () Sim () Não. Se sim, especifique: _____

7. Mãe com história de exposição à radiação: () Sim () Não. Se sim, especifique: _____

8. Suspeita ou diagnóstico de malformações, cardiopatia ou arritmia fetal: () Sim () Não.

Se sim, especifique: _____

Dados Neonatais:

1. Idade gestacional ao nascer: _____ semanas () não sabe () outro _____

2. Pequeno ou grande para idade gestacional: () AG () PG () GG () DESCONHECE

3. Idade gestacional ao nascer: () RNT / () RN Pré termo _____ sem / () RN Pós termo _____ sem / () DESCONHECE

4. Índice de ~~Apgar~~: ___ / ___ (1º e 5º minuto)

5. Intercorrências após o nascimento (infecções graves, infecções pulmonares, sepsis, manifestações de insuficiência cardíaca, cianose, ~~cardiomegalia~~, alterações das bulhas e dos pulsos, arritmias, episódios de ~~hipóxia~~, convulsão): () Sim () Não.

Se sim, especifique: _____

Dados Familiares:

1. Mãe, pai, irmão (s) ou outros parentes com cardiopatia congênita, febre reumática, dislipidemias (*problemas de colesterol*) graves, infarto precoce, síncope ou história de morte súbita na família. () Sim () Não.

Se sim, especifique:

() grau de parentesco () Patologia acometida _____

() grau de parentesco () Patologia acometida _____

() grau de parentesco () Patologia acometida _____

() grau de parentesco () Patologia acometida _____

() grau de parentesco () Patologia acometida _____

() grau de parentesco () Patologia acometida _____

Exame Físico: Peso: _____ () g () kg Estatura: _____ () cm () m PA: ___ X ___ mmHg Membro: _____

() BEG. Se () REG ou () MEG. Especifique: _____

() Ativo () Hipotivo. Se hipotivo, especifique: _____

Cor: () ~~acianótico~~ () hipocrômico. Se hipocrômico, especifique o grau: _____

() acianótico () cianótico. Se cianótico, especifique o grau: _____

() ~~bradicardico~~ digital

Padrão Respiratório: () ~~espúrio~~, () ~~bradicardico~~. Se ~~bradicardico~~, especifique o grau: _____

() uso de musculatura acessória. () FR ~~abaixo~~

AP: () MV + BI, sem RA () Outro. Especifique: _____

AC: Bulhas: () NF () ~~HipoE~~, () Hiper F. Se alterada, especifique: _____

Ritmo Cardíaco: () Regular () Irregular. Se alterada, especifique: _____ FC: ___ ~~abaixo~~

Sopro Cardíaco: () Sim () Não. Se alterada, especifique: _____

Outros (fêmios, desdobramentos, cliques, estalidos, abafamento de bulhas): () Sim () Não.

Se sim, especifique: _____

APÊNDICE D – Formulário de coleta de dados do ecocardiograma

ECOCARDIOGRAMA: DRA. GISELE LEITE

IDENTIFICAÇÃO	NP do Eco	Data	Médico Executante		Nome Paciente				
	Sexo	Data Nascimento	Peso (kg)	Altura (cm)	Diagnóstico Clínico	Proveniência	Médico Solicitante		
MEDIDAS	SVV (mm)	PP do VE (mm)	Relação SVV/PPP VE	DDVE (mm)	DDVE (mm)	DDVD (mm)	VAO (mm)	DAS (mm)	Relação A2/Ao
	AD (mm)	AE (mm)	VD (mm)	VE (mm)	Relação atrial	Relação ventricular	TAP (mm)	RDAP (mm)	REAP (mm)
FUNÇÃO VE	Contratibilidade	MPSV	Delta D (%)	FE (%)	TEI	FUNÇÃO SISTÓLICA	FUNÇÃO DIASTÓLICA	Doppler Mitral () Triaxial ()	
	Onda E (cm/s)	Onda A (cm/s)	Relação E/A	TD da Onda E (ms)	TD da Onda A (ms)	Rampa de E (m/s ²)	TRV (ms)	E/E'	
FUNÇÃO VD	Contratibilidade	MPSV	Espessura da parede (mm)	Tamanho	TEI	FUNÇÃO SISTÓLICA	FUNÇÃO DIASTÓLICA	Doppler Mitral () Triaxial ()	
	Onda E (cm/s)	Onda A (cm/s)	Relação E/A	TD da Onda E (ms)	TD da Onda A (ms)	Rampa de E (m/s ²)	TRV (ms)	E/E'	

OBSERVAÇÕES: () Gravado (S = sim/ N = não)

Aparelho: () Philips IE33 () Philips _____ () GE () Outro _____

() Sedação (S = sim/ N = não) Se sim: () hidrato de cloral (S = sim/ N = não)

() Boa Técnica /// () Relativa Técnica - () má janela () pouco cooperativo /// () Dificuldade técnica _____

APÊNDICE E– Protocolo de atendimento clínico-cardiológico e ecocardiográfico para pacientes com fenda oral



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO NORTE
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS DA SAÚDE

PROJETO: Avaliação ecocardiográfica em crianças com fenda labial e/ou palatina isolada, para estudo de ocorrência de cardiopatia nestes pacientes.

Data do preenchimento: ___/___/___ Responsável pelo preenchimento: _____

Informante: _____

Grau de parentesco: _____ (Mãe, Pai, Irmão...)

DADOS DO PACIENTE

Nome: _____ Código do Caso (PCFB): _____

Nº prontuário no HUOL: _____ Sexo: () M / () F / I Data de Nascimento: ___/___/___ Idade: ___ () A ___ () M

RG: _____ Órgão expedidor: _____ CPF: _____

Nº do cartão SUS: _____

Endereço: _____

Nº telefone: () _____ /Nome de quem atende: _____

Nº telefone: () _____ /Nome de quem atende: _____

Nº telefone: () _____ /Nome de quem atende: _____

Email: _____ Nome do responsável por: _____

QUEIXAS: _____

- ▶ Cansaço aos esforços: () Sim () Não. Se sim, especificar: _____
- ▶ Crises de cianose ou palidez: () Sim () Não. Se sim, especificar: _____
- ▶ Crises de taquicardia: () Sim () Não. Se sim, especificar: _____
- ▶ Dor no peito: () Sim () Não. Se sim, especificar: _____
- ▶ Sono Cardíaco: () Sim () Não. Se sim, especificar: _____
- ▶ Pré-síncope, síncope (perda de consciência, rápida e súbita, que ocorre com exercício ou repouso) e mal-estar inexplicado: () Sim () Não.
Se sim, especificar: _____
- ▶ Usa medicamentos: () Sim () Não. Se sim, especificar: _____
- ▶ Outros: _____

ANAMNESE

Antecedentes pessoais:

- Infecções respiratórias de repetição: () Sim () Não. Se sim, especificar: _____
- História de Febre Reumática ou Doença de Kawasaki: () Sim () Não.
Se sim, especificar: _____
- Doenças hereditárias: mucopolissacarídeos, distrofias musculares (tipo Duchenne), neurofibromatose, osteogênese imperfeita, esclerose hérnica, anemia falciforme, arritmias congênitas, Síndrome de Down, Síndrome de Marfan e outras.
() Não. () Sim. Se sim, especificar: _____
- Comorbidades: _____

- Quanto à fenda: () operado () não operado
- Idade em que realizou a 1ª correção cirúrgica para fenda: _____ () M _____ () A
- Número de cirurgias realizadas para correção da fenda: _____. Aguarda cirurgia para nova correção da fenda: () Sim () Não.
- Diagnóstico da fenda foi realizado com que idade: _____ () M _____ () A

Tipo e lateralidade da fissura labial e/ou palatina: CID 10 _____

- a. Fenda labial Direita: () Não () Sim Se sim: () completa () incompleta
- b. Fenda Labial Esquerda: () Não () Sim Se sim: () completa () incompleta
- c. Fenda labial bilateral: () Não () Sim Se sim: () completa () incompleta
- d. Fenda de palato duro: () Não () Sim Se sim: () completa () incompleta
- e. Fenda de palato mole: () Não () Sim Se sim: () completa () incompleta

Recorrência de fenda orofacial (casos de fenda em outras parentes): () Não () Sim () Não informado

Se sim, especificar (parentesco e tipo de fenda): _____

Dados gestacionais:

1. Idade materna: _____ anos (atual) Idade materna: _____ anos (por ocasião da gestação)
2. Consanguinidade: () Não () Sim. Se sim, especificar: _____
3. Doenças maternas (diabetes, hipertensão, lúpus, oligo ou polidramnio, etc): () Sim () Não.
Se sim, especificar (doença e período gestacional em que ocorreu): _____

4. Translucência nasal ao ultrassom: () normal () anormal () desconhece informação () outro _____
5. Exposição da mãe ao vírus da rubéola ou outros patógenos: () Sim () Não.
Se sim, especificar (tipo de vírus e período gestacional em que ocorreu): _____

6. Uso de medicamentos teratogênicos durante a gravidez (lítio, hidantoína, anfetaminas, etc): () Sim () Não.
Se sim, especificar (medicamento e período gestacional em que ocorreu): _____

7. Uso de álcool materno durante a gestação: () Sim () Não. Se sim, especificar (tipo de bebida, quantidade e período da gestação em que houve ingestão): _____
8. Tabagismo materno durante a gestação: () Sim () Não. Se sim, especificar (tipo, quantidade e período da gestação em que ocorreu): _____

- ▶ Arritmias: () Sim () Não () Não informado. Se sim, especificar: _____
- ▶ Episódios de hipotensão: () Sim () Não () Não informado. Se sim, especificar: _____
- ▶ Convulsão: () Sim () Não () Não informado.
- ▶ Outros: _____

Exame Físico: Peso: ____ () g () kg Estatura: ____ () cm () m PA: __X__ mmHg Membr: ____

() REG. Se () REG ou () MEG. Especificar: _____

() Ativo () Hipotivo. Se hipotivo, especificar: _____

Cor: () normocorado () hipocorado. Se hipocorado, especificar o grau: _____

() acianótico () cianótico. Se cianótico, especificar o grau: _____
() baquetamento digital

Pulso Respiratório: () eupneico () taquipneico. Se taquipneico, especificar o grau: _____

() uso de musculatura acessória. () FR ipm

AP: () MV + BI, sem RA () Outro. Especificar: _____

AC: Bulhas: () NF () HipoF () Hiper F. Se alterada, especificar: _____

Ritmo Cardíaco: () Regular () Irregular. Se alterada, especificar: _____ FC: ____ bpm

Sopro Cardíaco: () Sim () Não. Se alterada, especificar: _____

Outros (fêmits, desdobramentos, cliques, estalidos, abafamento de bulhas): () Sim () Não.

Se sim, especificar: _____

Abdome: () flácido, s/VMO, s/Sopro () Outro. Se alterado, especificar: _____

Pulsos nos 04 membros: () Presentes e simétricos () Outro. Se alterado, especificar: _____

Achados adicionais:

Exame Complementares: Exames realizados, distribua-los nas folhas de exames (anexo).

() Laboratório () ECG () Raio-X () Ecocardiograma () CATE () TC Cardíaca () HOLTER

() USG Abdominal () Outros Avaliação do Geneticista: () Sim () Não () Não informado.

