**UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
HOSPITAL DE REABILITAÇÃO DE ANOMALIAS CRANIOFACIAIS**

MARILYSE DE BRAGANÇA LOPES FERNANDES

**Síndromes de Apert e Crouzon:
perfil cognitivo e análise molecular**

**BAURU
2011**

MARILYSE DE BRAGANÇA LOPES FERNANDES

**Síndromes de Apert e Crouzon:
perfil cognitivo e análise molecular**

Dissertação apresentada ao Hospital de Reabilitação de Anomalias Craniofaciais da Universidade de São Paulo para obtenção do título de MESTRE em Ciências da Reabilitação.

Área de concentração: Fissuras Orofaciais e Anomalias Relacionadas
Orientador: Prof. Dr. Adriano Yacubian Fernandes

BAURU

2011

**AUTORIZO A REPRODUÇÃO E DIVULGAÇÃO TOTAL OU PARCIAL DESTE
TRABALHO, POR QUALQUER MEIO CONVENCIONAL OU ELETRÔNICO, PARA
FINS DE ESTUDO E PESQUISA, DESDE QUE CITADA A FONTE.**

Fernandes, Marilyse de Bragança Lopes

F391s Síndrome de Apert e Crouzon: perfil cognitivo e
análise molecular / Marilyse de Bragança Lopes
Fernandes. Bauru, 2011.
111 p.; il.; 30 cm.

Dissertação (Mestrado – Área de Concentração:
Fissuras Orofaciais e Anomalias Relacionadas) –
Hospital de Reabilitação de Anomalias Craniofaciais,
Universidade de São Paulo.

Orientador: Prof. Dr. Adriano Yacubian Fernandes

1. Craniossinostose. 2. Síndrome de Apert.
3. Síndrome de Crouzon. 4. Biologia molecular
5. Quociente de inteligência. 6. Sistema nervoso central.

FOLHA DE APROVAÇÃO

Marilyse de Bragança Lopes Fernandes

Dissertação apresentada ao Hospital de Reabilitação de Anomalias Craniofaciais da Universidade de São Paulo para obtenção do título de MESTRE em Ciências da Reabilitação.
Área de Concentração: Fissuras Orofaciais e Anomalias Relacionadas

Aprovado em:

Banca Examinadora

Prof. Dr. _____

Instituição _____ Assinatura _____

Prof. Dr. _____

Instituição _____ Assinatura _____

Prof. Dr. Adriano Yacubian Fernandes - Orientador
Hospital de Reabilitação de Anomalias Craniofaciais-USP

Profa. Dra. Inge Elly Kiemle Trindade
Presidente da Comissão de Pós-Graduação do HRAC-USP

Data de depósito da Dissertação junto à SPG: ____/____/____

DEDICATÓRIA

Aos meus queridos pais, Mario e Lindanir

AGRADECIMENTOS

Pai e Mãe, agradeço os ensinamentos, dedicação, carinho e paciência que vocês generosamente sempre ofereceram. Sou fruto de vocês, com toda beleza e riqueza inerentes às "imperfeições do existir".

Mãe, você é uma lutadora incansável. Admiro-te muito! Obrigada pelo apoio e respeito!

Pai, apesar do momento difícil, com adoecimento e algumas perdas, você é e continuará sendo "o cara" em minha vida. É muito bom ter você por perto!
Amo vocês!

Às minhas irmãs, obrigada pelos poucos, mas deliciosos finais de semana, ocorridos nesses últimos anos e pelas três fofuras que trouxeram ao mundo:

Aninha, Neto e Henrique, fonte de inspiração quanto às possibilidades do viver e do amanhã.

À **Jana**, pessoa muito especial, parceira e amiga de todas as horas, incentivando e apoiando-me nos momentos de fragilidade, colaboradora direta na realização desse trabalho. **Jan**, tua verdade me encanta, trouxe a esperança e novos caminhos.
Meu eterno agradecimento!

Ao **Prof. Dr. Adriano Yacubian Fernandes**, meu orientador e também amigo nas horas difíceis, em que dúvidas e angústias abalaram minhas crenças na possibilidade. Parceiro de reflexões sobre a vida, as ciências médicas, o fazer, a experiência. Muito obrigada!

À **Profa. Dra. Luciana Paula Maximino** e à **Profa. Dra. Dagma Venturini Marques Abramides**, por comentários e sugestões na ocasião do exame de qualificação. Também pela gentileza e disponibilidade com que sugeriram ótimos caminhos.

À **Profa. Dra. Inge Elly Kiemle Trindade**, presidente da comissão de pós-graduação do HRAC-USP, agradeço o exemplo, o incentivo e confiança.

À **Dra. Roseli Maria Zechi Ceide** e à **Profa. Dra. Maria Rita dos Santos e Passos Bueno**, por críticas e sugestões na elaboração e execução dessa dissertação.

Ao **Prof. Dr. Alceu Sérgio Trindade Junior**, por críticas construtivas que proporcionaram melhor entendimento e novo sentido ao processo.

A todos que colaboraram direta ou indiretamente na execução e finalização desse trabalho, particularmente ao “**Mestre**” **Rubens Matias Rodrigues**, biólogo do Laboratório de Citogenética, que gentilmente coletou as amostras de sangue dos pacientes, diversas vezes em horários não programados. Muito obrigada!

Aos funcionários do **SAME**, principalmente a chefe do agendamento **Célia Gasparelli** e a auxiliar administrativo **Célia**, que não mediram esforços, para os agendamentos e inúmeras remarcações das consultas, inclusive com convocações de pacientes. Apoio fundamental. Muito obrigada!

Aos meus queridos e caros amigos, companheiros de ótimas elucubrações, reflexões e idéias geniais, carinho e diversão da boa. Apesar dos ocasionais encontros nos últimos tempos, meu coração sempre pulsa mais e forte ao lembrar-me de cada um.

Aos carinhosos e eficientes funcionários da secretaria de pós-graduação do HRAC, **Andreia, Zezé e Rogério**, obrigada por toda paciência e atenção.

Aos professores dos cursos da pós-graduação do HRAC-USP, agradeço as demonstrações de respeito e honestidade com as ciências e o saber.

Aos **colegas da pós-graduação**, por apoio em várias atividades e compreensão sobre as ausências por causa da correria do dia a dia.

Aos funcionários da **UEP**, particularmente **Rose** e **Denise**, por orientações quanto às normas para a construção do texto da dissertação.

Aos **pacientes e seus pais**, razão original desse estudo, agradeço pela colaboração plena, demonstração de esperança e disposição em enfrentar as adversidades.

“A vida só é possível reinventada”

Cecília Meireles

RESUMO

Fernandes MBL. Síndromes de Apert e Crouzon: perfil cognitivo e análise molecular [dissertação]. Bauru: Hospital de Reabilitação de Anomalias Craniofaciais, Universidade de São Paulo; 2011.

Introdução: As síndromes de Apert (SA) e Crouzon (SC) estão relacionadas a mutações do gene *FGFR2*. O desenvolvimento cognitivo é variável e está associado à presença de alterações do sistema nervoso central (SNC), idade da descompressão cirúrgica do crânio, estimulação e convivência social, escolarização, institucionalização dos indivíduos assim como aos aspectos sociais, econômicos, educacionais e a qualidade de vida da família. A influência do tipo de mutação do *FGFR2* no desempenho cognitivo é mais um elemento a ser esclarecido para o melhor entendimento do desenvolvimento global dos indivíduos.

Objetivo: Identificar, por estudo molecular, as mutações conhecidas do gene *FGFR2* e apresentar esses dados de forma comparativa com o quociente de inteligência (QI) e alterações do SNC.

Casuística e Método: A casuística foi composta por oito casos de SA e seis casos de SC, com diagnóstico genético clínico confirmado, que apresentavam avaliação cognitiva baseada no teste do QI e estudo anatômico do SNC por ressonância magnética (RM), ambos realizados previamente. Todos os casos foram submetidos à sequenciamento direto dos *exons* IIIa e IIIc do *FGFR2*. Os resultados foram comparados aos do QI e às alterações do SNC.

Resultados: Seis casos apresentaram a mutação típica p.Ser252Trp e quociente de inteligência total (QIT) de 47 a 78 (média de 67.2). Um caso apresentou a mutação típica p.Pro253Arg, alterações do SNC (ventriculomegalia, hipoplasia do corpo caloso e do septo pelúcido) e QIT de 108. Um caso apresentou a mutação atípica c.940-2A>G *splicing*, QIT de 104 e ausência de alterações encefálicas. Nos seis casos de SC foram identificadas diversas mutações do *FGFR2*, exceto em dois irmãos, que apresentaram a mesma mutação (p.Tyr328Cys). Esses indivíduos apresentaram QIT de 82 a 102 (média de 93.5).

Conclusão: A análise da presente casuística evidenciou uma relação de mutação típica p.Ser252Trp a resultados de QI inferiores aos dos indivíduos com síndrome de Apert causada por outras mutações. A mutação p.Pro253Arg e a mutação atípica c.940-2A>G *splicing* apresentaram um resultado de QI acima da média para a SA, independentemente das alterações encefálicas identificadas por RM. Não houve correlação, na síndrome de Crouzon, do tipo de mutação identificada com o resultado do QI e as alterações encefálicas.

Palavras chave: Cranioossinostose. Acrocefalossindactilia. Disostose Craniofacial. Biologia Molecular. Testes de Inteligência. Sistema Nervoso Central.

ABSTRACT

Fernandes MBL. Cognitive profile in patients in Apert syndrome and Crouzon syndrome – intelligence quotient and molecular aspects [dissertation]. Bauru: Hospital de Reabilitação de Anomalias Craniofaciais, Universidade de São Paulo; 2011.

Introduction: Apert syndrome (AS) and Crouzon syndrome (CS) are related to mutations of the *FGFR2* gene. Cognitive development is variable and usually related abnormalities of the central nervous system (CNS), age of surgical decompression of the skull, stimulation and social interaction, education, institutionalization of individuals as well as the social, economic, educational and quality of life family. The influence of mutation of *FGFR2* in cognitive performance on the SA and SC would be a further element to be clarified for better understanding of the overall development of these individuals.

Objective: Identified by molecular analysis of gene mutations known *FGFR2* and present these data in comparison with the alterations found in the CNS and the intelligence quotient (IQ).

Method: The sample included eight cases of AS and six cases of CS with clinical genetic diagnosis confirmed, who exhibited cognitive assessment based on IQ tests, and study of the CNS by magnetic resonance imaging (MRI), both previously. All cases were subjected by direct sequencing analysis of *FGFR2* exons IIIa / IIIc and the results were compared to IQ and changes in the CNS.

Results: Six patient showed the typical mutation of the *FGFR2* *p.Ser252Trp* and TIQ (total intelligence quotient) from 47 to 78 (67.2). One case showed the typical mutation *p.Pro253Arg*, CNS changes (ventriculomegaly, hypoplasia of the corpus callosum and septum pellucidum) and TIQ 108. One patient had atypical mutation *c.940-2A>G* splicing, no changes in the brain and TIQ 104. In the six cases with CS identified several mutations in *FGFR2*, except for two brothers who had the same mutation (*p.Tyr328Cys*). These patients had TIQ 82 to 102 (93.5).

Conclusion: The analysis of this series showed a relationship between the typical mutation *p.Ser252Trp* to IQ scores of less than individuals with other mutations and

AS. The mutation p.Pro253Arg and atypical mutation c.940-2A>G splicing had an IQ score above average for AS, regardless of changes in the brain MRI identified. There was no correlation in the CS of these mutations with the results of IQ and brain changes.

Keywords: Craniosynostoses. Acrocephalosyndactylia. Craniofacial Dysostosis. Molecular Biology. Neuropsychological Tests. Neurobehavioral Manifestations. Mutation. Cognition Disorders.

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1 -** Localização das mutações do *FGFR* 1, 2 e 3 nas craniossinostoses sindrômicas. Cada *FGFR* contém três domínios *Ig-like* (Ig I, II e III), um domínio transmembrana (TM), e dois domínios tirosino-quinase (TK 1-2). A localização das mutações nas síndromes é apresentada..... **39**

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 -	Características da casuística quanto à síndrome, idade da coleta de sangue, sexo, teste de inteligência, QIV, QIE, QIT e RM encefálica.....	61
Tabela 2 -	Síndrome, mutação identificada, nucleotídeo modificado e efeito final no RNA ou proteína.....	69
Tabela 3 -	Comparação por Análise de Variância (ANOVA) das médias do QIV, QIE e QIT nas síndromes de Apert e Crouzon.....	70
Tabela 4 -	Comparação por Análise de Variância (ANOVA) das médias do QIV, QIE e QIT com a mutação S252W.....	71
Tabela 5 -	Sumário dos principais dados relacionados à síndrome, idade, sexo, teste de inteligência, anomalia encefálica e mutações identificadas.....	72

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

CONRE	Conselho Regional de Estatística
Dp	desvio padrão
EFNA4	<i>Ephrin - A</i>
EFNB1	<i>Ephrin-B1</i>
ENC	encefalomalacia
EXO	<i>exonuclease 1</i>
FGF	<i>Fibroblast Growth Factor</i>
FGFRs	<i>Fibroblast Growth Factor Receptors</i>
FGFR1	<i>Fibroblast Growth Factor Receptor 1</i>
FGFR2	<i>Fibroblast Growth Factor Receptor 2</i>
FGFR3	<i>Fibroblast Growth Factor Receptor 3</i>
FGFR5	<i>Fibroblast Growth Factor Receptor 5</i>
FOB	Faculdade de Odontologia de Bauru
HCC	hipoplasia de corpo caloso
HRAC	Hospital de Reabilitação de Anomalias Craniofaciais
HSP	hipoplasia do septo pelúcido
HSPG	Heparan sulfato
HIC	hipertensão intracraniana
IB	Instituto de Biociências
Ig-like	<i>Imunoglobulina - like</i>
L1CAM	<i>L1 cell adhesion molecule</i>
MSX2	<i>Muscle segment homeobox homolog Drosophila 2</i>
QIE	Quociente de inteligência de execução
QIT	Quociente de inteligência total
QIV	Quociente de inteligência verbal
RAB23	<i>Ras-associated protein RAB23</i>
RM	Ressonância magnética
SA	Síndrome de Apert
SAME	Serviço de Arquivo Médico e Estatístico
SC	Síndrome de Crouzon

SNC	Sistema nervoso central
SAOS	Síndrome da apneia obstrutiva do sono
SAP	<i>Shrimp Alkaline Phosphatase</i>
TAC	Tomografia axial computadorizada
TK	domínio tirosino-quinase do <i>FGFR</i>
TM	domínio transmembrana do <i>FGFR</i>
<i>TWIST1</i>	<i>Twist homolog Drosophila 1</i>
USP	Universidade de São Paulo
VM	ventriculomegalia
<i>WAIS</i>	<i>Weschler adult intelligence scale</i>
<i>WHO</i>	<i>World Health Organization</i>
<i>WISCIII</i>	<i>Weschler intelligence scale for children, 3rd ed.</i>

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	25
2	REVISÃO DA LITERATURA	31
2.1	DESENVOLVIMENTO DA CRANIOSSINOSTOSE	33
2.2	ASPECTOS CLÍNICOS	35
2.2.1	Síndrome de Apert (SA)	35
2.2.2	Síndrome de Crouzon (SC)	36
2.2.3	Comprometimento do sistema nervoso central	37
2.3	ASPECTOS GENÉTICOS DAS CRANIOSSINOSTOSES SINDRÔMICAS ..	38
2.3.1	Genes	38
2.3.2	Receptores de fatores de crescimento de fibroblastos (<i>FGFR</i>) e seus ligantes (<i>FGF</i>)	39
2.4	ASPECTOS COGNITIVOS	46
2.5	TRATAMENTO	50
3	OBJETIVOS	53
3.1	GERAL	55
3.2	ESPECÍFICO	55
4	CASUÍSTICA E MÉTODOS	57
4.1	CASUÍSTICA	59
4.1.1	Características da casuística	60
4.2	MÉTODO	62
4.2.1	Avaliação gênica das mutações conhecidas no <i>FGFR2</i>	62
4.2.1.1	Coleta de sangue periférico	62
4.2.1.2	Extração do DNA genômico	63
4.2.1.3	Reação e análise do sequenciamento do DNA	63
4.3	ANÁLISE ESTATÍSTICA	64
5	RESULTADOS	65
5.1	IDENTIFICAÇÃO DAS MUTAÇÕES CONHECIDAS DO <i>FGFR2</i>	67
5.2	COMPARAÇÃO DOS RESULTADOS DA BIOLOGIA MOLECULAR, QI E RM ENCEFÁLICA	67

6	DISCUSSÃO.....	73
7	CONCLUSÕES.....	87
8	REFERÊNCIAS	91
	ANEXOS.....	105

INTRODUÇÃO

1 INTRODUÇÃO

A craniossinostose resulta da ossificação e fusão precoce de uma ou mais suturas da caixa craniana, constituindo uma desordem frequente, que decorre tanto de condições não sindrômicas como sindrômicas. A craniossinostose sindrômica usualmente está associada a outros comprometimentos orgânicos.

As mutações nos genes da família dos *FGFRs* originam diversas condições clínicas, como as síndromes de Apert, Crouzon, Pfeiffer, Beare-Stevenson and Jackson-Weiss (Reardon et al 1994, Wilkie et al 1995 e Bonaventure e El Ghouzzi 2003). Observa-se uma variabilidade da expressão fenotípica de uma mesma mutação do *FGFR*, sugerindo que essas síndromes representam um espectro de manifestações relacionadas ao comprometimento dos *FGFRs*. Wilkie et al (1995) relatam que as mutações nos *loci* do *FGFR2* são responsáveis por 93% das craniossinostoses sindrômicas. Mutações em outros genes, como *FGFR1*, *FGFR3*, *TWIST1* e *MSX2* também se relacionam às craniossinostoses sindrômicas (Cunningham et al 2007 e Passos-Bueno et al 2008).

As consequências habituais da craniossinostose são redução do fluxo sanguíneo cerebral, hipertensão intracraniana, obstrução das vias aéreas, alterações de visão e audição e comprometimento neurológico com déficit cognitivo variável (Cohen Junior e MacLean 2000).

A síndrome de Apert (SA [MIM101200]) foi descrita em 1906 e desde então ocorreram importantes progressos na compreensão e tratamento dessa condição (Perlyn et al 2009). A SA corresponde a 4,5% de todas as craniossinostoses e geralmente é causada por uma mutação *missense*, em um de dois resíduos de

aminoácidos adjacentes (p.Ser252Trp e p.Pro253Arg), localizados na região de ligação do domínio da imunoglobulina (*Ig-like*) II e III do *FGFR2* (Wilkie et al 1995).

Na Síndrome de Crouzon (SC [MIM 123500]), são conhecidas mais de 50 mutações, identificando-se o mecanismo mutacional em 58% dos casos, dos quais o gene *FGFR2* foi implicado em 48% e os genes *TWIST1* e *FGFR3* em 10% dos indivíduos (Oliveira 2006).

Tentativas de correlacionar o fenótipo com o genótipo são discutidas na literatura (Patton et al 1988, Passos-Bueno et al 1999 e Lajeunie et al 1999). O desempenho cognitivo final desses indivíduos é heterogêneo e alguns fatores, como a idade em que é realizada a remodelação cirúrgica craniana e a presença de alterações do sistema nervoso central (SNC), como a hipoplasia do septo pelúcido, podem interferir nesse desenvolvimento (Renier et al 1996). Além disso, o estímulo familiar inadequado e um contexto sociocultural desfavorável podem piorar o desenvolvimento cognitivo (Yacubian-Fernandes et al 2005). As alterações encefálicas observadas nessas síndromes, podem ser primárias, ou seja, diretamente relacionadas à mutação, ou secundárias à fusão óssea precoce das suturas do crânio (Raybaud e Di Rocco 2007).

Fenótipo comportamental é definido como um padrão de anormalidades motoras, cognitivas, linguísticas e sociais, associadas a uma desordem biológica, enquanto os fatores ambientais participam diretamente do desenvolvimento pleno ou não desse fenótipo (Ruggieri e Arberas 2003). A natureza do fenótipo comportamental e a influência da genética podem ser exemplificadas nas síndrome de Williams (Bellugi et al 1999), de Prader-Willi (Woodcock et al 2009) e de Angelman (Cassidy e Morris 2002).

‘Estudos relacionando as alterações do desenvolvimento neuronal e cognitivo com as mutações podem permitir uma melhor compreensão das manifestações fenotípicas comportamentais das craniossinostoses sindrômicas. O detalhamento de mais um fator participante do desenvolvimento cognitivo nas síndromes de Apert e de Crouzon justifica o presente estudo.

REVISÃO DA LITERATURA

2 REVISÃO DA LITERATURA

2.1 DESENVOLVIMENTO DA CRANIOSSINOSTOSE

As suturas cranianas são pontos confluentes entre os ossos que compõem o crânio e constituídas de tecido fibroso diferenciado, a partir do mesênquima embrionário (Cohen Junior 2000). São sítios primários da osteogênese, contendo células osteoprogenitoras, que proliferam e se diferenciam junto às margens ósseas, mediando uma parte do crescimento craniofacial (Hall e Decker 1989). As suturas devem permanecer abertas durante a infância e adolescência, o que possibilita o crescimento encefálico adequado (Cohen Junior 2000). O desenvolvimento normal das suturas cranianas está sintonizado com o crescimento dos tecidos vizinhos, ocorrendo através de processos de recrutamento, proliferação, diferenciação e apoptose de células osteoprogenitoras (Rice 2008).

A craniossinostose é a mais importante alteração que acomete o desenvolvimento da caixa craniana humana. Com incidência de 1 por 2.000 a 3.000 nascidos vivos, é caracterizada por fechamento prematuro (sinostose) de uma ou mais suturas cranianas (Wilkie e Morris-Kay 2001).

O fechamento prematuro da sutura coronal é observado em 40 a 50% dos casos, seguido por fechamento prematuro da sutura sagital (20 a 25%), da metópica (5 a 15%), fechamento de múltiplas suturas simultaneamente (5 a 15%) e das suturas lambdóides (0 a 5%). A sinostose da sutura craniana pode ocorrer durante a vida intrauterina, ou após o nascimento, sendo mais comum a primeira situação (Cohen Junior e MacLean 2000).

As alterações observadas na conformação da caixa craniana dependem da sutura afetada e do fechamento parcial ou total da sutura envolvida resultando em (Müller, Steinberger e Kunze 1997):

- a) Trigonocefalia: sutura metópica;
- b) Plagiocefalia: sutura coronal ou lambdóide;
- c) Escafocefalia ou dolicocefalia: sutura sagital;
- d) Braquicefalia: várias suturas, incluindo a coronal, sagital e as suturas da base do crânio;
- e) Turricefalia ou oxicefalia ou acrocefalia: envolvimento bilateral das suturas coronais.

Considera-se que o crescimento e o formato anômalo da caixa craniana podem ocasionar complicações como hipertensão intracraniana, má perfusão encefálica, obstrução das vias aéreas, comprometimento visual e auditivo, além de dificuldades de linguagem e aprendizagem (Cohen Junior e MacLean 2000).

A presença ou ausência de outras anomalias associadas classificam as craniossinostoses em síndrômicas e não síndrômicas (Kimonis et al 2007). A craniossinostose não síndrômica ou isolada está relacionada aos seguintes fatores causais:

- a) Ambientais: ativos durante o período gestacional, como compressão craniana intrauterina, exposição a substâncias como ácido retinóico, ácido valpróico e hidantoína e hipertireoidismo materno (Cohen Junior e MacLean 2000);
- b) Genéticos: atualmente apenas a mutação do gene *EFNA4* está associada às formas exclusivamente não síndrômicas (Passos-Bueno et al 2008);
- c) Associados: fatores genéticos e ambientais.

As craniossinostoses não sindrômicas são as mais frequentes e correspondem a 70 a 85% de todos os casos. Geralmente sem herança familiar, as craniossinostoses ocorrem de forma esporádica ou isolada (Lajeunie et al 1995).

Define-se por síndrome a associação habitual de um conjunto de sinais clínicos, condicionados por um mesmo mecanismo genético. Há mais de 150 síndromes descritas, associadas à craniossinostose (Robin, Falki e Haldeman-Englert 2007). A maioria tem padrão de herança autossômico dominante e aproximadamente 40% dos casos são decorrentes de alterações genéticas já identificadas (Wilkie 1997). Destas, $\frac{1}{4}$ têm, como causa, alterações cromossômicas e os $\frac{3}{4}$ restantes são secundários a mutações gênicas (Wilkie et al 1995).

2.2 ASPECTOS CLÍNICOS

2.2.1 Síndrome de Apert (SA)

Descrita por Eugène Charles Apert, em 1906 e caracterizada por craniossinostose, hipoplasia medifacial e sindactilia das mãos e dos pés, a síndrome de Apert (SA) provoca comprometimento visual em 60% dos casos (Jong et al 2010), geralmente relacionados às alterações anatômicas orbitárias. A apneia obstrutiva do sono (SAOS) é relatada em 30% dos indivíduos afetados (Bannink et al 2010), enquanto a perda auditiva, preferencialmente do tipo condutiva, acomete 56% dos casos (Jong et al 2010).

A incidência é de 1 por 60.000 a 100.000 nascidos vivos, representando 4,5% de todas as craniossinostoses (Cohen Junior et al 1992 e Lajeunie et al 2006). O padrão de herança autossômica dominante é bem documentado, apesar da

reduzida incidência familiar, relacionada ao baixo valor adaptativo desses indivíduos, predominando a ocorrência esporádica dos casos (Cohen Junior 2004).

As síndromes de Apert e de Crouzon podem decorrer de uma mutação nova, de origem exclusivamente paterna. Essa mutação, relacionada à idade paterna, promove uma seleção positiva de células espermáticas pré-meióticas, produzindo um número maior de espermatozóides com mutação, em homens com idade superior a 35 anos (Choi et al 2008 e Yoon et al 2009).

2.2.2 Síndrome de Crouzon (SC)

Descrita em 1912 pelo neurologista Louis Edouard Octave Crouzon, essa síndrome caracteriza-se por fusão prematura de uma ou mais suturas cranianas, hipoplasia medifacial, órbitas rasas, proptose ocular, anormalidade do sistema nervoso central e também por não acometer os membros (Cohen Junior 2004b).

A obstrução das vias aéreas superiores é secundária ao desvio septal, anormalidades do nariz e estreitamento da rinofaringe. Pode apresentar dispneia e SAOS em 27% dos casos (Jong et al 2010). A perda auditiva condutiva é habitual e os canais auditivos podem estar ausentes ou estreitados. As malformações da orelha média são secundárias ao crescimento craniofacial anômalo e as infecções recorrentes da orelha interna causam lesões crônicas e irreversíveis, com consequente perda auditiva (Jong et al 2010).

A incidência é de 1 por 25.000 a 50.000 nascidos vivos, representando aproximadamente 4,8% das craniossinostoses (Cohen Junior e Kreiborg 1992 e Lajeunie et al 2006). O padrão de herança é o autossômico dominante, sendo que os casos familiares ocorrem e são mais observados que na SA. A penetrância é

completa e a expressividade clínica variável (Passos-Bueno et al 1999). Em 50% dos indivíduos, a síndrome é decorrente de uma mutação “de novo”.

2.2.3 Comprometimento do sistema nervoso central

Raybaud e Di Rocco (2007) sugerem a definição de três formas de comprometimento do SNC, observadas nas craniossinostoses sindrômicas:

- A distorção global do encéfalo é originada e mantida por fatores mecânicos, relacionados às deformidades da caixa craniana;
- A herniação tonsilar crônica (malformação de Chiari I) é consequência do efeito mecânico do crânio fusionado precocemente e da fossa posterior reduzida;
- As anormalidades que envolvem seletivamente a substância branca encefálica provavelmente são originárias de uma desordem primária do tecido neuronal.

Na síndrome de Apert são frequentes as alterações do septo pelúcido (40 a 50%), ventriculomegalia (25 a 47%), hipertensão intracraniana (33 a 45%), agenesia ou hipoplasia do corpo caloso (25%), encefalocele, anormalidades encefálicas girais, substância cinzenta heterotópica, anormalidades da substância branca encefálica e graus variados de assimetria encefálica (Lefebvre et al 1986, Cohen Junior e Kreiborg 1990, Renier et al 2000 e Jong et al 2010).

Em revisão sobre as alterações cranioencefálicas presentes em 30 indivíduos com síndrome de Apert, Quintero-Rivera et al (2006) identificaram ventriculomegalia (76%), hidrocefalia (13%), ausência completa do septo pelúcido (17%), ausência parcial do septo pelúcido (23%) e defeitos do corpo caloso (23%).

Na síndrome de Crouzon, as alterações do SNC são também comuns. A hidrocefalia progressiva é observada em 47% dos indivíduos. Quando ocorre hipertensão intracraniana (53%), esta é geralmente do tipo insidiosa, possibilitando aos mecanismos auto-reguladores cerebrais minimizar os efeitos lesivos da hipertensão (Jong et al 2010). Nesses indivíduos, observam-se outras alterações, como cisto aracnóide, siringomielia, ventriculomegalia e agenesia de corpo caloso (Jong et al 2010).