Malformações Cardiovasculares

a. Realizou Ecocardiograma? Sim Não Aguarda Não informado

a. Realizou Cateterismo Cardíaco? Sim Não Aguarda Não informado

b. Possui malformações cardiovasculares? Sim Não Sopro cardíaco s/e Não investigado Não informado

DIAGNÓSTICOS:

Ferrê lateral e/ou polatra (CID 10) _____ Lateralidade _____

Diagnóstico Nutricional _____

Diagnóstico da Estatura _____

Diagnóstico da PA _____

Cardiopata: () Sim () Não - Se sim, especificar: _____

Alteração no ritmo cardíaco: () Sim () Não - Se sim, especificar: _____

Sindrômico: () Sim () Não () Não informado - Se sim, especificar: _____

Outros:

COMENTÁRIOS/ INFORMAÇÕES ADICIONAIS:

EXAMES COMPLEMENTARES

DATA	ELETROCARDIOGRAMAS / ACHADOS
DATA	RADIOGRAFIAS / ACHADOS

ECOCARDIOGRAMA: DRA. GISELE LEITE

IDENTIFICAÇÃO	NP do Eco	Data	Médico Escrivente	Nome Paciente			
	Sexo	Data Nascimento	Peso (kg)	Altura (cm)	Diagnóstico Clínico	Proveniência	Médico Solicitante

MEDIDAS	SIV (mm)	PP do VE (mm)	Relação SIV/PPP VE	DDVE (mm)	DSVE (mm)	DOVO (mm)	VAO (mm)	DAZ (mm)	Relação A2/Ao
	AD (mm)	AE (mm)	VD (mm)	VE (mm)	Relação atrial	Relação ventricular	TAP (mm)	RDAP (mm)	REAP (mm)

FUNÇÃO VE	Contratilidade	MPSIV	Delta D (%)	FE (%)	TEI	FUNÇÃO SISTÓLICA	FUNÇÃO DIASTÓLICA	Doppler Mitral () Tetral ()
	Onda E (cm/s)	Onda A (cm/s)	Relação E/A	TD de Onda E (ms)	TD de Onda A (ms)	Rampa de E (m/s ²)	TRV (ms)	E/E'

FUNÇÃO VD	Contratilidade	MPSIV	Espessura da parede (mm)	Tamanho	TEI	FUNÇÃO SISTÓLICA	FUNÇÃO DIASTÓLICA	Doppler Mitral () Tetral ()
	Onda E (cm/s)	Onda A (cm/s)	Relação E/A	TD de Onda E (ms)	TD de Onda A (ms)	Rampa de E (m/s ²)	TRV (ms)	E/E'

OBSERVAÇÕES: () Gravado (S = sim/ N = não)

Aparelho: () Philips IE33 () Philips _____ () GE () Outro _____

() Sedação (S = sim/ N = não) Se sim: () hidrato de cloral (S = sim/ N = não)

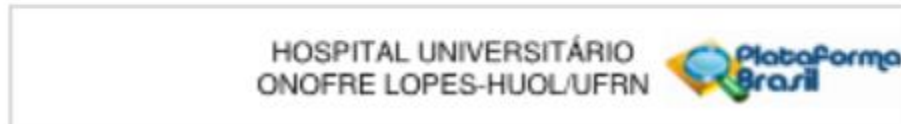
() Boa Técnica /// () Relativa Técnica -- () má janela () pouco cooperativo /// () Dificuldade Técnica _____

ANEXOS

ANEXO A – Aprovação do Estudo pela Comissão de Pesquisa e direção do HUOL /UFRN



ANEXO B – Aprovação do Estudo pelo Comitê de Ética e Pesquisa do HUOL/UFRN



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: AVALIAÇÃO ECOCARDIOGRÁFICA EM CRIANÇAS COM FENDA LABIAL E/OU PALATINA ISOLADA, PARA ESTUDO DE OCORRÊNCIA DE CARDIOPATIA

Pesquisador: ADRIANA AUGUSTO DE REZENDE

Área Temática:

Versão: 2

CAAE: 30958114.7.0000.5292

Instituição Proponente: Pós-Graduação em Ciências da Saúde

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 706.570

Data da Relatoria: 27/06/2014

Apresentação do Projeto:

Projeto de mestrado, vinculado ao Centro de Ciências da Saúde. Trata-se de um estudo transversal tendo como amostra de conveniência os pacientes com fenda labial e/ou palatina não síndrômicos, acompanhados no Programa Multiprofissional de Atendimento aos Portadores de Fendas Labiopalatais do HUOL/UFRN. Estes pacientes serão submetidos à investigação cardiológica com avaliação clínica e ecocardiográfica para afastar possibilidade de cardiopatias associadas.

Objetivo da Pesquisa:

Objetivo Primário:

Avaliar a ocorrência de malformações cardiovasculares em pacientes com fissura labial e/ou palatina isolada (não síndrômicos), atendidos no Programa Multiprofissional de Atendimento aos Portadores de Fendas Labiopalatais do Complexo Hospital Universitário Onofre Lopes (HUOL), da UFRN.

Objetivo Secundário:

- Identificar o perfil epidemiológico dos pacientes com fissura labial e/ou palatina isolada, atendidos no Programa supracitado, do HUOL/UFRN, quanto ao sexo e o tipo de fissura;
- Descrever a frequência e o tipo de cardiopatias associadas à fissura labial e/ou palatina isolada;

Endereço: Avenida Nilo Peçanha, 625 - 3º subsolo
Nome: Patóipolis **CEP:** 50.012-300
UF: RN **Município:** NATAL
Telefone: (84)3342-5000 **Fax:** (84)3203-3941 **E-mail:** cep_huol@yaho.com.br

HOSPITAL UNIVERSITÁRIO
ONOFRE LOPES-HUOL/UFRN



Carteira de Parecer: 308.870

- Descrever a frequência e o tipo de cardiopatias associadas à fissura labial e/ou palatina isolada de acordo com o sexo do paciente;
- Descrever a frequência e o tipo de cardiopatias de acordo com o tipo de fissura do paciente;

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

A descrição dos riscos e benefícios foram corrigidos e estão adequados para a pesquisa e de acordo com a resolução do CNS nº466/2013 no projeto e no TCLE.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

Trata-se de uma pesquisa importante e que contribuirá para aprimoramento do diagnóstico dos pacientes com FLP, permitindo elaborar estratégias de prevenção, planejamento do tratamento individualizado e aconselhamento genético das famílias participantes como forma de consolidação de infraestrutura clínico genética no estado do Rio Grande do Norte e, poderá ainda, verificar a existência de associação entre FLP e cardiopatia.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

O projeto de pesquisa está bem embasado e os termos de apresentação obrigatória foram apresentados.

Recomendações:

Sem recomendações

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Após revisão ética da(s) resposta(s) à(s) pendência(s), levantada(s) no parecer anterior, concluímos que as mesmas foram reparadas adequadamente.

Essa adequação situa o protocolo em questão dentro dos preceitos básicos da ética nas pesquisas que envolvem o ser humano.

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

Considerações Finais e critério do CEP:

1. Apresentar relatório parcial da pesquisa, semestralmente, a contar do início da mesma.
2. Apresentar relatório final da pesquisa até 30 dias após o término da mesma.
3. O CEP HUOL deverá ser informado de todos os efeitos adversos ou fatos relevantes que alterem

Endereço: Avenida Nilo Peçanha, 628 - 3ª subsolo
 Bairro: Penitência CEP: 52.012-300
 UF: RN Município: NATAL
 Telefone: (54)3342-5003 Fax: (54)3200-3941 E-mail: osp_huol@ufersa.com.br

HOSPITAL UNIVERSITÁRIO
ONOFRE LOPES-HUOL/UFRN



Credenciamento de Pesquisa: 708.970

o curso normal do estudo.

4. Quaisquer documentações encaminhadas ao CEP HUOL deverão conter junto uma Carta de Encaminhamento, em que conste o objetivo e justificativa do que esteja sendo apresentado.

5. Caso a pesquisa seja suspensa ou encerrada antes do previsto, o CEP HUOL deverá ser comunicado, estando os motivos expressos no relatório final a ser apresentado.

6. O TCLE deverá ser obtido em duas vias, uma ficará com o pesquisador e a outra com o sujeito de pesquisa.

7. Em conformidade com a Carta Circular nº. 003/2011 CONEP/CNS, faz-se obrigatório a rubrica em todas as páginas do TCLE pelo sujeito de pesquisa ou seu responsável e pelo pesquisador.

NATAL, 02 de Julho de 2014

Assinado por:
João Carlos Alchieri
(Coordenador)

Endereço: Avenida Nilo Pojanha, 628 - 3ª etapa
Bairro: Paripolis **CEP:** 52.012-300
UF: RN **Município:** NATAL
Telefone: (54)3342-5933 **Fax:** (54)3202-2641 **E-mail:** cep_huol@yahoo.com.br

ANEXO C – Solicitação de mudança no projeto de pesquisa



UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO NORTE
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
DEPARTAMENTO DE ANÁLISES CLÍNICAS E TOXICOLÓGICAS
LABORATÓRIO MULTIDISCIPLINAR

JUSTIFICATIVA

Venho por meio desta informar e justificar a alteração do Projeto de Mestrado da aluna GISELE CORREIA PACHECO LEITE, sob minha orientação. Inicialmente o projeto submetido foi "AVALIAÇÃO ECOCARDIOGRÁFICA EM CRIANÇAS COM FENDA LABIAL E/OU PALATINA ISOLADA, PARA ESTUDO DE OCORRÊNCIA DE CARDIOPATIA". Considerando que não está sendo realizada a avaliação da Genética no Hospital Universitário, e, deste modo, não foi possível caracterizar a fenda labial e/ou palatina não síndrômica (isolada), ampliamos o estudo para todos os pacientes com fenda labial e/ou palatina (síndrômicos e não síndrômicos), mantendo o enfoque, com novo título "Alterações cardiovasculares em pacientes com fenda labial/palatina: estudo clínico-ecocardiográfico" e com resultados interessantes que teriam o mesmo caráter de publicação de maior impacto, como programado no estudo anterior.

Natal, 17 de Março de 2015

Profa. Dra. Adriana Augusto de Rezende

Orientadora PPgCSa

ANEXO D – Aceite do paper

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

De: CLINICS Editorial Office <onbehalf@manuscriptcentral.com>

Para: "adrirezende@yahoo.com" <adrirezende@yahoo.com>

Cc: "clinics@hc.fm.usp.br" <clinics@hc.fm.usp.br>

Enviado: segunda-feira, 16 de outubro de 2017 13:38:29 BRST

Assunto: CLINICS - Decision on Manuscript ID CLINICS-2017-0108.R1

16-Oct-2017

Dear Dr. Rezende:

It is a pleasure to accept your manuscript entitled "Cardiovascular Abnormalities in Patients with Oral Cleft: A Clinical-Electrocardiographic-Echocardiographic Study" for publication in CLINICS.

The publication fee for this article is R\$ 1.500,00. Please print this letter, complete and sign the DECLARAÇÃO below and return it attached to an email to our Editorial Office (clinics@hc.fm.usp.br).

As stated in our Instructions to Authors (www.clinics.org.br), please send the current version of your manuscript to the company American Journal Experts (AJE) for revision. We have been working with AJE for many years and are very satisfied with the quality of their work. Premium Editing is mandatory and you are entitled to a 20% discount. Please make sure you send all sections related to the manuscript for revision: title, running title, abstract, authors contributions, text, references, figures, tables and legends.

Website: <https://www.aje.com>

Discount code: CLINICS2017

If you have any doubts, please contact Flavia Jaszczak (support@aje.com).

The final version - with all comments and alterations performed by AJE - must be sent to us (clinics@hc.fm.usp.br) as soon as possible so that we can proceed with the publication of your article.

Deadline: 12 calendar days

Thank you for your fine contribution. On behalf of the Editorial Board of CLINICS, we look forward to your continued contributions to the Journal.

Sincerely,

Edmund Baracat

Editor, CLINICS

www.clinics.org.br

ANEXO E - APPLICATION OF HIGH-RESOLUTION ARRAY PLATFORM FOR GENOME-WIDE COPY NUMBER VARIATION ANALYSIS IN PATIENTS WITH NONSYNDROMIC CLEFT LIP AND PALATE



J CLIN LAB ANAL. 2018 MAR 7. DOI: 10.1002/JCLA.22428. [EPUB AHEAD OF PRINT].

Received: 12 December 2017 | Accepted: 9 February 2018
DOI: 10.1002/jcla.22428

RESEARCH ARTICLE

WILEY

Application of high-resolution array platform for genome-wide copy number variation analysis in patients with nonsyndromic cleft lip and palate

Heglayne Pereira Vital da Silva¹ | Gustavo Henrique de Medeiros Oliveira¹ |
Marcela Abbott Galvão Ururahy¹ | João Felipe Bezerra¹ | Karla Simone Costa de Souza¹ |
Raul Hernandes Bortolin¹ | André Ducati Luchessi¹ | Vivian Nogueira Silbiger¹  |
Valéria Morgiana Gualberto Duarte Moreira Lima¹ | Gisele Correia Pacheco Leite² |
Maria Ednilma Felinto Brito² | Erlane Marques Ribeiro³ | Vera Lúcia Gil-da-Silva-Lopes⁴ |
Adriana Augusto de Rezende¹ 

¹Department of Clinical and Toxicological Analyses, Federal University of Rio Grande do Norte, Natal, Brazil

²Department of Pediatrics, Federal University of Rio Grande do Norte, Natal, Brazil

³Medical Genetics Service, Albert Sabin Children's Hospital, Fortaleza, Brazil

⁴Department of Medical Genetics, Faculty of Medical Sciences, University of Campinas, Campinas, São Paulo, Brazil

Correspondence

Adriana Augusto de Rezende, Department of Clinical and Toxicological Analyses, Federal University of Rio Grande do Norte, Natal, Brazil.
Email: adrirezende@yahoo.com

Funding information

Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior, Grant/Award Number: PNP/CAPEX n° 2250/2011

Background: Although more than 14 loci may be involved in the development of nonsyndromic cleft lip and palate (NSCLP), the etiology has not been fully elucidated due to genetic and environmental risk factor interactions. Despite advances in identifying genes associated with the NSCLP development using traditional genetic mapping strategies of candidate genes, genome-wide studies, and epidemiologic and linkage analysis, microarray techniques have become important complementary tools in the search for potential causative oral clefts genes in genetic studies. Microarray hybridization enables scanning of the whole genome and detecting copy number variants (CNVs). Although common benign CNVs are often smaller, with sizes smaller than 20 kb, here we reveal small exonic CNVs based on the importance of the encompassed genes in cleft lip and palate phenotype.