2.3 ASPECTOS GENÉTICOS DAS CRANIOSSINOSTOSES SINDRÔMICAS

2.3.1 Genes

Foram identificados oito genes que, quando mutados, estão associados às craniossinostoses síndrômicas: *FGFRs 1, 2, 3 e 5* (*Fibroblast Growth Factor Receptors*), *TWIST1* e *MSX2* (*Twist homolog Drosophila 1* e *Muscle segment homeobox homolog Drosophila 2*), *EFNB1* (*Ephrin-B1*) e *RAB23* (*Ras-associated protein RAB23*) (Muenke et al 1994, Reardon et al 1994, Wilkie et al 1995, El Ghouzzi et al 1997, Twigg et al 2004 e Jenkins et al 2007).

Nas formas mendelianas ou monogênicas das craniossinostoses síndrômicas, as mutações dos *FGFRs* são as mais frequentes, gerando manifestações clínicas conhecidas como síndrome de Apert, Crouzon, Crouzon associada à acantose nigricans, Pfeiffer, Muenke, Jackson-Weis e Beare-Stevenson (Lajeunie et al 1995, Burke et al 1998, Wilkie e Morris-Kay 2001 e Ornitz e Marie 2002).

2.3.2 Receptores de fatores de crescimento de fibroblastos (*FGFR*) e seus ligantes (*FGF*)

Os *FGFRs* são um grupo formado por cinco proteínas pertencentes à família de receptores do tipo tirosino-quinase e inseridos através da membrana citoplasmática da célula sendo que cada receptor é constituído por três domínios (Cohen Junior 2004c) (Figura 1):

- Região de ligação extracelular composta por três domínios em formato de alça, semelhante à imunoglobulina (*loops immunoglobulin-like*), denominados de IgI, IgII, IgIII. O domínio IgIII é codificado por dois *exons*, o IIIa (invariável) e IIIb e IIIc (variáveis);
- Domínio transmembrana;
- Região citoplasmática intracelular, com atividade tirosino-quinase.

Fonte: Kimonis V, Gold JA, Hoffman TL, Panchal J, Boyadjev SA. Genetics of craniosynostosis. *Semin Pediatr Neurol.* 2007; 14(3):150-61.

Figura 1 - Localização das mutações do *FGFR* 1, 2 e 3 nas craniossinostoses síndrômicas. Cada *FGFR* contém três domínios *Ig-like* (Ig I, II e III), um domínio transmembrana (TM), e dois domínios tirosino-quinase (TK 1-2). A localização das mutações nas síndromes é apresentada.

Os fatores de crescimento de fibroblastos (*FGFs*) formam um grupo com mais de vinte e três polipeptídios codificadores de proteínas e estão envolvidos em diversos processos biológicos, desde a vida embrionária (Cohen Junior 2004c). Dentre eles, destacam-se a indução da diferenciação, crescimento e migração celular, crescimento e desenvolvimento ósseo, diferenciação neuronal, angiogênese e tumorigênese (Cohen Junior 2004c).

A ligação entre *FGFs* e *FGFRs* é um processo complexo e dinâmico e a complexidade da ligação *FGF-FGFR* é potencializada por vários *splicings* alternativos (Ornitz et al 1996). O *splicing* alternativo dos *exons* que codificam o IgIII é o mais importante, gerando duas isoformas do receptor, com diferentes especificidades de ligação (IIIb e IIIc) (Ornitz et al 1996).

A ligação dos *FGFs* leva a alterações conformacionais do domínio extracelular do *FGFR*, gerando a dimerização e subsequente autofosforilação de vários resíduos de tirosina (Wilkie et al 2002). Esses resíduos ativam diversas vias que regulam fenômenos como proliferação, diferenciação, migração e apoptose de variadas linhagens celulares (Wilkie 1997). As linhagens afetadas incluem as que controlam a formação óssea craniana, intramembranosa e endocondral, assim como as estruturas críticas ao desenvolvimento do SNC (Givol, Eswarakumar e Lonai 2004 e Eswarakumar, Lax e Schlessinger 2005).

As mutações dos *FGFRs*, encontradas nas craniossinostoses sindrômicas, podem ser divididas em quatro categorias principais, a depender do local de sua ocorrência (Cunningham et al 2007) (Figura 1):

- Mutação da região de ligação entre os domínios *Ig-like* II e III (IgII e IgIII);
- Mutação no domínio *Ig-like* III (IgIII) *exons* IIIa e IIIc ou *exons* 8 e 10, respectivamente;

- Mutação no domínio transmembrana;
- Mutação no domínio tirosino – quinase.

Um efeito resultante da mutação dos *FGFRs* é a ativação desses receptores, apesar da ausência do seu ligante (*FGF*) específico (Yu et al 2000) e isto particularmente ocorre quando a mutação substitui um aminoácido por outro (*missense*), produzindo uma proteína final diferente e promovendo um ganho de função do receptor (Passos-Bueno et al 2002).

A matriz extracelular é composta por proteínas, glicosaminas e citocinas secretadas de maneira autócrina e parácrina. Os fatores de crescimento de fibroblastos associam-se às cadeias de heparan sulfato (HSPGs), integrantes da matriz extracelular, antes de ligarem-se ao *FGFR2* (Ornitz 2000). Relatos das consequências das diferentes expressões das citocinas e das macromoléculas da matriz extracelular, produzindo mudanças na composição desta e no processo osteogênico, sugerem uma explicação para as alterações no desenvolvimento craniano, observadas nas mutações do *FGFR2* (Carinci et al 2005).

Mutações análogas, produtoras de ganho de função dos genes *FGFR2* e *FGFR3*, são também encontradas no *FGFR1* (Cohen Junior 2004c). Apesar de apresentarem alguma sobreposição fenotípica entre os afetados, mutações análogas em diferentes receptores estão associadas a entidades clínicas distintas. A substituição p.Pro252Arg do *FGFR1* é análoga à p.Pro253Arg do *FGFR2* e à mutação p.Pro250Arg do *FGFR3*, mas manifestam síndromes diferentes, como as de Pfeiffer, Apert e Muenke, respectivamente (Cohen Junior 2004c). Mutações dos domínios Igl e IgII são encontradas somente no gene *FGFR2* (Cohen Junior 2004c).

Análise da expressão gênica global de células periostais da sutura coronal, na presença de mutação p.Ser252Trp realizada por Fanganiello et al (2007), sugere

que essas células estão envolvidas na fisiopatologia da SA e apresentam aumento do potencial osteogênico. Fanganiello et al (2007) identificaram 263 novos genes com expressão significativamente alterada, em relação ao grupo controle (sem mutação), com uma parcela desses genes envolvidos na regulação positiva da proliferação celular e metabolismo de nucleotídeos, além de um outro grupo de genes atuando na inibição da proliferação celular, regulação da expressão gênica, adesão intercelular e organização da matriz extracelular.

Estudos experimentais, em modelo de mutação *Fgfr2*, sugerem que entre os efeitos resultantes dessas mutações estão a incapacidade de interromper o recrutamento das células osteoprogenitoras nas suturas da caixa craniana (Holmes et al 2009) e o impedimento de sinalização das células da duramáter, o que promove uma osteodiferenciação anormal na SA relacionada à mutação p.Pro253Arg e um aumento da proliferação celular na SC associada à mutação p.Cys278Phe (Ang et al 2010).

É habitual, nessas síndromes, o comprometimento da substância branca encefálica, manifestado por ventriculomegalia não progressiva, agenesia ou hipoplasia do corpo caloso, agenesia do septo pelúcido, pobreza de substância branca na região anteromesial temporal e hipoplasia piramidal (Raybaud e Di Rocco 2007).

O gene *L1CAM* (*L1 cell adhesion molecule*) é codificador de uma glicoproteína axonal, que desempenha um papel importante no desenvolvimento da substância branca encefálica, incluindo atividades relacionadas à migração e diferenciação neuronal (Raybaud e Di Rocco 2007). A sua mutação causa defeitos pontuais do SNC, como agenesia do corpo caloso e do septo pelúcido e distúrbios difusos na substância branca encefálica. Uma hipótese é que o principal

comprometimento encefálico, em relação às habilidades cognitivas, relacione-se a tais desordens da substância branca. Para atuar, o gene *L1CAM* necessita interagir com os *FGFRs*. Assim, as mutações que afetam os *FGFRs*, além de produzirem anormalidades da caixa craniana, podem por falta de interação adequada com o gene *L1CAM*, promover também um defeito primário da substância branca encefálica (Raybaud e Di Rocco 2007). O déficit cognitivo, observado nos afetados pela mutação do *FGFR2*, pode ser parte da síndrome (através da interação *L1CAM-FGFRs*) e não somente uma consequência do tamanho reduzido do crânio ou da hidrocefalia associada (Raybaud e Di Rocco 2007).

Na síndrome de Apert, as principais mutações estão relacionadas ao gene *FGFR2*. A substituição de um nucleotídeo por outro produz um aminoácido diferente, promotor de ganho de função do *FGFR2* (Cohen Junior 2004c). As mutações p.Ser252Trp e p.Pro253Arg são responsáveis pela síndrome em 98% dos indivíduos e ocorrem na região de ligação entre os domínios extracelulares IgII e IgIII do *FGFR2* (Wilkie et al 1995 e Lajeunie et al 2006). Até o momento, seis outras mutações foram reportadas na síndrome de Apert:

- a) Mutação p.Ser252Phe, com substituição de dois nucleotídeos (Lajeunie et al 1999);
- b) Mutação c.940-2A>G *intron9-splice acceptor* (Passos-Bueno et al 1997);
- c) Mutações com três tipos de inserções de elemento Alu (c.940-3_-4insAlu *splicing intron 9*; c.1041_1042insAlu *splicing IgIIIc*; c.1002_1003insAlu *splicing IgIIIc*), que perturbam o processo que dá origem à isoforma *FGFR2c*, gerando expressões ilegítimas da isoforma *FGFR2b* (Oldridge et al 1999 e Lajeunie et al 2006);

- d)** Deleção de 1.93KB, removendo todo o *exon IIIc* e partes substanciais dos *introns*. Foi a primeira deleção descrita em indivíduos com craniossinostose (Bochukova et al 2009).

As mutações identificadas na SA promovem a ativação do *FGFR2* por diferentes mecanismos moleculares. A mutação p.Ser252Trp aumenta em seis vezes a afinidade de ligação da isoforma *FGFR2c* por *FGF2*, através da diminuição da constante de dissociação ligante-receptor (Anderson et al 1998) e da ativação anormal do receptor por *FGF7* e *FGF10* (Yu et al 2000).

A mutação p.Pro253Arg aumenta em duas vezes a afinidade da isoforma *FGFR2c* por *FGF2*. Estudos cristalográficos dos receptores mutados e das sequências dos diferentes *FGFs* sugerem que essas mutações possibilitam ao *FGFR2* ligar-se indiscriminadamente a qualquer *FGF* (Ibrahimi et al 2001).

As mutações associadas à SC, localizadas na porção extracelular do *FGFR2*, levam à dimerização constitutiva de *FGFR2*, independente da presença do ligante (Reardon et al 1994 e Kan et al 2002). Todas essas mutações, apesar de associadas a um ganho de função do receptor, acarretam diferentes manifestações clínicas entre as síndromes de Apert e Crouzon (Cohen Junior 2004c e Lajeunie et al 2006). Uma hipótese é a de que as manifestações dependem do envolvimento de determinados tipos de isoformas e dos diferentes graus de fosforilação do receptor. Isso pode explicar porque duas mutações diferentes do *exon IIIc*, uma deleção e uma inserção Alu, originam fenótipos característicos da mesma síndrome (Oldridge et al 1999, Ibrahimi et al 2001 e Lajeunie et al 2006).

Além disso, não existem diferenças consistentes entre os fenótipos dos indivíduos com mutação do *exon IIIc* e aqueles com mutação canônica do *exon IIIa*,

exceto a presença de sindactilia mais severa no primeiro grupo (Oldridge et al 1999 e Hajihosseini et al 2001).

Na Síndrome de Crouzon identifica-se o mecanismo mutacional em 58% dos casos (Cohen Junior 2004b). A maioria resulta da substituição de um aminoácido do cromossomo 10 no domínio IgIII, *exons* IIIa ou IIIc, e da região de ligação do domínio IgII e IgIII (Kan et al 2002).

As mutações no domínio tirosino-quinase (TK), localizadas na região intracelular do *FGFR2*, não apresentam características clínicas distintas das mutações do domínio extracelular, exceto um discreto aumento dos polegares e dos dedos dos pés (Kan et al 2002 e Wilkie et al 2002) .

No gene *TWIST1*, identificou-se uma única substituição na posição c.340A>G, resultando na troca do aminoácido asparagina por aspartato, na posição 144 da proteína (Cohen Junior 2004b).

Uma correlação específica genótipo-fenótipo é a mutação p.Ala391Glu, na região transmembrana do *FGFR3*, acarretando síndrome de Crouzon associada à acantose nigricans (Cohen Junior 2004b).

A mesma mutação, que leva a um fenótipo de SC, pode causar também um fenótipo da síndrome de Pfeiffer, como se observa nas mutações p.Tyr105Cys, p.Ser267Pro, p.Phe276Val, p.Cys342Trp, p.Cys342Tyr do *FGFR2*. O mecanismo no qual uma mesma mutação causa fenótipos distintos ainda está por ser elucidado (Wilkie et al 2002, Cohen Junior 2004c e Lajeunie et al 2006).

Além disso, cerca de 40% dos casos com características clínicas compatíveis com a SC não apresentam mutações em nenhum desses três genes e, portanto, mutações em outros genes podem ser responsáveis por esse quadro clínico (Oliveira 2006). Com o objetivo de identificar as 10 mutações mais comuns

nos genes *FGFR2*, *FGFR3* e *TWIST1*, Stenirri et al (2007) utilizaram a estratégia de investigação molecular combinada, usando a análise por *Nano-Chip™* e *DHPLC*, para estudar 159 casos de craniossinostose. Mutações foram identificadas em 100% dos casos com diagnóstico clínico de SA (9 casos), em 72% dos casos com SC (11 casos), 83% com síndrome de Pfeiffer (6 casos), 50% com a síndrome de Saethre-Chotzen (8 casos), 27% com plagiocefalia (36 casos) e 32% com braquicefalia (22 casos).

2.4 ASPECTOS COGNITIVOS

O desenvolvimento encefálico é o resultado de inúmeros processos evolutivos, que incluem a mielinização, a supressão sináptica e neuronal e a perda progressiva de substância cinzenta (Wilke et al 2003). O desenvolvimento encefálico não é linear e o ritmo é variável nas diversas fases da vida. Durante o desenvolvimento fetal, existe uma ativação rápida do tecido neuronal e o volume da substância cinzenta e branca aumenta significativamente. A supressão sináptica, um processo neuronal evolutivo de ajuste e auto-regulação, produz mudanças estruturais funcionais ao promover neurônios e sinapses mais eficientes, descartando os inadequados (Wilke et al 2003). Desta forma, ocorre uma diminuição gradual da densidade de substância cinzenta e um aumento progressivo de substância branca, por mielinização axonal (Wilke et al 2003). Os processos mentais, incluindo percepção, sensação, linguagem, pensamento e memória, não podem ser considerados simples faculdades localizadas em áreas específicas e concretas do cérebro, mas sim sistemas funcionais complexos (Luria 1980). A construção do conhecimento é um processo relacionado à integração de sensações

em ações, exigindo a participação da percepção e a estruturação das representações mentais (Luria 1980).

As alterações anatômicas encefálicas são habituais em indivíduos com déficit cognitivo. Estudos com tomografia computadorizada (TAC) e ressonância magnética (RM) estrutural demonstram alterações como displasias do córtex cerebral, displasias do corpo caloso, ventriculomegalia, cavum do septo pelúcido e megacisterna magna, em 60 a 90% (Curry et al 1997). O desenvolvimento do corpo caloso depende de numerosos mecanismos moleculares e celulares, que incluem a formação do tecido glial e a expressão de fatores necessários à orientação desses axônios, para o cruzamento da linha média (Richards, Plachez e Ren 2004).

Misquiatti (1996), avaliando a linguagem de indivíduos com as síndromes de Apert, Crouzon e Pfeiffer, observou um atraso significativo na aquisição da linguagem em 46% dos indivíduos. Segundo Rajenderkumar, Bamiou e Sirimanna (2005) há um considerável risco de atraso no desenvolvimento da linguagem dos indivíduos com craniossinostose síndrômica.

O ser humano tem uma capacidade de comunicação singular, possibilitada por uma complexa rede, onde vários sistemas biológicos e psicossociais interagem (Andrade 1997). O desenvolvimento da linguagem, uma função do córtex cerebral superior, é fundamentado por dois eixos (Castaño 2003):

- a)** Estruturas anatomofuncionais competentes (influência genética);
- b)** Ambiente culturalmente estimulante e favorável.

Agressões ou alterações do SNC podem interferir no processo de desenvolvimento da linguagem e aprendizagem (Lamônica 2004). Algumas alterações do arcabouço craniofacial, da função motora oral e da audição podem afetar a linguagem e o desenvolvimento cognitivo.

A perda auditiva, geralmente condutiva, observada na SA, pode comprometer o desenvolvimento da linguagem e a cognição (Arduino-Meirelles, Lacerda e Gil-Da-Silva-Lopes 2006 e Jong et al 2010).

Cohn et al (1985) estudaram dois indivíduos com síndrome de Crouzon, que apresentavam QI acima de 70 e que não foram submetidos à reconstrução cirúrgica craniofacial. Relataram, como efeito negativo da síndrome, problemas nas relações interpessoais, motivadas por alterações craniofaciais e dificuldade significativa para escolher uma profissão.

Pertschuk e Whitaker (1987) estudaram os aspectos psicossociais de crianças e adolescentes com anomalias craniofaciais. Segundo os autores, a aparência física constitui um importante elemento na elaboração psíquica e no comportamento social. Alterações morfológicas craniofaciais, por afetarem a parte mais visível do nosso corpo, podem interferir nas funções da fala e mímica (Gollop 1997).

O exato mecanismo causal do déficit cognitivo na craniossinostose sindrômica é ainda desconhecido (Aldridge et al 2010). Uma primeira hipótese é a fusão precoce da caixa craniana, acarretando deformação encefálica secundária e consequente déficit cognitivo. A segunda proposta aponta para um comprometimento primário da substância branca encefálica e craniossinostose, secundários à mutação, porém sem relação de causa-efeito entre eles. Ainda uma terceira proposta considera a presença de processo primário e secundário, contribuindo, associadamente, para o déficit cognitivo (Aldridge et al 2010).

Speltz et al (2004) revisaram 17 estudos sobre as habilidades cognitivas de pré-escolares, escolares e adolescentes com craniossinostose unisutural não sindrômica. A maioria dos estudos demonstrou que o desenvolvimento global ou

quociente de inteligência (QI) está dentro da normalidade. Entretanto, distúrbios de comportamento, aprendizagem e linguagem foram identificados em 35 a 40% dos casos.

Dentre os testes psicométricos mais utilizados para avaliação cognitiva global, tanto de adultos como de crianças, encontram-se as escalas Wechsler, reconhecidas e utilizadas globalmente. O teste é constituído de seis subtestes verbais (informação, semelhanças, aritmética, vocabulário, compreensão e dígitos) e seis não verbais (completar figuras, código, arranjar figuras, cubos, armar objetos e procurar símbolos). Os resultados ponderados, obtidos nos subtestes verbais, produzem o quociente de inteligência verbal (QIV) e os subtestes não verbais, o quociente de inteligência de execução (QIE). Os valores alcançados nas duas escalas compõem o quociente de inteligência total (QIT). A discrepância de resultado entre o QIV e o QIE pode ter significado patológico, ou simplesmente evidenciar uma facilidade ao expressar a inteligência com palavras, em resposta a estímulos concretos e visuais (Cunha 1993). As diferenças entre o QIV e o QIE significam variações entre a habilidade de inteligência fluida e a habilidade de inteligência cristalizada.

Múltiplos fatores biológicos influenciam o desenvolvimento cognitivo. A hipoplasia mediofacial pode provocar obstrução ao fluxo aéreo, dificuldade respiratória e SAOS (Bannink et al 2010). Como consequência, desencadeiam-se períodos de hipóxia, que podem comprometer o desenvolvimento cognitivo, causando dificuldade de concentração e sonolência diurna excessiva (Mitsukawa et al 2004).

Considerando o comprometimento anatômico do SNC, a participação da hipertensão intracraniana (HIC) no desenvolvimento neurológico funcional é

evidenciada (Collmann, Sörensen e Krauss 2005). A hipertensão intracraniana é secundária principalmente às anomalias ósseas da base craniana e desencadeia déficit na irrigação sanguínea e oxigenação encefálica, situação prejudicial ao desenvolvimento cognitivo (Collmann, Sörensen e Krauss 2005). Déficits de atenção, dificuldade de aprendizagem e alterações comportamentais, são relacionados por alguns autores, ao comprometimento anatômico craniofacial (Renier et al 2000, Hayward e Gonsalez 2005 e Bannink et al 2008).

A avaliação do QI, do desempenho acadêmico e da inclusão social de 11 adolescentes com SC, acompanhados de acordo com um protocolo de manejo terapêutico do nascimento a puberdade, realizada por Flapper et al (2009) em uma Unidade Craniofacial Australiana durante os últimos 35 anos, demonstraram medidas do QI acima de 70, em 10 casos. Os indivíduos com medidas do QI inferiores a 80, na primeira avaliação, repetiram os testes aos 9, 10, 12 e 15 anos, sem diferença significativa no resultado. O estudo evidenciou medidas de QI considerados como inteligência normal em mais de 50% dos indivíduos, com boa convivência social, escolaridade média a superior e inserção satisfatória no mercado de trabalho (Flapper et al 2009).

2.5 TRATAMENTO

O tratamento das craniossinostoses sindrômicas caracteriza-se por enfoque multidisciplinar, que compreende ações de vários especialistas, cada um com atuação diferente, ao longo das diversas fases do tratamento.

O tratamento cirúrgico tem a finalidade de remodelar a caixa craniana, dinamizar e redirecionar o crescimento vetorial do crânio restrito, minimizar os

efeitos deletérios do aumento da pressão intracraniana e melhorar as condições respiratórias e o aspecto estético craniofacial.

Tessier (1971) foi o primeiro a demonstrar a exequibilidade do avanço frontal, orbital e médiofacial, como procedimento único. A intervenção cirúrgica precoce, realizada no início da vida da criança (4 a 12 meses), tem o objetivo de liberar as suturas, descomprimir o crânio e remodelar/avançar o osso frontal e o rebordo orbitário, promovendo boa proteção ocular e alívio efetivo da hipertensão intracraniana (Marchac e Renier 1996).

Segundo Jong et al (2010), nos casos com exoftalmia acentuada ou apneia obstrutiva do sono severa, indica-se precocemente o avanço em monobloco, com uso de distrator, procedimento descrito por Ortiz-Monasterio, Campo e Carillo (1978).

Já em uma segunda fase, denominada tardia, correspondente à infância e adolescência (4 a 12 anos/ 14 a 18 anos), os procedimentos consistem em avanço médiofacial, pelas técnicas de osteotomia tipo *Le Fort III* ou avanço frontofacial em monobloco (Posnick, Ruiz e Tiwana 2004 e Flapper et al 2009), associados ou não ao uso de dispositivo externo ou interno rígido e baseados no conceito de distração osteogênica. Ulterior à finalização do crescimento ósseo facial, realiza-se cirurgia ortognática (*Le Fort I*, osteotomia mandibular), com objetivo de corrigir deformidades dentofaciais e maxilares (Posnick, Ruiz e Tiwana 2004 e Flapper et al 2009).

O momento exato e a sequência escolhida para o tratamento cirúrgico dependerá tanto das necessidades funcionais como psicológicas de cada paciente (Anantheswar e Venkataramana 2009).

Jong et al (2010) analisando retrospectivamente o perfil de 167 casos de craniossinostose síndrômica, em relação à educação, linguagem, habilidades

motoras, hipertensão intracraniana, SAOS e deficiência visual e auditiva, propuseram, considerando a complexidade e a variedade de manifestações, um protocolo com investigação preventiva e tratamento interdisciplinar até os 18 anos.

A compreensão da relação entre o tipo de mutação do *FGFR2* e o resultado do desempenho cognitivo na SA e SC contribui para o melhor entendimento da relação genótipo-fenótipo comportamental dessas condições clínicas.

OBJETIVOS

3 OBJETIVOS

3.1 GERAL

- Analisar a influência das mutações do *FGFR2* no perfil cognitivo dos indivíduos com síndromes de Apert e Crouzon.

3.2 ESPECÍFICO

- Identificar, por estudo molecular, as mutações conhecidas do gene *FGFR2* de indivíduos com síndromes de Apert e Crouzon.
- Apresentar, de forma comparativa, os resultados do quociente de inteligência, da avaliação anatômica encefálica por ressonância magnética e da biologia molecular dos indivíduos estudados.

CASUÍSTICA E MÉTODOS

4 CASUÍSTICA E MÉTODOS

Este estudo tem como característica a ação interdisciplinar, envolvendo as áreas da Genética, Neurocirurgia, Cirurgia Plástica, Psicologia e Fonoaudiologia e foi realizado em parceria com as seguintes instituições: Departamento de Fonoaudiologia da Faculdade de Odontologia de Bauru (FOB), Setor de Genética Clínica do Hospital de Reabilitação de Anomalias Craniofaciais (HRAC) e Centro de Estudos do Genoma Humano do Instituto de Biociências (IB), todos pertencentes à Universidade de São Paulo (USP).

O projeto foi submetido ao Comitê de Ética em Pesquisa em Seres Humanos, deste hospital, com parecer favorável à sua execução (ofício número 006/2009 – SVAPEPE – CEP, de 17 de fevereiro de 2009 – Anexo 1 e Anexo 2). A participação neste estudo foi autorizada pelo próprio indivíduo ou seu responsável legal, mediante assinatura prévia do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (Anexo 3).

4.1 CASUÍSTICA

A população do estudo foi constituída de indivíduos avaliados no ambulatório de Cirurgia Craniofacial do HRAC-USP, no período de 1986 a 2007. A coleta de dados para seleção dos pacientes foi feita a partir do prontuário médico obtido junto ao SAME (Serviço de Arquivo Médico e Estatístico), do HRAC-USP. Os casos foram selecionados considerando os seguintes critérios de inclusão:

- Diagnóstico clínico de síndrome de Apert ou síndrome de Crouzon, confirmado pela equipe de genética clínica do HRAC-USP;

- Avaliação prévia do quociente de inteligência (QI) realizado por psicóloga¹;
- Avaliação prévia encefálica por ressonância magnética (RM);
- Acompanhamento regular no Hospital de Reabilitação de Anomalias Craniofaciais-HRAC.

4.1.1 Características da casuística

Durante o período de dezembro de 2009 a maio de 2010, 14 indivíduos, que preencheram os critérios de inclusão, foram submetidos à coleta de sangue periférico.

Dos 14 casos estudados oito eram de síndrome de Apert e seis de síndrome de Crouzon, incluindo dois irmãos. Quanto ao sexo, seis eram do sexo feminino e oito do sexo masculino. Em seis indivíduos com SA, a descompressão cirúrgica do crânio foi realizada, sendo três operados com idade igual ou inferior a 12 meses. Em cinco indivíduos com SC, a descompressão cirúrgica do crânio foi realizada, sendo que dois desses foram operados com idade inferior a 12 meses (Anexo 4).

Utilizou-se neste estudo o conceito de déficit cognitivo preconizado pelo *World Health Organization* (2007), definido como presença de limitações tanto no desempenho intelectual, com QI inferior a 70. Na Tabela 1 descrição do QIV, QIE, QIT e da RM encefálica dos casos estudados.

¹ Avaliação do QI pelos testes *WAIS/WISC-III*, realizada por psicóloga Dagma Venturini Marques Abramides, professora doutora do Departamento de Fonoaudiologia da FOB-USP. Fonte: Wechsler D. *WAIS-R manual: Wechsler adult intelligence scale-revised*. New York: Psychological Corporation, 1981. Wechsler D. *Test de inteligência para niños WISC-III: manual*. Buenos Aires: Paidós, 1994.

A idade dos indivíduos, no momento da coleta de sangue para a pesquisa da mutação do *FGFR2*, variou de 11 anos a 36 anos (Tabela 1).

Tabela 1 - Características da casuística quanto à síndrome, idade da coleta de sangue, sexo, teste de inteligência, QIV, QIE, QIT e RM encefálica.

Caso	Síndrome	Idade ¹	Sexo	Testes ²	QIV	QIE	QIT	RM
1	Apert	17a	M	WAIS	71	74	71	Normal
2	Apert	18a	F	WISC-III	100	108	104	Normal
3	Apert	21a	M	WISC III	65	71	65	HCC
4	Apert	17a	F	WISC-III	75	73	72	VM+HCC
5	Apert	17a	M	WISC-III	100	106	108	VM+HCC+HSP
6	Apert	18a	F	WISC-III	74	86	78	HCC+ HSP
7	Apert	21a	F	WISC-III	48	51	47	HSP
8	Apert	36a	F	WAIS	71	74	70	Normal
9	Crouzon	19a	M	WISC III	101	97	98	Normal
10	Crouzon	18a	M	WISC III	92	95	93	ENC
11	Crouzon	15a	F	WISC III	95	93	93	ENC
12	Crouzon	11a	M	WISC III	72	96	82	VM
13	Crouzon	15a	M	WISC III	91	98	93	Normal
14	Crouzon	13a	M	WISC III	112	90	102	Normal

Nota: ¹ Idade da coleta de sangue e pesquisa da mutação (a: anos).