Methods: Microarray hybridization analysis was performed in 15 individuals with NSCLP.

Results: We identified 11 exonic CNVs affecting at least one exon of the candidate genes. Thirteen candidate genes (*COL11A1*-1p21; *IRF6*-1q32.3; *MSX1*-4p16.2; *TERT*-5p15.33; *MIR4457*-5p15.33; *CLPTM1L*-5p15.33; *ESR1*-6q25.1; *GLI3*-7p13; *FGFR*-8p11.23; *TBX1*-22q11.21; *OFD*-Xp22; *PHF8*-Xp11.22; and *FLNA*-Xq28) overlapped with the CNVs identified.

Conclusions: Considering the importance to NSCLP, the microdeletions that encompass *MSX1*, microduplications over *TERT*, *MIR4457*, *CLPTM1L*, and microduplication of *PHF8* have been identified as small CNVs related to sequence variants associated with oral clefts susceptibility. Our findings represent a preliminary study on the clinical significance of small CNVs and their relationship with genes implicated in NSCLP.

Heglayne Pereira Vital da Silva and Gustavo Henrique de Medeiros Oliveira contributed equally to this work.

KEYWORDS

child, cleft lip and palate, comparative genomic hybridization, DNA Copy Number Variations

1 | INTRODUCTION

Cleft lip and/or palate (CLP) are a category of craniofacial malformations characterized by the presence of spaces or gaps leading to an abnormal upper lip, alveolus, and/or palate, which can result in effects on speech, hearing, appearance, and cognition as well as have adverse long-term outcomes in health and social integration.^{1,2} The nonsyndromic form of CLP (NSCLP) consists of isolated, nonspecific malformations with no other apparent cognitive or structural abnormalities.^{3,4} NSCLP shows a multifactorial etiology with both genetic and environmental contributions and moderate recurrence rates.⁴

Although more than 14 loci may be involved in the development of NSCLP, the precise etiology has not been fully elucidated.⁵ Several chromosomal regions, such as 1q, 2p, 4q, 6p, 14q, 17q, and 19q, were suggested to contain genes associated with genetic susceptibility to NSCLP and some syndromic cases. Almost every year, additional loci are identified and added to the susceptibility list, including more recently 8q21.3, 13q31.1, and 15q22 and 15q13.^{6,7} Potentially implicated genes include growth factors (TGFA, TGFB3), transcription factors (MSX1, TBX22, IRF6), genes involved in the metabolism of xenobiotics (CYP1A1, GSTM1, NAT2), genes related to nutritional metabolism (MTHFR, RARA), and genes involved in the immune response (PVLRL1).^{4,8,9}

The association between candidate genes and environmental factors and their influence on the development of CLP have been widely studied by our group. Specially, the muscle segment homeobox gene 1 (MSX1) and genes encoding enzymes involved in folate metabolism, such as methionine synthase (MTR), methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR), and reduced folate carrier 1 (RFC1), have been investigated.^{8,10} Bezerra et al showed a positive association between reduced folic acid levels, alcohol consumption, and the MTHFR 677T and 1298C alleles in NSCLP development.¹⁰ Cardoso et al found no evidence that the MSX1 polymorphisms rs3775261, rs1042484, rs12532, rs64446693, rs4464513, and rs1907998 play a major role in NSCLP.⁸

Despite advances in identifying genes associated with the NSCLP development using traditional genetic mapping strategies of candidate genes, genomewide studies, animal models, and epidemiologic and linkage analysis,⁸⁻¹³ microarray techniques have become important complementary tools in the search for potential causative CLP genes in genetic studies. These techniques allow investigators to scan the whole genome at once and detect submicroscopic chromosomal imbalances called copy number variants (CNVs).^{5,14,15} These genomic imbalances include insertions, duplications, deletions, inversions, recurring mobile elements, and other rearrangements, now usually defined as abnormalities covering 50 or more base pairs.¹⁶ CNV detection is a strategy to identify and confirm

candidate disease gene regions, which represents a first-tier diagnostic approach for some diseases.^{17,18}

In oral clefts studies, microarray-based comparative genomic hybridization (array-CGH) has shown some CNV-region deletions in NSCLP cases at 6q25.1-25.2 and at 10q26.11-26.13, which are associated with the causative genes estrogen receptor 1 (*ESR1*) and fibroblast growth factor receptor 2 (*FGFR2*).⁵ Also, a deletion in the 1q32.2-q32.3 region, including the entire *IRF6* and 24 other flanking genes, has been linked to cleft palate.¹⁹ More recently, a systematic analysis of CNVs of a large cohort of orofacial cleft patients identified known causative genes for CLP *SATB2* and *MEIS2* and 12 other genes (*DGCR6*, *FGF2*, *FRZB*, *LETM1*, *MAPK3*, *SPRY1*, *THBS1*, *TSHZ1*, *TTC28*, *TULP4*, *WHSC1*, *WHSC2*).¹⁸ This study also reported 34 deleted and 24 duplicated genes associated with novel candidates genes involved in signaling pathways in orofacial development.²⁰ Additionally, according to this study, although the genes *SATB2* and *MEIS2* have been classified as CLP causative genes, they appear to be frequently affected by small deletions in healthy individuals. Therefore, the notion that CNVs are also abundantly present in healthy populations challenges the interpretation of the clinical significance of detected CNVs in patients with cleft and/or lip palate.

For most commonly used arrays, the limit of resolution of ~400 kb throughout the genome provides a reliable ability to identify of pathogenic CNVs, with the median size for presumably benign CNVs being ~200 kb.¹⁸ However, more recent data with higher-density arrays suggest that small (1-30 kb) CNVs could contribute to the risk of certain disorders such as neurodevelopmental disorders (NDDs) and autism spectrum disorders (ASDs).^{21,22}

Thus, considering the increasing use of microarray analysis as a genetic test for some diseases and the challenges in clinical interpretation regarding size distribution of CNVs in the human genome, this study aimed to screen the exonic regions of genes identified through overlapping CNVs in patients with NSCLP from the Brazilian northeast.

2 | MATERIALS AND METHODS

2.1 | Study population

Fifteen patients with NSCLP admitted to the University Hospital Onofre Lopes, in Natal, Rio Grande do Norte, Brazil, from 2012 to 2015 comprised our study population. The patients were evaluated by the Oral Cleft Multidisciplinary Program of the University Hospital, which comprised a group of pediatricians, radiologists, phonoaudiologists, cardiologists, and geneticists. The study was approved by the Research Ethics Committee of University Hospital Onofre Lopes (#714/2008), and informed consent was obtained from all of the adult subjects or the parents or legal guardians of

underage patients. This study is part of Brazil's CranioFacial project, a voluntary, interinstitutional, and multiprofessional research group (<http://www.fcm.unicamp.br/fcm/cranio-face-brasil/projeto-cranio-face-brasil>). Data were collected using a pre-tested form through the CranFlow-Brazilian database on Craniofacial Anomalies/Orofacial Clefts (<https://www.craniofacebrasil.fcm.unicamp.br/cranioface/jsp/login.do>).

2.2 | Genomic DNA extraction

The genomic DNA was isolated from whole blood in tubes containing EDTA using the QIAamp DNA Blood Mini Kit (Qiagen, Chatsworth, CA, USA), following the manufacturer's instructions. The obtained DNA was stored at -20°C until analysis.

2.3 | CytoScan HD array

To allow the application of DNA samples in a GeneChip HD CytoScan Array (Affymetrix, Santa Clara, USA), the following processing steps were performed: DNA samples were digested with *NSPI* restriction enzymes, ligated to adapters and to universal primers that recognize the adapter sequences attached to genomic DNA, genomic DNA was amplified by polymerase chain reaction (PCR), resulting DNA fragments were purified using magnetic sensors, the concentration of purified DNA was quantified with a spectrophotometer, purified samples were fragmented with *DNase I* to generate species of 25–125 bp, and fragment size was confirmed by agarose gel electrophoresis. Then, the DNA fragments were end-labeled by the addition of a modified biotinylated base and hybridized to CytoScan Array. The arrays were sequentially washed and stained with a combination of a streptavidin-coupled dye and a biotinylated anti-streptavidin antibody and, finally, the arrays were scanned. All steps rigorously followed the manufacturer's protocol (http://tools.thermofisher.com/content/sfs/manuals/cytoscan_assay_user_manual.pdf). The CytoScan™ HD Array contains greater than 2.4 million markers for copy number and approximately 750 000 genotype-able SNPs, which provide high-resolution copy number, accurate breakpoint estimation, and loss of heterozygosity (LOH) detection.

2.4 | Copy number analysis

After array chip scanning, data files were obtained in CEL format, which were then analyzed using the Chromosome Analysis Suite (ChAS) program (Affymetrix, Santa Clara, USA), in order to examine the genomes.

According to recommendations on diagnostic chromosomal microarray testing, microduplications and microdeletions were selected as relevant genomic regions when gains and losses affected a minimum of 50 and 25 markers, respectively, with a lower limit of resolution of ~ 400 kb. In addition to these parameters, the study analyzed small CNVs (<30 kb).

The main quality indicators for the GeneChip array HD were the median absolute difference paired (MAPD), SD ripple, and SNP-QC.

The parameters were applied to ≤ 0.25 MAPD, waving SD < 0.12 and ≥ 15.00 for SNP-QC.

All CNVs generated for each patient, as well as total CNVs, were filtrated for the encounter of exonic CNVs with the ExonReducer program. These CNVs were compared with data from reference populations available in public databases, including the Database of Genomic Variants (DGV), which contains benign of polymorphic CNVs identified in healthy controls from previous scientific reports (<http://dgv.tcag.ca/dgv/app/home>). The CNVs were also evaluated based on a list of 61 genes associated with the CLP phenotype (Table S1). This gene list was made from queries in several databases of clinically relevant variants: ECARUCA (<http://www.ecaruca.net>), CAGdb (<http://www.cagdb.org>), combinations of common variants from genome banks and clinically relevant databases: dbVAR (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/dbvar>), Decipher (<http://decipher.sanger.ac.uk>), ISCA CNVS (<https://www.iscaconsortium.org>), databases of genes associated with known diseases: OMIM (<http://www.omim.org>), HGMD, (<http://www.hgmd.cf.ac.uk>), Gene imprint (<http://www.geneimprint.com>), and a review of the scientific literature. The use of the list with candidate genes for performing the array analysis was in order to delimit the search field and to study exonic CNVs that affected only genes associated with phenotype and then to access whether our patients had any changes in these genes. This decision took into account the fact that in a first analysis of all data, a large number of CNVs were generated (2511), but none in particular met traditional criteria to characterize as potential CNV. Then, the small CNVs were analyzed according to the criteria of number of markers and frequency in DGV.

3 | RESULTS

All individuals selected for the study had nonsyndromic cleft lip and palate (NSCLP). Table 1 shows the clinical characteristics of the subjects studied. Most individuals were male, with 67% had unilateral cleft against 33% with bilateral cleft. Approximately 54% of the studied individuals have a family history of oral clefts and 20% of patients' mothers confirmed the use of alcohol during pregnancy. The average age of patients' mothers at conception was 27.8 years. There were reports of gestational diabetes and obesity during pregnancy of 13% and 27%, respectively. There were no reported cases of parental consanguinity.

Microarray analysis (a-GH) of 15 DNA samples from individuals with NSCLP identified 11 small exonic CNVs affecting at least one exon of the candidate genes (Table 2), with eight being microdeletions (Loss) and three being microduplications (Gain). Four microdeletions appeared in more than one patient.

The microdeletion sizes varied from 0.2 kb to 12 kb, with a mean size of 6.1 kb and an average count of approximately 8–20 markers. Considering the relevance of genes involved in orofacial susceptibility, two deletions on chromosome 1 may be presented: a 3.2 kb deletion located at 1p21.1 and a 2.3 kb deletion located at 1q32.2, which encompassed *COL11A1* and *IRF6*, respectively. The 2.3 kb

ID	Gender	Cleft type	Severity of cleft	Family history	Maternal habits
1	M	CLP	Bilateral	Positive	Negative
2	M	CLP	Unilateral	Negative	Negative
3	F	CLP	Bilateral	Positive	Negative
4	M	CLP	Bilateral	Negative	Alcohol
5	M	CLP	Bilateral	Positive	Negative
6	M	CLP	Unilateral	Negative	Negative
7	M	CLP	Unilateral	Positive	Negative
8	M	CLP	Unilateral	Positive	Alcohol
9	F	CLP	Unilateral	Positive	Negative
10	F	CLP	Unilateral	Negative	Negative
11	F	CLP	Unilateral	Negative	Negative
12	M	CLP	Unilateral	Negative	Negative
13	M	CLP	Bilateral	Positive	Smoking/ Alcohol/ Illegal drugs
14	M	CLP	Unilateral	Positive	Negative
15	M	CLP	Unilateral	Negative	Negative

TABLE 1 Clinical characteristics of 15 individuals with nonsyndromic cleft lip and/or palate

CLP, cleft lip and palate; ID, patient identification; M, male; F, female.

deletion on 1q32.2 associated with *IRF6* was described in Database of Genomic Variants (DGV) as variant dgv144e212 and was found in two different patients. The 12.3 kb deletion located at 4p16.2 overlapped with *MSX1*, a gene known to be important in oral cleft development. This microdeletion was identified as the variant esv34196 in the DGV. CNVs that affected *ESR1* and *GLI3* were microdeletions of sizes 5.2 kb and 6.7 kb located at 6q25.1 and 7p14.1, respectively. These deletions were described in the DGV although rare (esv2761004, nsv830844, nsv5717). A 9.8 kb microdeletion located at 22q11.21 was associated with *TBX1*. However, it was well described in the DGV.