² Testes de inteligência aplicados: **WAIS:** *Wechsler adult intelligence scale*. Wechsler D. WAIS-R manual: Wechsler adult intelligence scale-revised. New York: Psychological Corporation, 1981. **WISC III:** *Wechsler intelligence scale for children*. Wechsler D. Test de inteligencia para niños WISC-III: manual. Buenos Aires: Paidós, 1994.

QIV: resultado do quociente de inteligência verbal

QIE: resultado do quociente de inteligência de execução

QIT: resultado do quociente de inteligência total

RM: achados de ressonância magnética

HCC: hipoplasia do corpo caloso

VM: ventriculomegalia

HSP: hipoplasia do septo pelúcido

ENC: encefalomalacia

4.2 MÉTODO

Estudo prospectivo transversal analítico

Coleta de sangue periférico com envio do material ao IB-USP, para pesquisa das mutações gênicas conhecidas do *FGFR2*. A coleta² e a análise foram realizadas entre dezembro de 2009 a agosto de 2010.

4.2.1 Avaliação gênica das mutações conhecidas no *FGFR2*

4.2.1.1 Coleta de sangue periférico

Uma amostra individual de 10 ml de sangue foi colhida por venopunção periférica e armazenada em frasco contendo EDTA 6%, aproveitando o momento de retorno do paciente para avaliação clínica, conforme o plano terapêutico. As coletas ocorreram de dezembro de 2009 a maio de 2010 e o material foi enviado a São Paulo, via Sedex, acondicionado em isopor, à temperatura ambiente. Foram pesquisadas, por método de sequenciamento automático e análise de DNA, mutações do gene *FGFR2* localizadas na região de ligação entre os domínios IgII e IgIII e do domínio IIIa e IIIc (*exon* 8 e 10).

As análises moleculares foram realizadas por bióloga³ do Centro de Estudos do Genoma Humano, pertencente ao Instituto de Biociências da Universidade de São Paulo (USP), sob orientação e supervisão da Profa. Dra. Maria Rita Passos Bueno.

² Coleta do sangue realizada pelo biólogo Rubens Matias Rodrigues, técnico do Laboratório de Citogenética do HRAC-USP.

³ Análise molecular realizada pela bióloga Dra Kátia Rocha do IB-USP.

4.2.1.2 Extração do DNA genômico

A extração automatizada de DNA genômico foi efetuada a partir de sangue coletado e o instrumento utilizado foi o *Autopure LS[®]* (Qiagen), que extrai simultaneamente DNA de 8 a 16 amostras. Esse processo permite a extração de cerca de 350 µg de DNA genômico, a partir de 10 ml de sangue.

4.2.1.3 Reação e análise do sequenciamento do DNA

As reações de sequenciamento foram processadas no sequenciador *ABI 3730 DNA analyser*, um sistema de análise de DNA de 48 capilares, com a tecnologia *Applied Biosystems (Applied Biosystems[®])* e analisadas com o software *SeqScape v2..* No caso de análise do *FGFR2 exons IIIa e IIIc*, utilizaram-se 20-40ng e o produto de PCR foi purificado com as enzimas *EXO (Exonuclease 1 - 10U/uL)* e *SAP(Shrimp Alkaline Phosphatase - 1U/uL)*. Foram utilizadas as seguintes quantidades de reagentes por reação:

- a) *BigDye[®] Terminator v3.1 Cycle Sequencing Ready Reaction Mix* 2uL;
- b) *BigDye[®] Terminator v3.1 5x Sequencing Buffer* 1uL;
- c) *Primer* 5Um 1uL;
- d) Produto de PCR purificado adicionada à reação varia de acordo com o tamanho do seu produto;
- e) *H₂O ultrapura – q.s.p.* 10uL.

4.3 ANÁLISE ESTATÍSTICA

A análise estatística⁴ foi composta por análise descritiva dos dados, por tabelas de contingência e estudos de associação.

Para comparação dos índices médios de QIV, QIE e QIT com o tipo de mutação encontrado e tipo de síndrome, foi empregada a técnica de Análise de Variância (ANOVA), com teste estatístico de F-Fischer (Rosner 1994). O nível de significância fixado para esse estudo foi de 10%, em face ao reduzido tamanho amostral ($p < 0,1$).

⁴ Análise estatística foi realizada por Antonio de Castro Bruni, CONRE 6363/A.

RESULTADOS

5 RESULTADOS

5.1 IDENTIFICAÇÃO DAS MUTAÇÕES CONHECIDAS DO *FGFR2*

Na síndrome de Apert foram identificadas as mutações p.Ser252Trp e p.Pro253Arg, localizadas na região de ligação do domínio IgII e IgIII e a mutação *splicing* na região *intron 9-splice acceptor*.

Na síndrome de Crouzon foram identificadas, isoladamente, as mutações p.Cys278Phe no *exon IIIa*; p.Thr341Pro no *exon IIIc*; p.Cys342Tyr no *exon IIIc*; p.Ser354Cys no *exon IIIc*; e, em dois irmãos, a mutação p.Tyr328Cys no *exon IIIc* (Tabela 2).

5.2 COMPARAÇÃO DOS RESULTADOS DA BIOLOGIA MOLECULAR, QI E RM ENCEFÁLICA

Os seis casos de síndrome de Apert, com a mutação p.Ser252Trp, apresentaram QIV médio de 67.3, variando de 48 a 75, QIE médio de 71.5, variando de 51 a 86 e QIT médio de 67.2, variando de 47 a 78. Quatro desses casos apresentaram alterações encefálicas, sendo predominante a hipoplasia do corpo caloso (em três casos), isolada ou associada a outras anomalias encefálicas.

O indivíduo com a mutação p.Pro253Arg apresentou QIV de 100, QIE de 106 e QIT de 108. A RM apontou três alterações encefálicas: ventriculomegalia, hipoplasia de corpo caloso e hipoplasia do septo pelúcido.

Na Tabela 3, foram apresentados os resultados das comparações das médias dos QIV, QIE e QIT, para as síndromes de Apert e de Crouzon. Apesar do pequeno número de casos, foi possível evidenciar diferença significativa ($p < 0,1$) entre as médias dos quocientes de inteligência para os dois tipos de síndrome. Os indivíduos com SA apresentaram as menores médias de QI.

Considerando somente os casos de SA, foram efetuadas as comparações das médias dos QIV, QIE e QIT com a mutação p.Ser252Trp, sendo evidenciado QIs significativamente menores na presença da mutação p.Ser252Trp (Tabela 4).

O indivíduo com mutação atípica c.940-2A>G *ínton 9-splice acceptor* apresentou QIV de 100, QIE de 108, QIT de 104 e ausência de alteração encefálica na RM (Tabela 5).

Os casos de síndrome de Crouzon apresentaram heterogeneidade da biologia molecular, com QIV médio de 93.8, variando de 72 a 112, QIE médio de 94.8, variando de 90 a 98 e QIT médio de 93.5, variando de 82 a 102 (Tabela 5).

Tabela 2 - Síndrome, mutação identificada, nucleotídeo modificado e efeito final no RNA ou proteína.

Caso	Síndrome	Nucleotídeo modificado ^a	Efeito no RNA ou proteína ^a	Região gene ^b
1	Apert	c.755C>G	p.Ser252Trp	ligação IgII-IgIII
2	Apert	c.940-2A>G	splicing	intron 9 –splice acceptor
3	Apert	c.755C>G	p.Ser252Trp	ligação IgII-IgIII
4	Apert	c.755C>G	p.Ser252Trp	ligação IgII-IgIII
5	Apert	c.758C>G	p.Pro253Arg	ligação IgII-IgIII
6	Apert	c.755C>G	p.Ser252Trp	ligação IgII-IgIII
7	Apert	c.755C>G	p.Ser252Trp	ligação IgII-IgIII
8	Apert	c.755C>G	p.Ser252Trp	ligação IgII-IgIII
9	Crouzon	c.983A>G	p.Tyr328Cys	IgIIIc
10	Crouzon	c.983A>G	p.Tyr328Cys	IgIIIc
11	Crouzon	c.833G>T	p.Cys278Phe	IgIIIa
12	Crouzon	c.1021A>C	p.Thr341Pro	IgIIIc
13	Crouzon	c.1061C>G	p.Ser354Cys	IgIIIc
14	Crouzon	c.1025G>A	p.Cys342Tyr	IgIIIc

Fonte: Cohen Junior MM, MacLean RE. Sutural Biology. In: Cohen Junior MM, MacLean RE, editors. Craniosynostosis: diagnosis, evaluation, and management. 2nd ed. New York: Oxford University Press; 2000. p.11-23.

Cohen Junior MM. FGFs/FGFRs and associated disorders. In: Epstein CJ, Ericson RP, Wynshaw-Boris A, editors. Inborn Errors of Development – the molecular basis of clinical disorders of morphogenesis. New York: Oxford University Press; 2004c. p.380-97.

Den Dunnen JT, Antonarakis SE. Mutation nomenclature extensions and suggestions to describe complex mutations: a discussion. Hum Mutat. 2000; 15(1):7-12.

Nota: ^a Numeração do nucleotídeo e do aminoácido residual de acordo com Cohen Junior e MacLean (2000) e Cohen Junior (2004c). Nomenclatura das mutações de acordo com as recomendações da *Human Genome Variation Society* (Den Dunnen e Antonarakis 2002).

^b Região do gene ou domínio da proteína afetado pela mutação.

RNA: Ácido Ribonucleico

O indivíduo com a mutação p.Thr341Pro apresentou ventriculomegalia e o pior resultado da amostra com QIV de 72, QIE de 96 e QIT de 82 (Tabela 5).

O indivíduo com a mutação p.Cys342Tyr apresentou o melhor desempenho cognitivo, com QIV de 112, QIE de 90, QIT de 102 e ausência de alterações encefálicas na RM (Tabela 5).

Os irmãos com a mutação p.Tyr328Cys apresentaram desempenho cognitivo com quociente de inteligência classificado como médio e um deles apresentou encefalomalácia como achado de imagem da RM (Tabela 5).

Tabela 3 - Comparação por Análise de Variância (ANOVA) das médias do QIV, QIE e QIT nas síndromes de Apert e Crouzon.

Índice	Síndrome	N	Média	Dp	*I.C. 95%		*F-Fischer	*p (p<0,1)
					LI	LS		
QIV	Apert	8	75.5	17.4	61.0	90.0	4.639	0.052
	Crouzon	6	93.8	13.2	80.0	107.7		
QIE	Apert	8	80.4	19.0	64.5	96.3	3.333	0.093
	Crouzon	6	94.8	2.9	91.8	97.9		
QIT	Apert	8	76.9	20.2	60.0	93.7	3.704	0.078
	Crouzon	6	93.5	6.7	86.5	100.6		

QIV: quociente de inteligência verbal

QIE: quociente de inteligência de execução

QIT: quociente de inteligência total

N: número de casos

Dp: desvio padrão

Nota: *Análise de Variância (ANOVA), a estatística usada foi F-Fischer com nível de significância estatístico (p) de 10%

Todos os dados com as características da casuística e os resultados obtidos no estudo foram apresentados na Tabela 5.

Tabela 4 - Comparação por Análise de Variância (ANOVA) das médias do QIV, QIE e QIT com a mutação S252W.

Índice	S252W	N	Média	Dp	*I.C. 95%		*F-Fischer	*p (p<0,05)
					LI	LS		
QIV	Não	2	100.0	0.0	100.0	100.0	18.856	0.005
	Sim	6	67.3	10.1	56.7	77.9		
QIE	Não	2	107.0	1.4	94.3	119.7	17.517	0.006
	Sim	6	71.5	11.4	59.6	83.4		
QIT	Não	2	106.0	2.8	80.6	131.4	23.287	0.003
	Sim	6	67.2	10.7	55.9	78.4		

QIV: quociente de inteligência verbal**QIE:** quociente de inteligência de execução**QIT:** quociente de inteligência total**S252W:** mutação p. Ser252Trp**N:** número de casos**Dp:** desvio padrão**Nota:** *Análise de Variância (ANOVA), a estatística usada foi F-Fischer com nível de significância estatístico (p) de 10%

Tabela 5 - Sumário dos principais dados relacionados à síndrome, idade, sexo, teste de inteligência, anomalia encefálica e mutações identificadas.

Caso	Síndrome	Sexo	Idade ^{QI}	Teste QI	QIV	QIE	QIT	Idade ^{RM}	RM	Nucleotídeo Modificado ^a	Efeito no RNA ou Proteína ^a	Região do <i>FGFR2</i> ^b
1	Apert	M	17a3m	WAIS	71	74	71	16a8m	Normal	c.755C>G	p.Ser252Trp	ligação IgII-IgIII
2	Apert	F	8a7m	WISC-III	100	108	104	9a2m	Normal	c.940-2A>G	<i>splicing</i>	<i>intron 9-splice acceptor</i>
3	Apert	M	10a11m	WISC III	65	71	65	10a11m	HCC	c.755C>G	p.Ser252Trp	ligação IgII-IgIII
4	Apert	F	7a8m	WISC-III	75	73	72	6a10m	VM+HCC	c.755C>G	p.Ser252Trp	ligação IgII-IgIII
5	Apert	M	7a 9m	WISC-III	100	106	108	7a9m	VM+HCC+HSP	c.758C>G	p.Pro253Arg	ligação IgII-IgIII
6	Apert	F	8a7m	WISC-III	74	86	78	9a1m	HCC+ HSP	c.755C>G	p.Ser252Trp	ligação IgII-IgIII
7	Apert	F	11a11m	WISC-III	48	51	47	11a11m	HSP	c.755C>G	p.Ser252Trp	ligação IgII-IgIII
8	Apert	F	25a11m	WAIS	71	74	70	25a11m	Normal	c.755C>G	p.Ser252Trp	ligação IgII-IgIII
9	Crouzon	M	16a3m	WISC III	101	97	98	12a8m	Normal	c.983A>G	p.Tyr328Cys	IgIIIc
10	Crouzon	M	15a3m	WISC III	92	95	93	11a7m	ENC	c.983A>G	p.Tyr328Cys	IgIIIc
11	Crouzon	F	12a	WISC III	95	93	93	8a1m	ENC	c.833G>T	p.Cys278Phe	IgIIIa
12	Crouzon	M	8a5m	WISC III	72	96	82	8a5m	VM	c.1021A>C	p.Thr341Pro	IgIIIc
13	Crouzon	M	12a10m	WISC III	91	98	93	8a9m	Normal	c.1061C>G	p.Ser354Cys	IgIIIc
14	Crouzon	M	10a11m	WISC III	112	90	102	6a7m	Normal	c.1025G>A	p.Cys342Tyr	IgIIIc

Fonte: ^aCohen Junior MM, MacLean RE. Sutural Biology. In: Cohen Junior MM, MacLean RE, editors. Craniosynostosis: diagnosis, evaluation, and management. 2nd ed. New York: Oxford University Press; 2000. p.11-23.

^aCohen Junior MM. FGFs/FGFRs and associated disorders. In: Epstein CJ, Ericson RP, Wynshaw-Boris A, editors. Inborn Errors of Development – the molecular basis of clinical disorders of morphogenesis. New York: Oxford University Press; 2004c. p.380-97.

^bDen Dunnen JT, Antonarakis SE. Mutation nomenclature extensions and suggestions to describe complex mutations: a discussion. Hum Mutat. 2000; 15(1):7-12. **Nota:** ^aNumeração do nucleotídeo e do aminoácido residual de acordo com Cohen Junior e MacLean (2000) e Cohen Junior (2004c). Nomenclatura das mutações de acordo com as recomendações da *Human Genome Variation Society* (Den Dunnen e Antonarakis 2002).

^bRegião do gene ou domínio da proteína afetado pela mutação.

^{QI} idade em anos (a) e meses (m) em que foi feita a avaliação psicométrica intelectual. ^{RM} idade em anos (a) e meses (m) em que foi feita a RM encefálica **RM:** ressonância magnética, **HCC:** hipoplasia do corpo caloso, **VM:** ventriculomegalia, **HSP:** hipoplasia do septo pelúcido, **ENC:** encefalomalacia **RNA:** Ácido Ribonucléico.

Testes de inteligência (QI) aplicados: **WAIS:** *Wechsler adult intelligence scale*. Wechsler D. WAIS-R manual: Wechsler adult intelligence scale-revised. New York: Psychological Corporation, 1981. **WISC III:** *Wechsler intelligence scale for children*. Wechsler D. Test de inteligencia para niños WISC-III: manual. Buenos Aires: Paidós, 1994.

DISCUSSÃO

6 DISCUSSÃO

A mutação identificada em seis casos da SA, é uma transversão c.755C>G que ocorre na região de ligação entre os domínios IgII e IgIII, resultando na substituição p.Ser252Trp na proteína.

Segundo Wilkie et al (1995), a p.Ser252Trp é a mutação mais frequentemente observada na SA, identificada em 2/3 dos casos. No presente estudo, houve uma incidência maior dessa mutação, comparada à literatura (Lajeunie et al 2006 e Bochukova et al 2009).

Em um indivíduo foi identificada uma transversão c.758 C>G, resultando em p.Pro253Arg na proteína. Wilkie et al (1995) e Akai et al (2006) relatam essa mutação em 1/3 dos casos e comumente associada à sindactilia grave.

Considerando as análises de Slaney et al (1996) e Cohen Junior (2004c), as mutações p.Ser252Trp e p.Pro253Arg são responsáveis por 66% e 32.2% dos casos de SA, respectivamente.

Lajeunie et al (2006) pesquisaram mutações de 131 indivíduos com craniossinostose síndrômica, encontrando, entre os casos de SA, a mutação p.Ser252Trp em 62% e a mutação p.Pro253Arg em 36%.

A mutação p.Ser252Trp caracteriza-se por comprometimentos craniofacial e ocular severos, estenose do ducto nasolacrimal (Jadico et al 2006), sinostose umeroradial (Kanauchi et al 2003) e, em alguns casos, fissura palatina (Slaney et al 1996).

Eventualmente, outras mutações relacionam-se à SA. Na casuística apresentada, houve um indivíduo com uma mutação atípica, a c.940-2A>G *intron 9-splice acceptor* - caso descrito anteriormente por Passos-Bueno et al (1997). Outras

cinco mutações atípicas já foram identificadas em indivíduos com síndrome de Apert, (Lajeunie et al 1999, Oldridge et al 1999, Lajeunie et al 2006 e Bochukova et al 2009). As mutações tipo *splicing do FGFR2*, como a descrita no presente estudo, são relatadas em 10% dos casos de síndrome de Pfeiffer e nestes, apesar da apresentação clínica variável, há um acentuado e frequente comprometimento das extremidades (Cohen Junior 2004c).

Entre os casos de síndrome de Crouzon, foi observada uma heterogeneidade das mutações, semelhante aos relatos da literatura. São conhecidas mais de 50 mutações relacionadas à SC, sendo, em 48% dos casos localizadas no gene *FGFR2* e em 10% nos genes *TWIST1* e *FGFR3* (Oliveira 2006).

Substituições de nucleotídeos do *FGFR2* foram detectadas em todos os seis casos de Crouzon estudados, incluindo dois casos familiares e quatro esporádicos. Na forma familiar, foi detectada a mudança de uma única base, a c.983A>G no *exon IIIc* (p.Tyr328Cys), confirmada por pesquisa de mutação do *FGFR2*, nos dois irmãos. Foram identificadas, isoladamente, as mutações p.Cys278Phe no *exon IIIa* e as mutações p.Thr341Pro, p.Cys342Tyr e p.Ser354Cys, no *exon IIIc* (Tabela 2). Todos os casos apresentaram formas clínicas típicas de síndrome de Crouzon.

As substituições de resíduos p.Phe267, p.Cys278, p.Gln289, p.Gly338, p.Cys342, p.Ala344, p.Ser347 e p.Ser354 são habituais na síndrome de Crouzon. O resíduo substituído é que define o fenótipo clínico final, como exemplificado por conversão do p.Trp290 e p.Tyr340 em resíduos de outros aminoácidos, em vez de cisteínas (p.Trp290Arg/Gly, p.Tyr340His/Ser), produzindo manifestações clínicas da síndrome de Crouzon (Wilkie et al 2002, Cohen Junior 2004c e Lajeunie et al 2006).

Com relação ao perfil cognitivo, os oito casos de SA estudados apresentaram QIT médio de 76.9 (47 a 108). Destes, cinco casos apresentaram QIT

acima de 70. Tais achados são compatíveis com os encontrados por Lefebvre et al (1986), Patton et al (1988) e Costa et al (2006), mas diferem dos achados de Renier et al (1996). Podemos considerar que o fato de nenhum indivíduo dessa casuística viver em instituição, quando da avaliação cognitiva, pode ter contribuído para o QI apresentar-se acima da média observada por Renier et al (1996).

A avaliação do QI de indivíduos com SA, realizada por Lefebvre et al (1986) e Patton et al (1988), demonstraram, respectivamente, um QI médio de 73.6 (variando de 52 a 89) e valores do QI superiores a 70, em 48% dos avaliados.

Renier et al (1996), ao avaliarem 38 indivíduos com SA, observaram QI médio de 62 (10 a 114), utilizando variadas escalas psicometricas como *Brunet-Lézine*, *NEMI (Nouvelle Echelle Métrique de l'Intelligence)*, *Wechsler Intelligence Scale for Children (WISC-R)* ou *Wechsler Preschool and Primary Scale of Intelligence*. Neste estudo havia dez indivíduos que estavam institucionalizados ou que apresentavam más condições familiares à época da avaliação cognitiva. Foram encontradas diferenças significativas ao correlacionar o déficit cognitivo com alterações do septo pelúcido, ambiente familiar desfavorável e realização da remodelação cirúrgica do crânio após os 12 meses de vida.

No presente estudo, os seis casos de síndrome de Apert, com a mutação p.Ser252Trp, apresentaram QIT médio de 67.2, resultado comparável com a literatura (Park et al 1995 e Lajeunie et al 1999).

Costa et al (2005) consideram que o perfil cognitivo das mutações p.Ser252Trp e p.Pro253Arg não estão claramente definidos. Estudaram detalhadamente o perfil cognitivo de duas crianças com SA e mutação p.Ser252Trp. A primeira, avaliada aos 14 anos de idade, apresentava leve dilatação ventricular, identificada por TAC, sem anormalidades do parênquima encefálico e resultados do

QIV de 92, QIE de 98 e do QIT de 94. Apesar de apresentar inteligência considerada normal e habilidade de leitura adequada para a idade, a memória visual estava reduzida e havia déficit moderado da velocidade de processamento, da atenção, da concentração e dos mecanismos auto-regulatórios. O segundo caso avaliado por Costa et al (2005) foi uma criança de sete anos, com agenesia de corpo caloso e distorção ventricular leve. Apresentava distúrbio de linguagem com importante comprometimento da capacidade articulatória. Devido à dificuldade de comunicação e à presença evidente de atraso do desenvolvimento cognitivo, foi realizada uma versão modificada do teste psicométrico. O resultado do QI dessa criança foi de 44, apresentava dificuldades no desempenho escolar e inclusão social. As crianças com SA podem apresentar diferentes habilidades cognitivas e funcionais. Os resultados reforçam a importância do estudo das capacidades cognitivas e funcionais, assim como das necessidades individuais, utilizando uma detalhada avaliação neuropsicológica.

Descreve-se um pior desempenho cognitivo nos indivíduos com a mutação p.Pro253Arg, em comparação à mutação p.Ser252Trp (Lajeunie et al 1999). No presente estudo, inversamente, o caso com maior desempenho cognitivo (QIT de 108) apresentou a mutação p.Pro253Arg.

Park et al (1995) estudaram a correlação entre as características fenotípicas e o genótipo de 36 casos de SA e, apesar de identificarem déficit cognitivo na maioria, não observaram diferença significativa do QI entre as mutações p.Ser252Trp e p.Pro253Arg.

Lajeunie et al (1999) analisaram o QI de 24 indivíduos com SA e encontraram déficit cognitivo em 15. A mutação p.Ser252Trp foi identificada em sete indivíduos com déficit cognitivo (7 de 23 indivíduos com mutação p.Ser252Trp),

enquanto que a mutação p.Pro253Arg foi identificada em oito indivíduos com déficit cognitivo (8 de 12 indivíduos com mutação p.Pro253Arg). Concluíram que os indivíduos com mutação p.Pro253Arg apresentaram QI significativamente pior ($p < 0,05$).

Slaney et al (1996) observaram comprometimento cognitivo em 44,4% das crianças com SA, sem diferenças significativas em relação ao prognóstico cognitivo, entre as duas mutações estudadas (p.Ser252Trp e p.Pro253Arg).

Ito et al (2005) relataram nove casos típicos de SC, que apresentavam variabilidade de mutações, verificando comprometimento do SNC com hidrocefalia progressiva em quatro casos e déficit cognitivo em um caso. Há poucos estudos sobre o prognóstico cognitivo na SC.

Noetzel et al (1985) avaliaram 23 crianças com craniossinostose síndrômica (Apert, Crouzon, Pfeiffer, and Saethre-Chotzen) e observaram que em 70% o QI estava acima de 90, resultado compatível com o obtido no presente estudo (QIT médio de 93.5).

O indivíduo com a mutação p.Cys342Tyr apresentou o melhor desempenho cognitivo da casuística, com QIT de 102 e ausência de alterações encefálicas.

No presente estudo, foram observadas alterações encefálicas na RM, como ventriculomegalia não progressiva, hipoplasia de corpo caloso e hipoplasia do septo pelúcido, em quatro de seis casos com a mutação p.Ser252Trp. Esses casos apresentaram QIT médio de 65.5 (47 a 78), caracterizado como déficit cognitivo e constituindo o pior desempenho da casuística.

O indivíduo com a mutação atípica c.940-2A>G *splicing* apresentava QIT de 104 e SNC sem alterações. Não foram encontrados relatos na literatura sobre o perfil cognitivo dessa mutação.

Lajeunie et al (1999) não observaram diferença na incidência de alterações encefálicas entre as mutações p.Ser252Trp e p.Pro253Arg. As alterações do SNC, como hipoplasia do septo pelúcido e malformações límbicas têm sido relacionados a resultados de QI inferiores a 70 (De Léon et al 1987 e Renier et al 1996).

Apesar dessa consideração, um indivíduo do presente estudo, com a mutação p.Pro253Arg, apresentou um QIT de 108 e hipoplasia de corpo caloso, hipoplasia de septo pelúcido e ventriculomegalia.

Embora frequentemente considerada secundária à sinostose craniana, a origem das alterações do SNC, observadas na síndrome de Apert, é ainda obscura. Utilizando RM microscópica tridimensional, foi avaliado o encéfalo de ratos isogênicos selvagens e com as mutações *Fgfr2*^{+/S252W} e *Fgfr2*^{+/P253R}, no primeiro dia de vida pós-nascimento (Aldridge et al 2010). Os autores relataram que os ratos mutados apresentavam diversas alterações encefálicas, quando comparados com os ratos selvagens, como alterações da morfologia cerebral, assimetria dos hemisférios cerebrais, fusão das suturas coronais, defeitos do corpo caloso e ventriculomegalia. Entretanto, apesar do padrão de expressão dessas alterações diferir entre as mutações, não houve diferença estatística e não foi identificado aumento do tamanho encefálico dos ratos no primeiro dia de vida, assim como não identificaram correlação da presença e severidade das alterações encefálicas com o padrão de fusão das suturas coronais (Aldridge et al 2010). Sugerem que o tecido encefálico, nas mutações p.Ser252Trp e p.Pro253Arg, estaria primariamente afetado e não seria apenas uma consequência da fusão precoce da caixa craniana. A hipótese é que os tecidos que originam o crânio e o encéfalo são afetados primariamente na craniosinostose sindrômica (Aldridge et al 2010).

Martínez-Abadías et al (2010), utilizando um modelo experimental com ratos transgênicos, com mutação $Fgfr2^{+/S252W}$ e $Fgfr2^{+/P253R}$, estudaram a variação do fenótipo cranial, no primeiro dia de vida. Os efeitos craniofaciais das duas mutações do $Fgfr2$ estudadas foram similares, mas o rato mutante $Fgfr2^{+/S252W}$ apresentou uma significativa severidade do comprometimento do palato posterior. Esse modelo experimental demonstrou que a sutura coronal não é a primeira e nem a única estrutura acometida, sendo a face o primeiro local a ser afetado na craniossinostose relacionada à síndrome de Apert (Martínez-Abadías et al 2010).

As alterações do parênquima encefálico e a hipertensão intracraniana na SC são comparativamente menos frequentes que na SA (Cohen Junior e Kreiborg 1996a). No presente estudo, alterações encefálicas foram observadas em três casos de SC, representando 50% de incidência de alterações do SNC, porém somente um caso (16%) apresentou alteração encefálica congênita (ventriculomegalia moderada). O resultado do QIT desse caso foi 82 e apesar de considerado normal, foi o menor valor dentre os casos de SC. Não há evidências de associação entre ventriculomegalia não-hipertensiva e comprometimento intelectual (Murovic et al 1993, Notzel et al 1998 e Renier et al 1996). Os outros dois casos com alteração do SNC apresentaram somente encefalomalácia. O resultado do QIT foi semelhante para esses dois casos e correspondeu a 93. Os irmãos com a mutação p.Tyr328Cys apresentaram QIT de 98 e de 93.