The microduplication of 58.2 kb at 5p15.33 and 85.9 kb at Xp11.22 met the parameters for gene duplications, as previously defined for CNV screening. The 5p15.33 duplication covers a region associated with three genes: *TERT*, *MIR4457*, and *CLPTM1L*. This duplication was described in the DGV. The Xp11.22 duplication affects *PHF8*. A 9.0 kb duplication located at 8p11.23 in *FGFR1*, although showing a suboptimal number of markers was described in the DGV only once.

4 | DISCUSSION

The array-CGH technique is an efficient approach for genome-wide screening of chromosomal copy number changes and has been shown to be an efficient method to identify submicroscopic gains/duplications and losses/deletions that can serve as informative markers for clinical phenotypes of various disorders, including orofacial clefts.^{15,23,24} Despite this great advance compared with classical cytogenetic analysis, the correct categorization of CNVs is still a challenge. The presence of benign CNVs within the genome, the

continual discovery of novel CNVs, and the insufficient knowledge of the phenotypic effects of most CNVs have led to the classification of many CNVs as being of unknown clinical significance.

Considering that the complex etiology of CLP is not fully understood, the aim of this study was the robust detection of CNVs using a genomic microarray in an attempt to identify chromosomal regions containing causative genes of NSCLP. Although previous studies have reported that common benign CNVs are often smaller in size, with the majority of benign CNVs smaller than 20 kb,^{14,25,26} here we report small exonic CNVs based on the importance of the affected genes in NSCLP, possibly related to sequence variants in the genes involved in genetic susceptibility to oral clefts.

The individual significance of genomewide small CNVs has not been well elucidated in a clinical context. Microarray studies have focused mainly on CNVs > 30 kb because of the presumed limits of reliable calling.²² However, recent studies have shown that rare 1-30 kb exonic CNVs could contribute reliably to the risk of certain disorders, such as NDDs and ASDs.^{21,22} A study in a large cohort of 714 clinically well-characterized patients with NDDs investigating rare exonic CNVs of 1-500 kb revealed that three out of seven true CNVs were 1-10 kb and only eight out of 35 100-500 kb CNVs were considered to be pathogenic, indicating that the highest fraction of pathogenic CNVs occur in the smallest size range.²¹ In an ASD case-control study, a significant increase in the burden of 1-30 kb and 1-10 kb deletions was observed in patients with ASD.²² Small size CNVs, in general, affect only one gene, which, in contrast to larger CNVs, allows easy detection of the associated gene.

In our study, thirteen candidate genes (*COL11A1*, *IRF6*, *MSX1*, *TERT*, *MIR4457*, *CLPTM1L*, *ESR1*, *GLI3*, *FGFR1*, *TBX1*, *OFD1*, *PHF8*, and *FLNA*) overlapped with the CNVs identified in cleft palate patients. Taking into account criteria such as the number of markers

TABLE 2 Exonic CNVs of a-GH analysis in nonsyndromic cleft lip and/or palate studied individuals

Type	Chr	Cytoband	Start (hg19)	End (hg19)	Size (kb)	Marker count	Overlap genes	ID	Qty of descriptions in DGV	
Loss	1	p21.1	103448313	103451527	3.214	8	COL11A1	1/2/12	7	
	1	q32.2	209975052	209977378	2.326	8	IRF6	1/2	1	
	4	p16.2	4863775	4876104	12.329	10	MSX1	1/13	1	
	6	q25.1	152127133	152132368	5.235	8	ESR1	15	2	
	7	p14.1	42003076	42009807	6.731	20	GLI3	13	1	
	22	q11.21	19746066	19755845	9.779	15	TBX1	1	20	
	X	p22.2	13781656	13781921	0.265	8	OFD1	14	1	
	X	q28	153576560	153577296	0.736	12	FLNA	1/3/69/10/11	7	
	Gain	5	p15.33	1286129	1344342	58.213	80	TERT, MIR4457, CLPTM1L	13	33
		8	p11.23	38279385	38288451	9.066	28	FGFR1	1	1
		X	p11.22	53973302	54059274	85.972	182	PHF8	7	4

Chr, chromosome; DGV, base genomic data variants; ID, patient identification; Qty, quantity.

and frequency in the DGV, microdeletions that encompass *MSX1*, microduplications of *TERT*, *MIR4457*, *CLPTM1L*, and the microduplication of *PHF8* resulted from analyzing small CNVs. Future microarray studies should focus on the potential for small CNVs to represent small changes in the sequences of genes important in oral cleft susceptibility.

MSX1 is a small muscle segment homeobox gene on chromosome 4p16, consisting of two exons and one intron spanning less than 4300 bp.²⁷ The *MSX1* regulatory protein functions as a transcriptional repressor and is involved in the modulation of craniofacial, limb, and nervous system development.⁸ It has been proposed that mutations in *MSX1* alone could contribute to as many as 2% of total cleft lip and palate cases.²⁸

Previous studies have supported the interaction between environment factors and *MSX1*. Maternal cigarette smoking and alcohol consumption during pregnancy seem to increase the risk of oral clefts resulting from the interaction of such exposures with specific allelic variants of *MSX1*,²⁹ although not confirmed by other studies.³⁰ In our study, a microdeletion in *MSX1* was found in two male patients with bilateral NSCLP and family history of oral clefts. The mother of one of these patients informed cigarette smoking and alcohol consumption during pregnancy. Clinical data from our study, in agreement with reports in the literature, showed a higher frequency of oral clefts in males, with familial recurrence and an association with environmental risk factors such as maternal exposure to tobacco and alcohol.^{3,8,10} These results suggest that the presence of microdeletions found in *MSX1* may act to potentiate the effects of environmental factors associated with and contributing to the multifactorial etiology of oral clefts.

A submicroscopic duplication was identified in a patient at 5p15.33 encompassing two protein-coding genes (cisplatin resistance-related protein 9 (*CLPTM1L*), telomerase reverse transcriptase (*TERT*), and one microRNA gene (*MIR4457*). The patient presented bilateral NSCLP and the patient's mother reported exposure to environmental factors most commonly associated with the etiology of CLP during pregnancy. Again, this microdeletion may have an influence on the environmental effects associated with susceptibility to CLP. The association between *CLPTM1L* and CLP was first described by Izzo et al who detected an approximately 300-kb interstitial microduplication at 5p15.33 in a 10-year-old boy with syndromic CLP and neuro-psychomotor developmental delay.³¹ These authors suggested that owing to a genetic similarity between the proteins encoded by *CLPTM1L* and a CLP-associated transmembrane protein-1 encoded by *CLPTM1* located at 19q13.3, a duplication of the entire gene is likely to lead to increased gene expression, thus triggering overexpression of apoptotic pathways, which may contribute to phenotypical abnormalities, particularly CLP.

In a male patient with unilateral NSCLP and a family history of NSCLP but no exposure to environmental factors, a gain of 85.9 kb at Xp11.22, that encompasses *PHF8*, was observed. Mutations in the human plant homeodomain (PHD) finger protein 8 (*PHF8*) cluster within its JmjC encoding exons and are linked to mental retardation and a cleft lip/palate phenotype.³² *PHF8* protein activity is

related to oxygen availability, and modifications in this gene have been associated with the occurrence of fetal cleft lip due to maternal hypoxia, which can be worsened by maternal hypoxia habits, as smoking and hypertension treatment.³² A microdeletion at Xp11.22 was described in two brothers with ASD, intellectual disability, and CLP.³³ This microduplication, therefore, seems to be an important factor in the genetic etiology of CLP.

In oral clefts studies, however, little is known about the importance of small CNVs detected by genome-wide high-resolution CGH for genetic diagnosis and gene discovery. Simioni et al (2015) studied 23 unrelated individuals with CLP considered relevant two CNVs of sizes <300 kb (a duplication involving the *FGFR1* (chromosomal region 8p12) gene and a deletion involving the *TCEB3* (chromosomal region 1p36.11) gene) due to important play of these genes in the pathogenesis and development of CLP.¹⁵ Although these CNVs were found in patients with abnormalities associated with CLP, mutations in these genes have been reported in the literature to be associated with nonsyndromic CLP cases.³⁴

It is important to note that there was a high frequency of family history among the studied subjects (eight patients), which reflects the strong familial aggregation peculiar to orofacial clefts. Relatives of cleft cases have a high relative risk compared to the population's baseline risk, and there is a sharp decline in risk to relatives of cases with increasingly distant relationships.³⁵ In this pattern of inheritance, also known as multifactorial threshold model, the probability of sharing identical alleles by descent is constant, be the risk controlled by a gene, some genes or many genes; however, other explanations could potentially result in these same patterns of risk for relatives.³⁶ In this way, the CNVs found in patients with positive family history of CLP may represent the heritability or the proportion of variation in risk attributable to independent, autosomal genes, whose penetrance at any one of these separate risk genes is impossible to estimate.

In nonsyndromic forms of oral clefts, in which there is no involvement of causal genes strongly associated with risk, it is hypothesized that multiple genetic alterations with modest individual effects on risk may be capable of disrupting normal craniofacial development under specific circumstances given by exposure to environmental risk factors.³⁶ Therefore, cumulative effect of microdeletions in the copy number of *MSX1* could represent a mechanism of deregulation in *MSX1* proteins, which are responsible to maintain the growth of the primary palate during mammalian palatogenesis through expression regulation of growth factors such as *Bmp4*.³⁷ In the same direction, the effect of microduplication reported in the chromosome region involving the three genes *TERT*, *MIR4457*, *CLPTM1L* may be responsible for an increase in the expression of these genes, promoting an over-expression of apoptotic pathways during the palate morphogenesis.³¹ And also, the effect of microduplication of *PHF8* may promote a disrupt catalytic of *PHF8* activity, which is histone modifying enzyme oxygen dependent, that under conditions of associated hypoxia may be related with chromatin regulated gene expression including of homeobox genes during the development and fusion of facial prominences.³²

Despite evidence that genomic analysis based on arrays has been a robust tool for CNV screening of patients who are suspected

to harbor chromosomal aberrations, this technique presents difficulties in classification and interpretation of CNVs, particularly in smaller CNVs. Our study was limited by the unavailability of parental DNA to determine the inheritance patterns of the identified CNVs. Therefore, researches with more individuals, using secondary confirmatory testing and with comprehensive bioinformatics analysis, are required to better understand exonic CNVs in the size range of 1-30 kb by array-CGH.

In conclusion, our findings represent a preliminary study on the search for the clinical significance of small CNVs and the relationship between CNVs and genes implicated in the development of nonsyndromic cleft lip and palate. The microdeletions that encompass *MSX1*, microduplications of *TERT*, *MIR4457*, *CLPTM1L*, and the microduplication of *PHF8* are small CNVs, which may be related to changes in the genes involved in genetic susceptibility to oral clefts in Brazilian patients. The combined effect of changes in the small copy number of various genes could represent one of the genetic mechanisms for nonsyndromic forms of oral clefts. However, further studies are encouraged to establish the significance of small CNVs in oral cleft risk.

ACKNOWLEDGMENTS

We are thankful to the patients, families, and staff members of the Oral Cleft Multidisciplinary Program from HUOL/UFRN. We also thank the Ángel Carracedo and Inés Quintela García from CeGen-ISCIII in Santiago de Compostela and finally thank the Coordination for the Improvement of Higher Education Personnel (CAPES) for financial support (PNPD/CAPES n° 2250/2011).

ORCID

Vivian Nogueira Silbiger  <http://orcid.org/0000-0002-9252-0278>

Adriana Augusto Rezende  <http://orcid.org/0000-0003-2452-4047>

REFERENCES

1. Prabhu S, Jose M, Krishnapillai R, Prabhu V. Etiopathogenesis of orofacial clefting revisited. *J Oral Maxillofac Pathol.* 2012;16:228-232.
2. Mossey PA, Little J, Munger RG, Dixon MJ, Shaw WC. Cleft lip and palate. *Lancet.* 2009;374:1773-1785.
3. Dixon MJ, Marazita ML, Beaty TH, Murray JC. Cleft lip and palate. Synthesizing genetic and environmental influences. *Natl Inst Heal.* 2011;12:167-178.
4. Stuppia L, Capogreco M, Marzo G, La Rovere D, Antonucci I, Gatta V, et al. Genetics of syndromic and nonsyndromic cleft lip and palate. *J Craniofac Surg.* 2011;22:1722-1726.
5. Osoegawa K, Vessere GM, Utami KH, Mansilla MA, Johnson MK, Riley BM, et al. Identification of novel candidate genes associated with cleft lip and palate using array comparative genomic hybridisation. *J Med Genet.* 2013;45:81-86.
6. Ludwig KU, Mangold E, Herms S, Nowak S, Paul A, Becker J, et al. Genome-wide meta-analyses of nonsyndromic cleft lip with or without cleft palate identify six new risk loci. *Nat Genet.* 2012;44:968-971.