Ao compararmos os resultados da média do QIT entre as síndromes de Apert e de Crouzon, apesar da casuística pequena, evidenciamos uma tendência à diferença significativa ($p < 0,1$) entre as médias, sendo que o QIT dos indivíduos da SA foi de 76.9 e o QIT foi de 93.5 dos indivíduos da SC. Esse resultado é compatível com vários relatos (Lefebvre et al 1986, Patton et al 1988 e Lajeunie et al 1999).

Foi observada uma associação significativa dos índices de inteligência e da presença da mutação p.Ser252Trp. A comparação do QIT dos indivíduos com a mutação p.Ser252Trp (QIT médio de 67.2) com o QIT dos indivíduos com as outras mutações identificadas no presente estudo de SA (QIT médio de 106) demonstrou significativa diferença ($p < 0,05$). Esse resultado é comparável ao de Lajeunie et al (1999), que evidenciou média do QI de 66.8 em 15 indivíduos com a mutação p.Ser252Trp.

Em relação à mutação p.Pro253Arg, o resultado do QI foi melhor (QIT de 108) que o de Lajeunie et al (1999), que ao estudarem nove casos com essa mutação, encontraram média de QI de 59.1.

Múltiplos fatores influenciam o resultado cognitivo final na síndrome de Apert e em outras craniossinostoses sindrômicas, promovendo diferenças individuais na expressão dessas condições. Raybaud e Di Rocco (2007) apontaram para as evidências neurobiológicas que reforçam a participação do gene *L1CAM* sobre o resultado cognitivo final nessas síndromes. Esse gene desempenha um papel importante no desenvolvimento da substância branca encefálica e seu efeito depende da interação adequada com os *FGFRs*. Considera-se que mutações dos *FGFRs*, além de gerarem anormalidades da caixa craniana, desencadeiam um defeito primário da substância branca encefálica por falta de interação com o gene *L1CAM* (Raybaud e Di Rocco 2007). O déficit cognitivo, observado nos indivíduos com mutação dos *FGFRs*, pode ser mais um elemento da síndrome (através da interação *L1CAM-FGFRs*) e não apenas uma consequência do tamanho reduzido do crânio ou da hidrocefalia associada (Raybaud e Di Rocco 2007).

O desenvolvimento cognitivo pode ser influenciado por outros fatores, tais como a obstrução das vias aéreas superiores, déficit auditivo e descompressão

craniana antes dos 12 meses de vida (Renier et al 1996, Mitsukawa et al 2004 e Arduino-Meirelles, Lacerda e Gil-Da-Silva-Lopes 2006).

A síndrome da apneia obstrutiva do sono (SAOS) compromete principalmente os indivíduos com SC, ocasionando períodos de hipóxia, com risco para o desenvolvimento cognitivo, dificuldade de concentração e sonolência excessiva diurna (Mitsukawa et al 2004).

A perda auditiva, geralmente condutiva, presente em torno de 50% dos casos, pode comprometer o desenvolvimento da linguagem e da cognição (Arduino-Meireles, Lacerda e Gil-da-Silva-Lopes 2006 e Jong et al 2010).

Um elemento considerado importante no desenvolvimento cognitivo é a realização precoce de cirurgia para descompressão craniana, antes dos 12 meses de vida, por proporcionar um QI melhor e evitar as consequências deletérias da hipertensão intracraniana (Renier et al 1996 e Thompson et al 1997).

A participação considerável do déficit motor fino, secundário às deformidades das mãos, colabora para o pior desempenho nos testes psicométricos utilizados (Lefebvre et al 1986, Patton et al 1988 e Renier et al 1996).

Fatores como os aspectos sociais, econômicos e a qualidade de vida, o nível de escolaridade dos pais, o grau de estimulação e de convivência social, a escolarização e a institucionalização dessas crianças, estão associados diretamente ao desempenho cognitivo (Renier et al 1996, Yacubian-Fernandes et al 2005, 2007 e Bannink et al 2010).

Aguado et al (1999) consideram a dificuldade de interpretação dos resultados cognitivos obtidos por testes psicométricos, sugerindo, como alternativa, uma avaliação ampla, que inclua a análise de habilidades como atenção, concentração, memória, percepção visual, linguagem, processos de aritmética,

funções executivas, do raciocínio e da inteligência geral, por fornecer resultados mais reais da capacidade cognitiva desses indivíduos.

O QI é uma medida genérica da inteligência, é obtida por teste neuropsicológico que avalia as habilidades e as competências cognitivas, mas não de forma pormenorizada os processos cognitivos mais especializados, como atenção, memória e funções executivas. Essas funções variam naturalmente para todas as crianças e sofrem interferência de múltiplos fatores. Tais déficits funcionais podem impactar significativamente as atividades diárias e a adaptação social do indivíduo, contudo, não há estudos quantificando claramente esse problema (Costa et al 2005 e Arduino-Meireles, Lacerda e Gil-da-Silva-Lopes 2006). Dennis (2000) considera uma medida real do impacto funcional sobre o SNC a incapacidade de manter o mesmo desempenho em situações de progressivo desafio.

O emprego de técnicas de RM, com medida volumétrica dos lobos e de outras regiões encefálicas, contribui para o conceito de fenótipo comportamental em várias desordens neurológicas (Schaer e Eliez 2007). O fenótipo comportamental é a designação da personalidade cognitiva, comportamental e psiquiátrica, característica de uma desordem. Várias síndromes genéticas foram identificadas, tendo um padrão comportamental distinto e consistente (Cassidy e Morris 2002). Saugstad (2004) relaciona os aspectos genéticos de algumas síndromes com o perfil cognitivo ou mesmo o fenótipo comportamental.

A natureza do fenótipo comportamental e a influência da genética podem ser avaliadas através dos exemplos da síndrome de Williams (Bellugi et al 1999), síndrome de Prader-Willi (Woodcock et al 2009, Chen et al 2010 e Copet et al 2010) e síndrome de Angelman (Cassidy e Morris 2002).

As características cognitivas e comportamentais desses distúrbios são distintas e a base genética é bastante conhecida. A fisiopatologia e as correlações entre o genótipo e o fenótipo fornecem dados para a compreensão da participação dos genes nas características de personalidade e nos distúrbios do comportamento, observados em tais situações. Achados semelhantes têm sido descritos na síndrome de Down (Capone 2001), síndrome de Rubinstein-Taybi (Hallam e Bourtchouladze 2006), síndrome da deleção 22q11.2 (Jansen et al 2007 e Benítez 2009).

Especificamente, em relação às craniossinostoses síndrômicas, há poucos estudos sobre o perfil cognitivo e a biologia molecular.

A imagiologia encefálica, obtida por RM morfométrica e funcional, associada ao esclarecimento dos processos bioquímico-moleculares envolvidos, poderá contribuir para a melhor compreensão das funções, de quais estruturas encefálicas estão relacionadas à deficiência cognitiva e de como o processo patogênico subjacente altera o desenvolvimento encefálico nas diferentes síndromes (Gothelf et al 2005).

CONCLUSÕES

7 CONCLUSÕES

- O presente trabalho evidenciou a influência da mutação p.Ser252Trp na síndrome de Apert, relacionando-a aos menores quocientes de inteligência;
- Na síndrome de Apert, as mutações identificadas foram a p.Ser252Trp e p.Pro253Arg e a mutação atípica c.940-2A>G *intron 9-splice acceptor*. Na síndrome de Crouzon, cujas mutações apresentaram grande variabilidade, houve heterogenidade de mutações do *FGFR2*, exceto pela ocorrência da mesma mutação em dois irmãos;
- A análise comparativa do QI, da mutação do *FGFR2* e das alterações do SNC demonstrou, entre os indivíduos com síndrome de Apert e QI acima de 100, em um deles, a presença da mutação atípica c.940-2A>G e ausência de alterações do SNC, enquanto que no outro, apresentou a mutação p.Pro253Arg e diversas alterações encefálicas, reforçando a complexidade existente entre as variáveis relacionadas e o QI final desses indivíduos.

REFERÊNCIAS

8 REFERÊNCIAS

Aguado AM, Lobo-Rodriguez B, Blanco-Menéndez R, Alvarez-Carriles JC, Vera de la Puente E. Implicaciones neuropsicológicas del síndrome de Crouzon: estudio de un caso. *Rev Neurol*. 1999; 29(11):1040-4.

Akai T, Yamamoto K, Iizuka H, Kawakami S, Yoshida J, Kakinuma H, et al. Syndromic craniosynostosis with elbow joint contracture. *Pediatr Neurosurg*. 2006; 42(2):108-12.

Aldridge K, Hill CA, Austin JR, Percival C, Martinez-Abadías N, Neuberger T, et al. Brain phenotypes in two FGFR2 mouse models for Apert syndrome. *Dev Dyn*. 2010; 239(3):987-97.

Anantheswar YN, Venkataramana NK. Pediatric craniofacial surgery for craniosynostosis: our experience and current concepts: Parts - 2. *J Pediatr Neurosci*. 2009; 4(2):100-7.

Anderson J, Burns HD, Enriquez-Harris P, Wilkie AO, Heath JK. Apert syndrome mutations in fibroblast growth factor receptor 2 exhibit increased affinity for FGF ligand. *Hum Mol Genet*. 1998; 7(9):1475-83.

Andrade CRF. Prevalência das desordens idiopáticas da fala e da linguagem em crianças de um a onze anos de idade. *Rev Saúde Pública*. 1997; 31(5):495-501.

Ang BU, Spivak RM, Nah HD, Kirschner RE. Dura in the pathogenesis of syndromic craniosynostosis: fibroblast growth factor receptor 2 mutations in dural cells promote osteogenic proliferation and differentiation of osteoblasts. *J Craniofac Surg*. 2010; 21(2):462-7.

Arduino-Meirelles AP, Lacerda CBF, Gil-Da-Silva-Lopes VL. Aspectos sobre desenvolvimento de linguagem oral em craniossinostoses sindrômicas. *Pró-Fono*. 2006; 18(2):213-20.

Bannink N, Nout E, Wolvius EB, Hoeve HL, Joosten KF, Mathijssen IM. Obstructive sleep apnea in children with syndromic craniosynostosis: long-term respiratory outcome of midface advancement. *Int J Oral Maxillofac Surg*. 2010;39(2):115-21.

Bellugi U, Lichtenberger L, Mills D, Galaburda A, Korenberg JR. Bridging cognition, the brain and molecular genetics: evidence from Williams syndrome. *Trends Neurosci*. 1999; 22(5):197-207.

Benítez A. Genes, cognición y lenguaje: consideraciones a propósito del síndrome velocardiofacial. *Neurologia*. 2009; 24(1):50-8.

Bochukova EG, Roscioli T, Hedges DJ, Taylor IB, Johnson D, David DJ, et al. Rare mutations of FGFR2 causing Apert syndrome: identification of the first partial gene deletion, and an Alu element insertion from a new subfamily. *Hum Mutat*. 2009; 30(2):204-11.

Bonaventure J, El Ghouzzi V. Molecular and cellular bases of syndromic craniosynostoses. *Expert Rev Mol Med*. 2003; 5(4):1-17.

Burke D, Wilkes D, Blundell TL, Malcolm S. Fibroblast growth factor receptors: lessons from the genes. *Trends Biochem Sci*. 1998; 23(2):59-62.

Capone GT. Down syndrome: advances in molecular biology and the neurosciences. *J Dev Behav Pediatr*. 2001;22(1):40-59.

Carinci F, Pezzetti F, Locci P, Becchetti E, Carls F, Avantaggiato A, et al. Apert and Crouzon syndromes: clinical findings, genes and extracellular matrix. *J Craniofac Surg*. 2005; 16(3):361-8.

Cassidy SB, Morris CA. Behavioral phenotypes in genetic syndromes: genetic clues to human behavior. *Adv Pediatr*. 2002; 49:59-86.

Castañó J. Bases neurobiológicas del lenguaje y sus alteraciones. *Rev Neurol*. 2003; 36(8):781- 5.

Chen CM, Chen CL, Hou JW, Hsu HC, Chung CY, Chou SW, et al. Developmental profiles and mentality in preschool children with Prader-Willi syndrome: a preliminary study. *Chang Gung Med J*. 2010; 33(4):436-42.

Choi SK, Yoon SR, Calabrese P, Arnheim N. A germ-line-selective advantage rather than an increased mutation rate can explain some unexpectedly common human disease mutations. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2008; 105(29):10143-8.

Cohen Junior MM, Kreiborg S, Lammer EJ, Cordero JF, Mastroiacovo P, Erickson JD, et al. Birth prevalence study of the Apert syndrome. *Am J Med Genet*. 1992; 42(5):655-9.

Cohen Junior MM, Kreiborg S. A clinical study of the craniofacial features in Apert syndrome. *Int J Oral Maxillofac Surg*. 1996; 25(1):45-53.

Cohen Junior MM, Kreiborg S. Birth prevalence studies of the Crouzon syndrome: comparison of direct and indirect methods. *Clin Genet*. 1992; 41(1):12-5.

Cohen Junior MM, Kreiborg S. The central nervous system in the Apert syndrome. *Am J Med Genet*. 1990; 35(1):36-45.

Cohen Junior MM, MacLean RE. Sutural biology. In: Cohen Junior MM, MacLean RE, editors. *Craniosynostosis: diagnosis, evaluation, and management*. 2nd ed. New York: Oxford University Press; 2000. p.11-23.

Cohen Junior MM. Apert syndrome. In: Epstein CJ, Ericson RP, Wynshaw-Boris A, editors. *Inborn errors of development: the molecular basis of clinical disorders of morphogenesis*. New York: Oxford University Press; 2004 a. p.316-50.

Cohen Junior MM. Crouzon syndrome. In: Epstein CJ, Ericson RP, Wynshaw-Boris A, editors. *Inborn errors of development: the molecular basis of clinical disorders of morphogenesis*. New York: Oxford University Press; 2004b. p.361-5.

Cohen Junior MM. FGFs/FGFRs and associated disorders. In: Epstein CJ, Ericson RP, Wynshaw-Boris A, editors. *Inborn errors of development: the molecular basis of clinical disorders of morphogenesis*. New York: Oxford University Press; 2004c. p.380-97.

Cohn ER, Hesky EM, Bradley Junior WF, McWilliams BJ, Hurwitz DJ, Wallace SB. Life response to Crouzon's disease. *Cleft Palate J*. 1985; 22(2):123-31.

Collmann H, Sörensen N, Krauss J. Hydrocephalus in craniosynostosis: a review. *Childs Nerv Syst*. 2005; 21(10):902-12.

Copet P, Jauregi J, Laurier V, Ehlinger V, Arnaud C, Cobo AM, et al. Cognitive profile in a large French cohort of adults with Prader-Willi syndrome: differences between genotypes. *J Intellect Disabil Res*. 2010; 54(3):204-15.

Costa AC, Savarirayan R, Wrennall JA, Walters I, Gardiner N, Tucker A, et al. Neuropsychological diversity in Apert syndrome a comparison of cognitive profiles. *Ann Plast Surg*. 2005; 54(4):450-5.