7. Ludwig KU, Ahmed ST, Böhmer AC, Sangani NB, Varghese S, Klamt J, et al. Meta-analysis Reveals Genome-Wide Significance at 15q13 for Nonsyndromic Clefting of Both the Lip and the Palate, and Functional Analyses Implicate GREM1 As a Plausible Causative Gene. *PLoS Genet*. 2016;12:1-21.
8. Cardoso ML, Bezerra JF, Oliveira GHM, Soares CD, Oliveira SR, de Souza KSC, et al. MSX1 gene polymorphisms in non-syndromic cleft lip and/or palate. *Oral Dis*. 2013;19:507-512.
9. Carinci F, Scapoli L, Palmieri A, Zollino I, Pezzetti F. Human genetic factors in nonsyndromic cleft lip and palate: an update. *Int J Pediatr Otorhinolaryngol*. 2007;71:1509-1519.
10. Bezerra JF, Oliveira GHM, Soares CD, Cardoso ML, Ururahy MAG, Neto FPF, et al. Genetic and non-genetic factors that increase the risk of non-syndromic cleft lip and/or palate development. *Oral Dis*. 2015;21:393-399.
11. de Aquino SN, Hoshi R, Bagordakis E, Pucciarelli MGR, Messetti AC, Moreira H, et al. MTHFR rs2274976 polymorphism is a risk marker for nonsyndromic cleft lip with or without cleft palate in the Brazilian population. *Birth Defects Res A Clin Mol Teratol*. 2014;100:30-35.
12. Mehrotra D. Genomic expression in non syndromic cleft lip and palate patients: a review. *J Oral Biol Craniofacial Res*. 2015;5:86-91.
13. Gowans LJJ, Adeyemo WL, Eshete M, Mossey PA, Busch T, Aregbesola B, et al. Association studies and direct DNA Sequencing Implicate Genetic Susceptibility Loci in the Etiology of Nonsyndromic Orofacial Clefts in Sub-Saharan African Populations. *J Dent Res* 2016;95:1245-1256.
14. Carreira IM, Ferreira SI, Matoso E, Pires LM, Ferrão J, Jardim A, et al. Copy number variants prioritization after array-CGH analysis – a cohort of 1000 patients. *Mol Cytogenet*. 2015;8:1-9.
15. Simioni M, Araujo TK, Monlleo IL, Maurer-Morelli CV, Gil-da-Silva-Lopes VL. Investigation of genetic factors underlying typical orofacial clefts: mutational screening and copy number variation. *J Hum Genet*. 2014;60:17-25.
16. Baker M. Structural variation: the genome's hidden architecture. *Nat Methods*. 2012;9:133-137.
17. Kearney HM, Thorland EC, Brown KK, Quintero-Rivera F, South ST. American College of Medical Genetics standards and guidelines for interpretation and reporting of postnatal constitutional copy number variants. *Genet Med*. 2011;13:680-685.
18. Miller DT, Adam MP, Aradhya S, Biesecker LG, Brothman AR, Carter NP, et al. Consensus statement: chromosomal microarray is a first-tier clinical diagnostic test for individuals with developmental disabilities or congenital anomalies. *Am J Hum Genet*. 2010;86:749-764.
19. Salahshourifar I, Halim A, Sulaiman W, Ariffin R, Naili Muhamad Nor N, Zilfalil B. De novo interstitial deletion of 1q32.2-q32.3 including the entire IRF6 gene in a patient with oral cleft and other dysmorphic features. *Cytogenet Genome Res*. 2011;134:83-87.
20. Conte F, Oti M, Dixon J, Carels CEL, Rubini M, Zhou H. Systematic analysis of copy number variants of a large cohort of orofacial cleft patients identifies candidate genes for orofacial clefts. *Hum Genet*. 2016;135:41-59.
21. Asadollahi R, Oneda B, Joset P, Azzarello-Burri S, Bartholdi D, Steindl K, et al. The clinical significance of small copy number variants in neurodevelopmental disorders. *J Med Genet*. 2014;51:677-688.
22. Poultney CS, Goldberg AP, Drapeau E, Kou Y, Harony-Nicolas H, Kajiwara Y, et al. Identification of small exonic CNV from whole-exome sequence data and application to autism spectrum disorder. *Am J Hum Genet*. 2013;93:607-619.
23. Riegel M. Human molecular cytogenetics: from cells to nucleotides. *Genet Mol Biol*. 2014;37(1 SUPPL. 1):194-209.
24. Szczaluba K, Nowakowska BA, Sobocka K, Smyk M, Castaneda J, Dudkiewicz Z, et al. High-resolution array comparative genomic hybridization utility in Polish newborns with isolated cleft lip and palate. *Neonatology*. 2015;107:173-178.
25. Gijsbers ACJ, Schoumans J, Ruivenkamp CAL. Interpretation of array comparative genome hybridization data: a major challenge. *Cytogenet Genome Res*. 2011;135:222-227.
26. de Smith AJ, Tsalenko A, Sampas N, Scheffer A, Yamada NA, Tsang P, et al. Array CGH analysis of copy number variation identifies 1284 new genes variant in healthy white males: implications for association studies of complex diseases. *Hum Mol Genet*. 2007;16:2783-2794.
27. Ingersoll RG, Hetmanski J, Park J-W, Fallin MD, McIntosh I, Wu-Chou Y-H, et al. Association between genes on chromosome 4p16 and non-syndromic oral clefts in four populations. *Eur J Hum Genet*. 2010;18:726-732.
28. Vieira A. Unraveling human cleft lip and palate research. *J Dent Res*. 2007;87:119-125.
29. Romitti PA, Lidral AC, Munger RG, Daack-Hirsch S, Burns TL, Murray JC. Candidate genes for nonsyndromic cleft lip and palate and maternal cigarette smoking and alcohol consumption: evaluation of genotype-environment interactions from a population-based case-control study of orofacial clefts. *Teratology*. 1999;59:39-50.
30. Mossey PA, Little J, Steegers-Theunissen R, Molloy A, Peterlin B, Shaw WC, et al. Genetic Interactions in Nonsyndromic Orofacial Clefts in Europe—EUROCRAN Study. *Cleft Palate Craniofac J* 2016;54:623-630.
31. Izzo G, Freitas ÉL, Krepischi ACV, Pearson PL, Vasques LR, Passos-Bueno MRS, et al. A microduplication of 5p15.33 reveals CLPTM1L6 as a candidate gene for cleft lip and palate. *Eur J Med Genet*. 2013;56:222-225.
32. Loenarz C, Ge W, Coleman ML, Rose NR, Cooper CDO, Klose RJ, et al. PHF8, a gene associated with cleft lip/palate and mental retardation, encodes for an Nε-dimethyl lysine demethylase. *Hum Mol Genet*. 2009;19:217-222.
33. Qiao Y, Liu X, Harvard C, Hildebrand MJ, Rajcan-Separovic E, Holden JJA, et al. Autism-associated familial microdeletion of Xp11.22. *Clin Genet* 2008;74:134-144.
34. Riley BM, Mansilla MA, Ma J, Daack-Hirsch S, Maher BS, Raffensperger LM, et al. Impaired FGF signaling contributes to cleft lip and palate. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2007;104:4512-4517.
35. Groen D, Chevrier C, Skytthe A, Bille C, Molsted K, Sivertsen A, et al. A cohort study of recurrence patterns among more than 54 000 relatives of oral cleft cases in Denmark: support for the multifactorial threshold model of inheritance. *J Med Genet*. 2010;47:162-168.
36. Beaty TH, Marazita ML, Leslie EJ. Genetic factors influencing risk to orofacial clefts: today's challenges and tomorrow's opportunities. *F1000Res*. 2016;5:2800.
37. Liang J, Von Den Hoff J, Lange J, Ren Y, Bian Z, Carels CEL. MSX1 mutations and associated disease phenotypes: genotype-phenotype relations. *Eur J Hum Genet*. 2016;24:1663-1670.

SUPPORTING INFORMATION

Additional Supporting Information may be found online in the supporting information tab for this article.

How to cite this article: Silva HPV, Oliveira GHM, Ururahy MAG, et al. Application of high-resolution array platform for genome-wide copy number variation analysis in patients with nonsyndromic cleft lip and palate. *J Clin Lab Anal*. 2018;e22428. <https://doi.org/10.1002/jcla.22428>

ANEXO F - Artigo RISK FACTORS AND COMORBIDITIES IN BRAZILIAN PATIENTS WITH OROFACIAL CLEFTS

Braz. oral res. vol.32 São Paulo 2018 Epub Apr 05, 2018. On-line version ISSN 1807-3107 <http://dx.doi.org/10.1590/1807-3107bor-2018.vol32.0024>

RISK FACTORS AND COMORBIDITIES IN BRAZILIAN PATIENTS WITH OROFACIAL CLEFTS

Heglayne Pereira Vital da Silva^(a)

Thaynnan Thómas Silva Arruda^(a)

Karla Simone Costa de Souza^(a)

João Felipe Bezerra^(a)

Gisele Correia Pacheco Leite^(b)

Maria Edinilma Felinto de Brito^(b)

Valéria Morgiana Gualberto Duarte Moreira Lima^(a)

André Ducati Luchessi^(a)

Raul Hernandes Bortolin^(a)

Marcela Abbott Galvão Ururahy^(a)

Adriana Augusto de Rezende^(a)

^(a)Universidade Federal do Rio Grande do Norte – UFRN, Department of Clinical and Toxicological Analyses, Natal, RN, Brazil.

^(b)Universidade Federal do Rio Grande do Norte – UFRN, Department of Pediatrics, Natal, RN, Brazil.

ABSTRACT:

Considering that environmental risk factors substantially contribute to the etiology of orofacial clefts and that knowledge about the characteristics and comorbidities associated with oral clefts is fundamental to promoting better quality of life, this study aimed to describe the risk factors, main characteristics, and comorbidities of a group of patients with cleft lip and/or cleft palate (CL/P) from Rio Grande do Norte (RN), Brazil. Data were obtained from 173 patients with CL/P using a form from the Brazilian database on Orofacial Clefts. Most patients were male with cleft lip and palate and had a normal size and weight at birth; presented few neonatal intercurrent events; and had anemia and respiratory and cardiovascular diseases as main associated comorbidities. They also required timely surgical rehabilitation and

multidisciplinary care to stimulate their neuropsychomotor development. In addition, a high frequency of familial recurrence and of parental consanguinity was evidenced in the studied population, especially for the cleft lip and cleft palate type. Other relevant findings were the considerable maternal exposure to alcohol, infections, smoking, and hypertension, as well as low supplementation with vitamins and minerals and deliberate consumption of analgesics, antibiotics, and antihypertensives during pregnancy. Characterization of the CL/P patient profile is essential for the planning of health services and integration among the health professionals involved in the diagnosis and treatment of these malformations. Our results reinforce the need for additional research to confirm the association between environmental factors and the development of orofacial clefts.

Keywords: Cleft Lip; Cleft Palate; Comorbidity; Risk Factors; Environmental Exposure

INTRODUCTION

Cleft lip and/or cleft palate (CL/P) is a congenital malformation characterized by the lack of fusion of the upper lip and/or palate, which may be present in isolation or in association with a syndrome.¹ The highest prevalence at birth of CL/P is found in Asian and native American populations (1 in 500 live births), while the lowest prevalence is observed in populations of African descent, with approximately 1 in 2,500 live births.²

In Brazil, recent studies have indicated that the mean prevalence of CL/P is 5.86 per 10,000 live births, but these rates can vary across different states.³ The southern region shows the highest prevalence, whereas the Northeast has the lowest one.³ In recent years, however, there has been an upward trend in the reported CL/P prevalence in the northern and northeastern regions attributed mainly to improved notification to the National Health Information System or, alternatively, to changes in risk factors.⁴ In Rio Grande do Norte (RN) state, in the northeastern region, a previous study reported a prevalence of 4.9 per 10,000 live births between 2000 and 2005, remaining within the incidence range of 4.82 to 5.50 per 10,000 live births between the years of 2009 and 2013.^{3,4,5}

The etiology of CL/P is attributed to genetic susceptibility and to maternal exposure to environmental risk factors, including smoking, alcohol consumption, medications, and vitamin deficiencies during pregnancy.² According to some studies, alcohol consumption can inhibit retinoic acid production, increasing the risk of CL/P.^{6,7} Smoking during pregnancy apparently doubles the risk of orofacial cleft in newborns. Moreover, *in vitro* studies have shown that tobacco inhibits palatal fusion and affects cell proliferation, leading to medial edge epithelial cell death.¹ In addition, some drugs such as anticonvulsants with antifolate activity, antihypertensives, and corticosteroids administered during morphogenesis may lead to CL/P through different cellular mechanisms.⁸ By contrast, folic acid supplementation, alone or in combination with vitamins and minerals, prevents the development of neural tube defects, and its use from before conception to 12 weeks' gestation is recommended by the World Health Organization (WHO); however, there is no clear evidence of its preventive effect on CL/P.⁹

Family history is also an important factor associated with CL/P development; actually, it has been described as the most important factor in patients with clefts.¹⁰ Familial recurrence is very common among CL/P patients, and their relatives have a high risk compared to the general population, but the risk decreases with increasing genetic distance between relatives.¹¹ The strong familial aggregation is ascribed to the multifactorial threshold model of inheritance that is characteristic of orofacial clefts, in which the probability of sharing alleles that are identical by descent is constant whether one, a few, or many genes control risk.¹²

In addition to facial deformity, CL/P patients usually present several associated comorbidities such as feeding difficulties, speech problems, dentition defects, dental malocclusion, abnormal facial growth, middle ear infections, and psychological disorders, which can be minimized or prevented through timely surgical treatment and follow-up by a multidisciplinary team.¹³ Early identification of these abnormalities and intervention are essential for the appropriate neuropsychomotor development of CL/P patients.

Considering the paucity of data on characteristics associated with the multifactorial nature of CL/P in RN, northeastern Brazil, and the need for early identification of the main CL/P complications for proper monitoring and intervention, the present study aimed to describe the characteristics, main risk factors, and associated comorbidities of a group of CL/P patients from RN, Brazil.

METHODOLOGY

Study participants

A total of 173 patients aged 1 month to 21 years presenting with CL/P either as a single entity or in combination with other diseases were recruited from the Pediatrics Unit of the Children's Hospital of the Federal University of Rio Grande do Norte (UFRN), Natal, RN, Brazil, from April 2013 to May 2015. The patients were evaluated and diagnosed by the Orofacial Cleft Multidisciplinary Program, which included a group of pediatricians, radiologists, speech therapists, cardiologists, and geneticists. The CL/P patients were classified into three groups according to Fogh-Andersen: cleft lip and palate (CLP), cleft palate (CP), and cleft lip (CL).¹⁴

The study, which is an integral part of Brazil's Craniofacial project,¹⁵ was conducted according to the guidelines set by the Research Ethics Committee of the UFRN, in compliance with the Declaration of Helsinki (process number 328.230). An informed consent was obtained from all adult participants and from the parents or legal guardians of underage patients.

Data acquisition

Data were collected through an interview with patients or with their parents or legal guardians using a pre-tested form available on the CranFlow-Brazilian database on Orofacial Clefts.¹⁶ The forms were applied after routine pediatrician visits by trained pharmacists or undergraduate students in a private room in the Pediatrics Unit. All patients treated at the hospital during the study period were invited to participate, and

those who agreed were included in the study. Those patients whose mothers or guardians did not sufficiently answer the questionnaire were excluded from the study (173 out of 180 participants remained). The form included retrospective patient information such as type and severity of cleft, gender, birth weight, birth length, head circumference at birth, neonatal and personal history, and neuropsychomotor development. Data on surgical lip and palate rehabilitation were also assessed. The questionnaire also covered retrospective parent information such as age at conception, educational level, mother's occupation during pregnancy, family history of orofacial clefts, and parental consanguinity. Obstetrical data, alcohol intake, smoking, and illicit drug use at any time during pregnancy, diagnosis of gestational diabetes, and medications used during pregnancy were also retrieved.

Data analysis

The results were presented as absolute numbers (n) and as frequency (%). Weight, length, and head circumference at birth were grouped into lower, middle, or higher according to the WHO child growth standards. Differences between categorical variables were tested by χ^2 analysis or Fisher's exact test. Significance was established at $p < 0.05$. Data were analyzed using SPSS version 15.0 (SPSS Inc., Chicago, IL, USA).

RESULTS

The characteristics of CL/P patients are shown in [Table 1](#). There was a higher prevalence of CLP, followed by CP and CL ($p < 0.001$), regarding the type of cleft. Unilateral clefts prevailed over bilateral ones, and there was a higher frequency of CL/P in male than in female patients ($p = 0.008$). At birth, most patients (70.5%) weighed between 2,500 g and 3,999 g, and body lengths ranged from 46.1 cm to 53.7 cm among boys and 45.4 to 52.9 cm among girls. Most boys had a head circumference at birth between 31.9 cm and 37.0 cm, compared to 31.5 cm to 36.2 cm in girls. Almost 25% of all patients had some neonatal intercurrent event, especially icterus and respiratory distress.

TABLE 1 DATA ON THE PATIENTS WITH OROFACIAL CLEFTS

Variable	n = 173	%	p-value
Type of cleft			
Cleft lip and palate (CLP)	81	46.8	< 0.001
Cleft palate (CP)	61	35.2	
Cleft lip (CL)	31	17.9	
Severity (CLP and CL)			
Unilateral	81	72.3	< 0.001
Bilateral	30	26.8	
Midline	1	0.9	
Gender			
Male	104	60.1	0.008
Female	69	39.9	
Birth weight			
< 2,500 g	26	15.0	< 0.001
25,00 – 3,999 g	122	70.5	
≥ 4,000 g	13	7.5	

Variable	n = 173	%	p-value
Missing data	12	6.9	
Birth length			
Boys			
< 46.1 cm	7	6.7	
46.1 – 53.7 cm	76	73.1	< 0.001
> 53.7 cm	3	2.9	
Missing data	18	17.3	
Girls			
< 45.4 cm	11	15.9	
45.4 – 52.9 cm	41	59.4	< 0.001
> 52.9 cm	6	8.7	
Missing data	11	15.9	
Head circumference at birth			
Boys			
< 31.9 cm	4	3.8	
31.9 – 37.0 cm	54	51.9	< 0.001
> 37.0 cm	1	0.9	
Missing data	45	43.2	
Girls			
< 31.5 cm	5	7.2	
31.5 – 36.2 cm	32	46.4	< 0.001
> 36.2 cm	4	5.8	
Missing data	28	40.6	
Neonatal intercurrent events			
Icterus	25	14.5	
Respiratory distress	23	13.3	
Intubation and mechanical ventilation	9	5.2	
Infections	5	2.9	< 0.001
Other	13	7.5	
None	93	53.8	
Missing data	37	21.4	
Comorbidities			
Anemia	28	16.2	
Respiratory diseases	21	12.1	
Cardiovascular diseases	17	9.8	
Neurological diseases	14	8.1	
Otitis	13	7.5	
Hearing loss	10	5.8	< 0.001
Pneumonia	9	5.2	
Gastrointestinal diseases	6	3.5	
Other	20	11.6	
None	70	40.5	
Missing data	24	13.9	
Neuropsychomotor development			
Normal for age	82	47.4	
Motor, speech and behavioral delays and NPMD _c	14	8.1	
Speech delay only	12	6.9	
Motor and speech delay	5	2.9	
Motor delay only	4	2.3	< 0.001
Speech and behavior delay	3	1.7	
Behavioral delay only	1	0.6	
Not applicable	27	15.6	
Missing data	25	14.5	
Therapy			
No	87	50.3	
Yes	51	29.5	0.002
Missing data	35	20.2	
Type of therapy			
Speech Therapy	41	23.7	
Physical therapy	8	4.6	
Psychology	5	2.9	< 0.001
Occupational therapy	4	2.3	
Other	4	2.3	

Variable	n = 173	%	p-value
Syndrome			
Nonsyndromic	119	68.8	
Syndromic	47	27.2	< 0.001
Not classified	7	4.0	

^aTotal number of neonatal complications and frequency relative to the whole study group;

^bTotal number of comorbidities and frequency relative to the whole study group;

^cNPMD, Neuropsychomotor developmental delay.

Associated comorbidities or complications were present in 45.7% of the patients ([Table 1](#)). The most frequent comorbidities included anemia (16.2%), followed by respiratory diseases such as asthma, rhinitis, cold, and influenza (12.1%); cardiovascular diseases such as patent foramen ovale and ventricular septal defect (9.8%); and neurological diseases such as autism and epilepsy (8.1%).

Eighty-two patients (47.4%) showed appropriate neuropsychomotor development for their age. However, 8.1% showed concomitant motor, speech, and behavioral delay or diagnosis of neuropsychomotor development delay, while 6.9% presented only speech delay. Half of the patients did not attend any supportive therapy. Almost 30% of those who underwent therapy attended speech therapy.

Lip and palate surgical repair outcomes are shown in [Table 2](#). A total of 49 CLP or CP patients had already undergone their first palatoplasty and 67 had already undergone their first cheiloplasty. Most cheiloplasty patients were aged 6 to 12 years (46.9%), while palatoplasty patients were aged 1 to 2 months (53.7%). A high percentage of patients had not undergone any surgery and an even larger percentage exceeded the standard age for both cheiloplasty (72.7%) and palatoplasty (59%).

TABLE 2 DATA ON LIP AND PALATE SURGICAL REPAIR

Variable	n = 173	%	p-value
Age at first surgical repair			
Cheiloplasty			
< 6 months old	18	26.9	0.001
6–12 months old	36	53.7	
13 month–5 years old	13	19.4	
> 5 years old	0	0.0	
Total	67	100	
Palatoplasty			
< 1 year old	6	12.2	< 0.001
1–2 years old	23	46.9	
2–5 years old	16	32.7	
> 5 years old	4	8.2	
Total	49	100	
Delay in surgical repair			
Cheiloplasty			
Waiting for surgery and on time	9	27.3	0.009
Waiting for surgery and delay	24	72.7	
Total	33	100	

Variable	n = 173	%	p-value
Palatoplasty			
Waiting for surgery and on time	32	41.0	0.113
Waiting for surgery and delay	46	59.0	
Total	78	100	

A higher frequency was found for conception at the ages of 20 to 30 years for both fathers and mothers (46.2% and 54.9%, respectively) (Table 3). Mean paternal age at conception was 29.4 ± 8.3 years, whereas mean maternal age at conception was 26.6 ± 6.5 years (data not shown). There were no differences between the mean maternal ages of syndromic (34.3 ± 6.9) and non-syndromic patients (33.9 ± 8.6) (data not shown).

TABLE 3 DATA ON PARENTS OF OROFACIAL CLEFT PATIENTS

Most fathers and mothers (27.7% and 39.9%, respectively) had finished high school (Table 3). However, proportionately, mothers had reached higher levels of education than fathers, verified by the higher frequencies of high school and college attendance (39.9% vs. 27.7% and 8.1% vs. 5.2%, respectively). Mothers were mostly homemakers during the gestational period (51.4%). Parental consanguinity was detected in 8.1% of the cases, first cousins being the most common type of kinship. Familial history was found in 39.3% (Table 3).

The obstetric history and birth characteristics of studied patients (Table 4) evidences that most pregnancies were spontaneous (98.3%); Cesarean sections were the most frequent type of birth (41.6%); and most pregnancies reached full term (56.1%). Furthermore, the largest proportion of mothers had one or two pregnancies (31.8% and 32.4%, respectively) with the first child being the most frequently affected by clefts (40.5%). Thirty mothers (17.3%) had at least one miscarriage, and only eight (4.6%) attempted to terminate pregnancy. Prenatal history revealed that 22.5% of the mothers had consumed alcohol during pregnancy, 13.9% had had urinary tract infection, 11.6% had smoked during pregnancy, and 11.0% had been diagnosed with gestational hypertension or preeclampsia. Bleeding and gestational diabetes were also frequently reported. As additional information, two mothers reported direct and daily contact with gases such as ammonia and those obtained from the evaporation of paint and solvent while working in the industrial sector during the first trimester.

TABLE 4 OBSTETRIC HISTORY AND BIRTH CHARACTERISTICS OF STUDIED PATIENTS

Variable	n = 173	%	p-value
Conception method			
Spontaneous	170	98.3	< 0.001

Variable	n = 173	%	p-value
Assisted	3	1.7	
Type of Birth			
Vaginal	65	37.6	0.550
Cesarean	72	41.6	
Missing data	36	20.8	
Timing of birth			
Preterm	24	13.9	< 0.001
Full-term	97	56.1	
Post-term	17	9.8	
Missing data	35	20.2	
Number of pregnancies			
1	55	31.8	0.003
2	56	32.4	
3	31	17.9	
> 03	31	17.9	
Birth order			
1 st	70	40.5	< 0.001
2 nd	51	29.5	
3 rd	26	15.0	
> 3 rd	26	15.0	
Miscarriage			
No	143	82.7	< 0.001
Yes	30	17.3	
Termination of pregnancy attempts			
No	163	94.2	< 0.001
Yes	8	4.6	
Missing data	2	1.2	
Prenatal history			
Alcohol consumption	39	22.5	< 0.001
Urinary tract infection	24	13.9	
Smoking	20	11.6	
Hypertension	19	11.0	
Bleeding	15	8.7	
Diabetes Mellitus	10	5.8	
Illegal drug use	7	4.0	
Other	30	17.3	
Medications used during pregnancy			
Folic acid	42	24.3	< 0.001
Iron	37	21.4	
Analgesic	30	17.3	
Antibiotic	29	16.8	
Antihypertensive	15	8.7	
Vitamin supplementation	12	6.9	
Anti-inflammatory	7	4.0	
Anti-abortion drug	6	3.5	
Antiemetic	4	2.3	
Hypoglycemic agent	3	1.7	
Other	22	12.7	
None	70	40.5	
Missing data	2	1.2	

Folic acid and iron supplementation during pregnancy was reported by 24.3% and 21.4% of the mothers, respectively. In addition to these supplements, analgesics (17.3%) such as dipyron and paracetamol, followed by antibiotics (16.8%) – most

notably cephalixin and macrodantin, were taken. The use of antihypertensives (8.7%), especially methyldopa, to treat gestational hypertension was frequently reported. Vitamin supplements, corticosteroids, progesterone, and metoclopramide were also mentioned.

Table 5 shows the risk factors commonly associated with susceptibility to CL/P according to type of cleft. CLP was statistically more frequent in male than in female participants, among whom CP was more prevalent ($p = 0.013$). Family history of clefts (19.7%; $p = 0.035$) and bleeding episodes during pregnancy (6.9%; $p = 0.028$) were most often found in the CLP group. There were no statistically significant differences among cleft types with regard to other risk factors.

TABLE 5 RISK FACTORS ACCORDING TO CLEFT TYPES

Variable	CLP	CP	CL	p-value
Gender				
Male	57 (32.9)	28 (16.2)	19 (11.0)	0.013
Female	24 (13.9)	33 (19.1)	12 (6.9)	
Paternal age at conception				
< 35 years old	55 (31.8)	37 (21.4)	24 (13.9)	0.476
≥ 35 years old	16 (9.2)	15 (8.7)	5 (2.9)	
Maternal age at conception				
< 35 years old	71 (41.0)	53 (30.6)	29 (16.8)	0.611
≥ 35 years old	10 (5.8)	8 (4.6)	2 (1.2)	
Parental consanguinity				
No	71 (41.0)	58 (3.5)	30 (17.3)	0.151
Yes	10 (5.8)	3 (1.7)	1 (0.6)	
Family history				
No	47 (27.2)	44 (25.4)	14 (8.1)	0.035
Yes	34 (19.7)	17 (9.8)	17 (9.8)	
Bleeding during pregnancy				
No	68 (39.3)	58 (33.5)	29 (16.8)	0.028
Yes	12 (6.9)	2 (1.2)	1 (0.6)	
Maternal alcohol consumption				
No	65 (37.6)	45 (26.0)	23 (13.3)	0.657
Yes	16 (9.2)	16 (9.2)	7 (4.0)	
Maternal smoking				
No	73 (42.2)	55 (31.8)	24 (13.9)	0.134
Yes	8 (4.6)	6 (3.5)	6 (6.5)	
Maternal illegal drug use				
No	77 (44.5)	59 (34.1)	29 (16.8)	0.862
Yes	4 (2.3)	2 (1.2)	1 (0.6)	
Gestational diabetes				
No	75 (43.4)	59 (34.1)	28 (16.2)	0.568
Yes	6 (3.5)	2 (1.2)	2 (1.2)	
Folic acid supplementation				
No	63 (36.4)	46 (26.6)	20 (11.6)	0.423
Yes	17 (9.8)	15 (8.7)	10 (5.8)	

CLP: cleft lip and palate; CP: cleft palate; CL: cleft lip.

DISCUSSION

CL/P global prevalence, the need for an integrated long-term multidisciplinary treatment, and economic impact have prompted WHO to consider CL/P a public health problem.¹⁷

In the present study, aimed at describing the characteristics, comorbidities, and main risk factors of a group of patients with CL/P from RN, Brazil, we observed a higher prevalence of unilateral CLP followed by CP, and male participants were more affected than female ones. CLP was also more frequent in male participants whereas CP was more frequent in female participants. Most of the assessed patients had normal weight, height, and head circumference at birth and exhibited a low frequency of neonatal intercurrent events. This finding is in agreement with previous reports of higher prevalence of CL/P among male patients and of CLP as the most common type of cleft both in Brazil and worldwide.^{18,19} According to the literature, gender differences in the risk for CL/P and CP are explained by the multifactorial threshold model in which the etiology of orofacial clefts is inserted.¹² As in the present study, no evidence of low birth weight and short stature was found in follow-up studies with CL/P children.²⁰

A considerable number of associated comorbidities were found in the studied patients, especially anemia, followed by respiratory problems and cardiovascular diseases. These findings are in line with those observed by Dvivedi and Dvivedi,²¹ who identified anemia in most of the 4,657 CL/P cases studied in India,²¹ and by Nagalo et al.,²² who found anemia as the most frequent comorbidity in 185 children with CL/P, followed by respiratory infections in Western Africa. The same results were obtained by Kulkarni et al. (2013).²³ Anemia in CL/P patients is attributed mainly to feeding difficulty, while respiratory problems are frequently associated with irritation of the nasal and respiratory cavities by food and saliva, which also predisposes to recurrent infections. The frequency of cardiovascular malformations found by Harry et al.²⁴ in 10% of CL/Ps cases was similar to that of the present study. Cardiac anomalies are associated with the common development of both palate and heart between 5 and 9 weeks of gestation as part of cardiac and craniofacial development, which relies on complex signaling processes among interdependent embryonic tissues.²⁴

Other complications commonly seen in CL/P patients are related to neuropsychomotor development. We observed concomitant motor, speech, and behavioral delay, followed by speech delay only. Moreover, 50% of the assessed children and adolescents did not participate in any supportive therapy, and only 23.7% attended speech therapy. Similar results were found by Feragen et al.²⁵ in a study with 754 children with CL/P in which 32% had alterations such as developmental delay, attention deficit/hyperactivity disorder, or a specific speech impairment or dyslexia. Despite early cleft repair, some children exhibit "cleft palate speech," characterized by atypical consonant productions, abnormal nasal

resonance, abnormal nasal airflow, altered laryngeal voice quality, and nasal or facial grimaces, demonstrating the importance of patient follow-up by a multidisciplinary team.²⁶

Lip and palate surgical repair is an important aspect to be considered in the treatment of CL/P patients, but the ideal timing for the repair remains controversial. It has been recommended that cleft lip surgical repair be performed at least 3 months of age – preferably at 4 or 5 months, if possible, and that cleft palate not be corrected after the age of 18 months.²⁷ At such ages, anesthesia is safer, the repair is more accurate, and malformations are more easily accepted by parents.²⁸ In the present study, most patients underwent palatoplasty and cheiloplasty at the recommended repair time with a few months' delay. However, there was a long delay among patients who had not undergone surgery yet. This indicates that poor access to surgical treatment and inappropriate management and planning of health services in Brazil are a hindrance, as pointed out previously.³ Delay in performing the surgery leads to a series of consequences such as difficulty eating, speaking, and listening; psychological problems; stigmatization; social exclusion; and unemployment.^{3,29}

By analyzing the characteristics of the parents of children with CL/P in the present study, there was no association between advanced age of mothers and fathers and the occurrence of orofacial clefts. Along the same line, Campos Neves et al.,⁶ in a study with 116 orofacial cleft patients from Mato Grosso, Brazil, found 60.34% of the mothers were aged 20 to 34 years and 82.76% of the fathers were aged 20 to 39 years at the onset of pregnancy. Studies performed in Canada, Iran, the Netherlands, and South America did not find an association between advanced maternal age and CL/P or CP.³⁰ Advanced ages may be related to cumulative changes in gametes throughout life caused by environmental exposures or chromosomal alterations (lifelong medication use, prevalence of chronic diseases, and socioeconomic factors), as well as low selectivity of the uterus regarding defective embryos and higher placental permeability to teratogenic agents.³¹

Although the etiology of CL/P is still not fully understood, genetic susceptibility has been shown as one of the most important associated causes.² Family history of CL/P in the present study corroborates previous findings of high rates of familial recurrence.^{1,32} Brito et al.,³² in a study with 1,042 families from five different locations in Brazil, observed a familial recurrence similar to that observed in the present study, in Barbalha (37%) and in Fortaleza (40%) in the Brazilian state of Ceará. Martelli-Junior et al.³³ found that 35.1% of 185 non-syndromic CL/P patients from Minas Gerais, Brazil, had a positive family history of orofacial clefts. A 30% frequency was found by Figueiredo et al.³⁴ in a study with 40 CL/P patients from Cuiabá, Brazil. Consistent with Leite and Kofman's study of a Brazilian sample from Rio de Janeiro, the family history found in the present study was statistically more frequent in CLP cases.³⁵ Cohort studies indicate that relatives of orofacial cleft

patients were at a higher risk than the general population, showing a steep decrease in such risk as the genetic distance between relatives increases.¹¹

The parental consanguinity rate found in the present study (8.1%) was close to that found by Brito et al.³² in Fortaleza, Brazil (11.5%), but it was higher than the 4% reported by Leite and Koifman³⁵ in Rio de Janeiro, Brazil and the 5% presented by Alvarez et al.³⁶ in a study with 356 patients from São Paulo, Brazil. The results found here reinforce the inheritable nature of this malformation, probably due to consanguineous marriages typical of the region where the study population is from, and also highlight the importance of genetic counseling for this population.

The prenatal history data presented here concur with those of previous publications: alcohol use and cigarette smoking may be associated with the development of craniofacial malformation.⁷ Frequencies of alcohol consumption during pregnancy slightly lower than in the present study (22.5%) were reported by Campos Neves et al.⁶ (17.2%) and by Bezerra et al.³⁷ (15%), both for the Brazilian population. A frequency of smoking higher than that observed in the present study (11.6%) was found by Nilsson et al.³⁸ in a study of Swedish children with CL/P, in which 23% of the mothers reported cigarette smoking during pregnancy. A 45% frequency of pregnant women who smoked at any time during pregnancy was found by Little et al.³⁹ in a study with 190 CL/P patients from Scotland and England. These findings make us hypothesize that maternal smoking has different effects on the risk of orofacial clefts.

Previous literature associated the use of drugs (especially phenytoin, phenobarbital, benzodiazepines, and corticosteroids) during pregnancy with CL/P occurrence; however, in the present study, these drugs were administered at low frequencies, and the most common drugs used were folic acid, iron, analgesics, antibiotics, and antihypertensives. Although folic acid was the most widely used drug, considering the whole sample, there was a low percentage of mothers on supplementation with this substance (24.3%). Higher folic acid supplementation during pregnancy was observed by McKinney et al.⁴⁰ in a study with 86 CL/P patients from Thailand (35.8%) and by Taghavi et al.⁴¹ in a study with 300 CL/P patients from Iran with frequencies of 93.7% and 80.3% of folic acid and iron intake, respectively. Nevertheless, the effects of folic acid supplementation on orofacial clefts are paradoxical. While in the McKinney et al. (2013)⁴⁰ study the use of this supplement did not statistically decrease the risk of having an affected child, the Taghavi et al.⁴¹ study showed a lower risk for orofacial clefts.

The limitations of the present study include the small cohort of patients enrolled, the study design as a descriptive rather than a case-control study, and the collection of data through interviews after the birth of the patients, which is more likely to be

associated with decreases in the quality of data and with inaccurate answers due to forgetfulness or unrealistic responses as a result of being overcome with shyness. It is also important to mention that when conclusions about individual-level relationships are inferred from area-level analyses, there is a risk of committing an ecological inference fallacy, which is one of the disadvantages of ecological studies, as is the case of the present study. However, ecological studies are important as they allow an initial examination of the status and needs of communities, especially of health status.⁴²

CONCLUSIONS

This study provided an overview of several aspects related to the development and monitoring of CL/P patients, highlighting the risk factors and comorbidities presented by this population in a developing country. Most patients were male with CLP type and born of normal size and weight and presented few neonatal intercurrent events and had or have anemia, respiratory, and cardiovascular diseases as the main associated comorbidities. They also needed timely surgical rehabilitation and multidisciplinary care to stimulate their neuropsychomotor development. Other relevant findings were the considerable maternal exposure to alcohol, infections, smoking, and hypertension, as well as low supplementation of vitamins and minerals and use of analgesics, antibiotics, and antihypertensives during pregnancy. In addition, a high frequency of familial recurrence and mainly of parental consanguinity was evidenced in the studied population, especially in CLP patients. Knowledge of CL/P patient profiles is important to aid professionals with the better management and planning of local health services made available to CL/P patients. Furthermore, our findings reinforce the need for further confirmation of environmental risk factors associated with the development of orofacial clefts.

ACKNOWLEDGEMENTS

We are thankful for the technical support provided by students from the LABMULT/UFRN/RN. We thank all the physicians, nurses, and hospital staff at the Children's Hospital of UFRN who were involved in this study. The authors also thank all children, adolescents, and young adults with CL/P and their parents who gave their consent and participated in the study.

REFERENCES

1. Wehby GL, Uribe LM, Wilcox AJ, Christensen K, Romitti PA, Munger RG et al. Interaction between smoking and body mass index and risk of oral clefts. *Ann*

Epidemiol. 2017 Feb;27(2):103107.e2.
<https://doi.org/10.1016/j.annepidem.2016.11.009> [Links]

2. Dixon MJ, Marazita ML, Beaty TH, Murray JC. Cleft lip and palate: understanding genetic and environmental influences. *Nat Rev Genet.* 2011 Mar;12(3):167-78. <https://doi.org/10.1038/nrg2933> [Links]

3. Sousa GF, Roncalli AG. Orofacial clefts in Brazil and surgical rehabilitation under the Brazilian National Health System. *Braz Oral Res.* 2017 Mar;31(0):e23. <https://doi.org/10.1590/1807-3107bor-2017.vol31.0023> [Links]

4. Abreu MH, Lee KH, Luquetti DV, Starr JR. Temporal trend in the reported birth prevalence of cleft lip and/or cleft palate in Brazil, 2000 to 2013. *Birth Defects Res A Clin Mol Teratol.* 2016 Sep;106(9):789-92. <https://doi.org/10.1002/bdra.23528> [Links]

5. Figueirêdo CJ, Vasconcelos WK, Maciel SS, Maciel WV, Gondim LA, Tassitano RM. Prevalência de fissuras orais no Estado do Rio Grande do Norte, Brasil, entre 2000 e 2005. *Rev Paul Pediatr.* 2011 Mar;29(1):29-34. <https://doi.org/10.1590/S0103-05822011000100005> [Links]

6. Campos Neves AT, Volpato LE, Espinosa MM, Aranha AM, Borges AH. Environmental factors related to the occurrence of oral clefts in a Brazilian subpopulation. *Niger Med J.* 2016 May-Jun;57(3):167-72. <https://doi.org/10.4103/0300-1652.184064> [Links]

7. DeRoo LA, Wilcox AJ, Lie RT, Romitti PA, Pedersen DA, Munger RG et al. Maternal alcohol binge-drinking in the first trimester and the risk of orofacial clefts in offspring: a large populationbased pooling study. *Eur J Epidemiol.* 2016 Oct;31(10):102134. <https://doi.org/10.1007/s10654-016-0171-5> [Links]

8. Skuladottir H, Wilcox AJ, Ma C, Lammer EJ, Rasmussen SA, Werler MM et al. Corticosteroid use and risk of orofacial clefts. *Birth Defects Res A Clin Mol Teratol.* 2014 Jun;100(6):499-506. <https://doi.org/10.1002/bdra.23248> [Links]

9. De-Regil LM, Fernández-Gaxiola AC, Dowswell T, Peña-Rosas JP. Effects and safety of periconceptional folate supplementation for preventing birth defects.

Cochrane Database Syst Rev. 2010 Oct;(10):CD007950. <https://doi.org/10.1002/14651858.CD007950.pub2>. [Links]

10. Gil-da-Silva-Lopes VL, Monlleó IL. Risk factors and the prevention of oral clefts. *Braz Oral Res.* 2014 Jan 12;28(spe):1-5. <https://doi.org/10.1590/S1806-83242014.50000008> [Links]

11. Grosen D, Chevrier C, Skytthe A, Bille C, Mølsted K, Sivertsen A et al. A cohort study of recurrence patterns among more than 54,000 relatives of oral cleft cases in Denmark: support for the multifactorial threshold model of inheritance. *J Med Genet.* 2010 Mar;47(3):162-8. <https://doi.org/10.1136/jmg.2009.069385> [Links]

12. Beaty TH, Marazita ML, Leslie EJ. Genetic factors influencing risk to orofacial clefts: today's challenges and tomorrow's opportunities. *F1000 Res.* 2016 Nov;5(0):2800. <https://doi.org/10.12688/f1000research.9503.1> [Links]

13. Zhao YJ, Xiong YX, Wang Y. Three-dimensional accuracy of facial scan for facial deformities in clinics: a new evaluation method for facial scanner accuracy. *PLoS One.* 2017 Jan;12(1):e0169402. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0169402> [Links]

14. Fogh-Andersen P. Inheritance of harelip and cleft palate: contribution to the elucidation of the etiology of the congenital clefts of the face. København: Munksgaard; 1942. [Links]

15. Monlleó IL, Gil-da-Silva-Lopes VL. Brazil's Craniofacial Project: genetic evaluation and counseling in the reference network for craniofacial treatment. *Cleft Palate Craniofac J.* 2006 Sep;43(5):577-9. <https://doi.org/10.1597/04-203> PMID:16986979 [Links]

16. Monlleó IL, Fontes MÍ, Ribeiro EM, de Souza J, Leal GF, Félix TM et al. Implementing the brazilian database on orofacial clefts. *Plast Surg Int.* 2013;2013:641570. <https://doi.org/10.1155/2013/641570> [Links]

17. Agbenorku P. Orofacial clefts: a worldwide review of the problem. *ISRN Plast Surg.* 2013;2013:ID348468. <https://doi.org/10.5402/2013/348465> [Links]

18. Asani M, Aliyu I. Pattern of congenital heart defects among children with orofacial clefts in Northern Nigeria. *J Cleft Lip Palate Craniofacial Anomalies*. 2014;1(2):85. <https://doi.org/10.4103/2348-2125.137895> [Links]
19. Martelli DR, Machado RA, Swerts MS, Rodrigues LA, Aquino SN, Martelli Júnior H. Non syndromic cleft lip and palate: relationship between sex and clinical extension. *Braz J Otorhinolaryngol*. 2012 Oct;78(5):116-20. [Links]
20. Jagomagi T, Soots M, Saag M. Epidemiologic factors causing cleft lip and palate and their regularities of occurrence in Estonia. *Stomatologija*. 2010;12(4):105-8. [Links]
21. Dvivedi J, Dvivedi S. A clinical and demographic profile of the cleft lip and palate in Sub-Himalayan India: A hospitalbased study. *Indian J Plast Surg*. 2012 Jan;45(1):115-20. <https://doi.org/10.4103/0970-0358.96602> [Links]
22. Nagalo K, Ouédraogo I, Laberge JM, Caouette-Laberge L, Turgeon J. Congenital malformations and medical conditions associated with orofacial clefts in children in Burkina Faso. *BMC Pediatr*. 2017 Mar;17(1):72. <https://doi.org/10.1186/s12887-017-0833-9> [Links]
23. Kulkarni KR, Patil MR, Shirke AM, Jadhav SB. Perioperative respiratory complications in cleft lip and palate repairs: an audit of 1000 cases under 'Smile Train Project'. *Indian J Anaesth*. 2013 Nov;57(6):562-8. <https://doi.org/10.4103/0019-5049.123328> [Links]
24. Harry BL, TeBockhorst S, Deleyiannis FW. The impact of congenital cardiovascular malformations on the assessment and surgical management of infants with cleft lip and/or palate. *Cleft Palate Craniofac J*. 2013 May;50(3):323-9. <https://doi.org/10.1597/12-131> [Links]
25. Feragen KB, Stock NM, Rumsey N. Toward a reconsideration of inclusion and exclusion criteria in cleft lip and palate: implications for psychological research. *Cleft Palate Craniofac J*. 2014 Sep;51(5):569-78. <https://doi.org/10.1597/12-326> [Links]
26. Sell D, Grunwell P, Mildinhall S, Murphy T, Cornish TA, Bearn D et al. Cleft lip and palate care in the United Kingdom: The Clinical Standards Advisory Group (CSAG) Study. Part 3: speech outcomes. *Cleft Palate Craniofac J*. 2001

Jan;38(1):30-7. [https://doi.org/10.1597/15451569\(2001\)038<0030:CLAPCI>2.0.CO;2](https://doi.org/10.1597/15451569(2001)038<0030:CLAPCI>2.0.CO;2) [Links]

27. Crockett DJ, Goudy SL. Cleft lip and palate. *Facial Plast Surg Clin North Am.* 2014 Nov;22(4):573-86. <https://doi.org/10.1016/j.fsc.2014.07.002> [Links]

28. American Cleft Palate-Craniofacial Association. Parameters for evaluation and treatment of patients with cleft lip/palate or other craniofacial anomalies. *Cleft Palate-Craniofacial J.* 1993 Mars;30 Suppl:S1-16. [Links]

29. Mossey PA, Shaw WC, Munger RG, Murray JC, Murthy J, Little J. Global oral health inequalities: challenges in the prevention and management of orofacial clefts and potential solutions. *Adv Dent Res.* 2011 May;23(2):247-58. <https://doi.org/10.1177/0022034511402083> [Links]

30. Vieira AR, Orioli IM, Murray JC. Maternal age and oral clefts: a reappraisal. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 2002 Nov;94(5):530-5. <https://doi.org/10.1067/moe.2002.128875> [Links]

31. Herkrath AP, Herkrath FJ, Rebelo MA, Vettore MV. Parental age as a risk factor for non-syndromic oral clefts: a meta-analysis. *J Dent.* 2012 Jan;40(1):3-14. <https://doi.org/10.1016/j.jdent.2011.10.002> [Links]

32. Brito LA, Cruz LA, Rocha KM, Barbara LK, Silva CB, Bueno DF et al. Genetic contribution for non-syndromic cleft lip with or without cleft palate (NS CL/P) in different regions of Brazil and implications for association studies. *Am J Med Genet A.* 2011 Jul;155A(7):1581-7. <https://doi.org/10.1002/ajmg.a.34036> [Links]

33. Martelli DR, Bonan PR, Soares MC, Paranaíba LR, Martelli-Júnior H. Analysis of familial incidence of non-syndromic cleft lip and palate in a Brazilian population. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal.* 2010 Nov;15(6):e898-901. <https://doi.org/10.4317/medoral.15.e898> [Links]

34. Figueiredo RF, Figueiredo N, Feguri A, Bieski I, Mello R, Espinosa M et al. The role of the folic acid to the prevention of orofacial cleft: an epidemiological study. *Oral Dis.* 2015 Mar;21(2):240-7. <https://doi.org/10.1111/odi.12256> [Links]

35. Leite IC, Koifman S. Oral clefts, consanguinity, parental tobacco and alcohol use: a case-control study in Rio de Janeiro, Brazil. *Braz Oral Res.* 2009 Jan-Mar;23(1):31-7. <https://doi.org/10.1590/S1806-83242009000100006> [Links]

36. Alvarez CW, Guion-Almeida ML, Richieri-Costa A. Clinical and genetic study on 356 Brazilian patients with a distinct phenotype of cleft lip and palate without alveolar ridge involvement. *J Craniomaxillofac Surg.* 2014 Dec;42(8):1952-7. <https://doi.org/10.1016/j.jcms.2014.08.007> [Links]

37. Bezerra JF, Oliveira GH, Soares CD, Cardoso ML, Ururahy MA, Neto FP et al. Genetic and non-genetic factors that increase the risk of non-syndromic cleft lip and/or palate development. *Oral Dis.* 2015 Apr;21(3):393-9. <https://doi.org/10.1111/odi.12292> [Links]

38. Nilsson S, Merlo J, Lyberg-Åhlander V, Psouni E. Psychotropic drug use in adolescents born with an orofacial cleft: a population-based study. *BMJ Open.* 2015 Apr;5(4):e005306. <https://doi.org/10.1136/bmjopen-2014-005306> [Links]

39. Little J, Cardy A, Arslan MT, Gilmour M, Mossey PA. Smoking and orofacial clefts: a United Kingdom-based case-control study. *Cleft Palate Craniofac J.* 2004 Jul;41(4):381-6. <https://doi.org/10.1597/02-142.1> [Links]

40. McKinney CM, Chowchuen B, Pitiphat W, Derouen T, Pisek A, Godfrey K. Micronutrients and oral clefts: a case-control study. *J Dent Res.* 2013 Dec;92(12):1089-94. <https://doi.org/10.1177/0022034513507452> [Links]

41. Taghavi N, Mollaian M, Alizadeh P, Moshref M, Modabernia S, Akbarzadeh AR. Orofacial clefts and risk factors in tehran, iran: a case control study. *Iran Red Crescent Med J.* 2012 Jan;14(1):25-30. [Links]

42. Sedgwick P. Understanding the ecological fallacy. *BMJ.* 2015 Sep;351(September):h4773. <https://doi.org/10.1136/bmj.h4773> [Links]

Received: September 13, 2017; Revised: January 31, 2018; Accepted: February 19, 2018

Corresponding Author: Adriana Augusto de Rezende E-mail:
adirezende@yahoo.com

Declaration of Interest: The authors certify that they have no commercial or associative interest that represents a conflict of interest in connection with the manuscript.