Costa AC, Walters I, Savarirayan R, Anderson VA, Wrennall JA, Meara JG. Intellectual outcomes in children and adolescent with syndromic and nonsyndromic craniosynostosis. *Plast Reconstr Surg*. 2006; 118(1):182-3.

- Cunha JA. Alguns tipos específicos de avaliação psicológica. In: Freitas N, Raymundo M. Psicodiagnóstico-V. 4a. ed. Porto Alegre: Artes Médicas; 1993. p.101-34.
- Cunningham ML, Seto ML, Ratisoontorn C, Heike CL, Hing AV. Syndromic craniosynostosis: from history to hydrogen bonds. *Orthod Craniofac Res*. 2007; 10(2):67-81.
- Curry CJ, Stevenson RE, Aughton D, Byrne J, Carey JC, Cassidy S, et al. Evaluation of mental retardation: recommendations of a Consensus Conference: American College of Medical Genetics. *Am J Med Genet*. 1997; 72(4):468-77.
- De León GA, De León G, Grover WD, Zaeri N, Alburger PD. Agenesis of the corpus callosum and limbic malformation in Apert syndrome (type I acrocephalosyndactyly). *Arch Neurol*. 1987; 44(9):979-82.
- Dennis M. Childhood medical disorders and cognitive impairment: biological risk, time, development, and reserve. In: Yeates KO, Ris MD, Taylor HG, editors. *Pediatric neuropsychology: research, theory, and practice*. New York: Guilford; 2000. p. 3-22.
- El Ghouzzi V, Le Merrer M, Perrin-Schmitt F, Lajeunie E, Benit P, Renier D, et al. Mutations of the TWIST gene in the Saethre-Chotzen syndrome. *Nat Genet*. 1997; 15(1):42-6.
- Eswarakumar VP, Lax I, Schlessinger J. Cellular signaling by fibroblast growth factor receptors. *Cytokine Growth Factor Rev*. 2005; 16(2):139-49.
- Fanganiello RD, Sertié AL, Reis EM, Yeh E, Oliveira NA, Bueno DF, et al. Apert p.Ser252Trp mutation in FGFR2 alters osteogenic potential and gene expression of cranial periosteal cells. *Mol Med*. 2007; 13(7-8):422-42.
- Flapper WJ, Anderson PJ, Roberts RM, David DJ. Intellectual outcomes following protocol management in Crouzon, Pfeiffer, and Muenke syndromes. *J Craniofac Surg*. 2009; 20(4):1252-5.
- Givol D, Eswarakumar VP, Lonai P. The fibroblast growth factor signaling pathway. In: Epstein CJ, Erickson RP, Wynshaw-Boris A, editors. *Inborn errors of development: the molecular basis of clinical disorders of morphogenesis*. New York: Oxford University Press; 2004. p.367-79.
- Gollop TR. Genética craniofacial. In: Altmann EBC. *Fissuras labiopalatinas*. 4a. ed. Carapicuíba: Pró-fono; 1997. p.39-47.

Gothelf D, Furfaro JA, Penniman LC, Glover GH, Reiss AL. The contribution of novel brain imaging techniques to understanding the neurobiology of mental retardation and developmental disabilities. *Ment Retard Dev Disabil Res Rev*. 2005; 11(4):331-9.

Hajihosseini MK, Wilson S, De Moerlooze L, Dickson C. A splicing switch and gain-of-function mutation in *FgfR2-IIIc* hemizygotes causes Apert/Pfeiffer-syndrome-like phenotypes. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2001; 98(7):3855-60.

Hall SH, Decker JD. Calvarial suture morphogenesis: cellular and molecular aspects. In: Persing JA, Edgerton MT, Jane JA, editors. *Scientific foundations and surgical treatment of craniosynostosis*. Baltimore: Williams, Wilkins; 1989. p.27-37.

Hallam TM, Bourtchouladze R. Rubinstein-Taybi syndrome: molecular findings and therapeutic approaches to improve cognitive dysfunction. *Cell Mol Life Sci*. 2006; 63(15):1725-35

Hayward R, Gonzalez S. How low can you go? Intracranial pressure, cerebral perfusion pressure, and respiratory obstruction in children with complex craniosynostosis. *J Neurosurg*. 2005; 102(1 Suppl):16-22.

Holmes G, Rothschild G, Roy UB, Deng CX, Mansukhani A, Basilico C. Early onset of craniosynostosis in an Apert mouse model reveals critical features of this pathology. *Dev Biol*. 2009; 328(2):273-84.

Ibrahimi OA, Eliseenkova AV, Plotnikov AN, Yu K, Ornitz DM, Mohammadi M. Structural basis for fibroblast growth factor receptor 2 activation in Apert syndrome. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2001; 98(13):7182-7.

Ito S, Sekido K, Kanno H, Sato H, Tanaka M, Yamaguchi K, et al. Phenotypic diversity in patients with craniosynostoses unrelated to Apert syndrome: the role of fibroblast growth factor receptor gene mutations. *J Neurosurg*. 2005; 102(1 Suppl):23-30.

Jadico SK, Young DA, Huebner A, Edmond JC, Pollock AN, McDonald-McGinn DM, et al. Ocular abnormalities in Apert syndrome: genotype/phenotype correlations with fibroblast growth factor receptor type 2 mutations. *J AAPOS*. 2006; 10(6):521-7.

Jansen PW, Duijff SN, Beemer FA, Vorstman JA, Klaassen PW, Morcus ME, et al. Behavioral problems in relation to intelligence in children with 22q11.2 deletion syndrome: a matched control study. *Am J Med Genet A*. 2007; 143(6):574-80.

Jenkins D, Seelow D, Jehee FS, Perlyn CA, Alonso LG, Bueno DF, et al. RAB23 mutations in Carpenter syndrome imply an unexpected role for hedgehog signaling in cranial-suture development and obesity. *Am J Hum Genet.* 2007; 80(6):1162-70.

Jong T, Bannink N, Bredero-Boelhouwer HH, van Veelen ML, Bartels MC, Hoeve LJ, et al. Long-term functional outcome in 167 patients with syndromic craniosynostosis; defining a syndrome-specific risk profile. *J Plast Reconstr Aesthet Surg.* 2010; 63(10):1635-41.

Kan SH, Elanko N, Johnson D, Cornejo-Roldan L, Cook J, Reich EW, et al: Genomic screening of fibroblast growth factor receptor 2 reveals a wide spectrum of mutations in patients with syndromic craniosynostosis. *Am J Hum Genet.* 2002; 70(2):472-86.

Kanauchi Y, Muragaki Y, Ogino T, Takahara M, Tsuchida H, Ishigaki D. FGFR2 mutation in a patient with Apert syndrome associated with humeroradial synostosis. *Congenit Anom.* 2003; 43(4):302-5.

Kimonis V, Gold JA, Hoffman TL, Panchal J, Boyadjev SA. Genetics of craniosynostosis. *Semin Pediatr Neurol.* 2007; 14(3):150-61.

Lajeunie E, Cameron R, El Ghouzzi V, De Parseval N, Journeau P, Gonzales M, et al. Clinical variability in patients with Apert's syndrome. *J Neurosurg.* 1999; 90(3):443-7.

Lajeunie E, Heuertz S, El Ghouzzi V, Martinovic J, Renier D, Le Merrer M, et al. Mutation screening in patients with syndromic craniosynostoses indicates that a limited number of recurrent FGFR2 mutations accounts for severe forms of Pfeiffer syndrome. *Eur J Hum Genet.* 2006; 14(3):289-98.

Lajeunie E, Le Merrer M, Bonaiti-Pellie C, Marchac D, Renier D. Genetic study of nonsyndromic coronal craniosynostosis. *Am J Med Genet* 1995; 55(4):500-4.

Lamônica DAC. Linguagem na paralisia cerebral. In: Ferreira LP, Befi-Lopes DM, Limongi SCO, organizadores. *Tratado de fonoaudiologia.* São Paulo: Roca; 2004. p.967-76.

Lefebvre A, Travis F, Arndt EM, Munro IR. A psychiatric profile before and after reconstructive surgery in children with Apert's syndrome. *Br J Plast Surg.* 1986; 39(4):510-3.

Luria AR. Higher cortical functions in man. 2nd. ed. New York: Springer, 1980. p.656.

Marchac D, Renier D. Faciocraniosynostosis: from infancy to adulthood. *Childs Nerv Syst.* 1996; 12(11):669-77.

Martínez-Abadías N, Percival C, Aldridge K, Hill CA, Ryan T, Sirivunnabood S, et al. Beyond the closed suture in apert syndrome mouse models: evidence of primary effects of FGFR2 signaling on facial shape at birth. *Dev Dyn.* 2010; 239(11):3058-71.

Misquiat ARN. Avaliação da linguagem em indivíduos com síndromes de Apert, Crouzon e Pfeiffer [dissertação]. Campinas: Pontifícia Universidade Católica; 1996.

Mitsukawa N, Satoh K, Hayashi T, Furukawa Y, Uemura T, Hosaka Y. A reflectable case of obstructive sleep apnea in an infant with Crouzon syndrome. *J Craniofac Surg.* 2004; 15(5):874-8.

Muenke M, Schell U, Hehr A, Robin NH, Losken HW, Schinzel A, et al. A common mutation in the fibroblast growth factor receptor 1 gene in Pfeiffer syndrome. *Nat Genet.* 1994; 8(3):269-74.

Müller U, Steinberger D, Kunze S. Molecular genetics of craniosynostotic syndromes. *Graefe's Arch Clin Exp Ophthalmol.* 1997; 235(9):545-50.

Murovic JA, Posnick JC, Drake JM, Humphreys RP, Hoffman HJ, Hendricks EB. Hydrocephalus in Apert syndrome: a retrospective review. *Pediatr Neurosurg.* 1993; 19(3):151-5.

Noetzel MJ, Marsh JL, Palkes H, Gado M. Hydrocephalus and mental retardation in craniosynostosis. *J Pediatr.* 1985; 107(6):885-92.

Oldridge M, Zackai EH, McDonald-McGinn DM, Iseki S, Morriss-Kay GM, Twigg SR, et al. De novo *alu*-element insertions in FGFR2 identify a distinct pathological basis for Apert syndrome. *Am J Hum Genet.* 1999; 64(2):446-61.

Oliveira NAJ. Estudo molecular das craniossinostoses sindrômicas: Crouzon, Pfeiffer e Saethre-Chotzen [dissertação]. São Paulo: Instituto de Biociências, Universidade de São Paulo, 2006.

Ornitz DM, Marie PJ. FGF signaling pathways in endochondral and intramembranous bone development and human genetic disease. *Genes Dev.* 2002; 16(12):1446-65.

Ornitz DM, Xu J, Colvin JS, McEwen DG, MacArthur CA, Coulier F, et al. Receptor specificity of the fibroblast growth factor family. *J Biol Chem.* 1996; 271(25):15292-7.

Ornitz DM. FGFs, heparan sulfate and FGFRs: complex interactions essential for development. *Bioessays*. 2000; 22(2):108-12.

Ortiz-Monasterio F, Campo AF, Carillo A. Advancement of the orbits and the mid-face in one piece, combined with frontal repositioning for the correction of Crouzon's deformities. *Plast Reconstr Surg*. 1978; 61(4):507-16.

Park WJ, Theda C, Maestri NE, Meyers GA, Fryburg JS, Dufresne C, et al. Analysis of phenotypic features and FGFR2 mutations in Apert syndrome *Am J Hum Genet*. 1995; 57(2):321-8.

Passos- Bueno MR, Sertié AL, Richieri-Costa A, Alonso LG, Zatz M, Alonso N, et al. Description of a new mutation and characterization of FGFR1, FGFR2, and FGFR3 mutations among Brazilian patients with syndromic craniosynostoses. *Am J Med Genet*. 1998; 78(3):237-41.

Passos-Bueno MR, Armelin LM, Alonso LG, Neustein I, Sertié AL, Abe K. Craniosynostosis associated with ocular and distal limb defects is very likely caused by mutations in a gene different from FGFR, TWIST, and MSX2. *Am J Med Genet*. 2002; 113(2):200-6.

Passos-Bueno MR, Sertié AE, Jehee FS, Fanganiello R, Yeh E. 2008. Genetics of craniosynostosis: genes, syndromes, mutations and genotype-phenotype correlations. *Front Oral Biol*. 2008; 12:107-43.

Passos-Bueno MR, Sertié AL, Zatz M, Richieri-Costa A. Pfeiffer mutation in an Apert patient: how wide is the spectrum of variability due to mutations in the FGFR2 gene? *Am J Med Genet*. 1997; 71(2):243-5

Passos-Bueno MR, Wilcox WR, Jabs EW, Sertié AL, Alonso LG, Kitoh H. Clinical spectrum of fibroblast growth factor receptor mutations. *Hum Mutat*. 1999; 14(2):115-25.

Patton MA, Goodship J, Hayward R, Lansdown R. Intellectual development in Apert's syndrome: a long term follow up of 29 patients. *J Med Genet*. 1988; 25(3):164-7.

Perlyn CA, Nichols C, Woo A, Becker D, Kane AA. Le premier siècle: one hundred years of progress in the treatment of Apert syndrome. *J Craniofac Surg*. 2009; 20(3):801-6.

Pertschuk MJ, Whitaker LA. Psychosocial considerations in craniofacial deformity. *Clin Plast Surg*. 1987; 14(1):163-8.

Posnick JC, Ruiz RL, Tiwana PS. Craniofacial dysostosis syndromes: stages of reconstruction. *Oral Maxillofac Surg Clin North Am.* 2004; 16(4):475-91.

Quintero-Rivera F, Robson CD, Reiss RE, Levine D, Benson CB, Mulliken JB, et al. Intracranial anomalies detected by imaging studies in 30 patients with Apert syndrome. *Am J Med Genet A.* 2006; 140(12):1337-8.

Rajenderkumar D, Bamiou D, Sirimanna T. Management of hearing loss in Apert syndrome. *J Laryngol Otol.* 2005; 119(5):385-90.

Raybaud C, Di Rocco C. Brain malformation in syndromic craniosynostoses, a primary disorder of white matter: a review. *Child Nerv Syst.* 2007; 23(12):1379-88.

Reardon W, Winter RM, Rutland P, Pulleyn LJ, Jones BM, Malcolm S. Mutations in the fibroblast growth factor receptor 2 gene cause Crouzon syndrome. *Nat Genet.* 1994; 8(1):98-103.

Renier D, Arnaud E, Cinalli G, Sebag G, Zerah M, Marchac D. Prognosis for mental function in Apert's syndrome. *J Neurosurg.* 1996; 85(1):66-72.

Renier D, Lajeunie E, Arnaud E, Marchac D. Management of craniosynostoses. *Childs Nerv Syst.* 2000; 16(10/11):645-58.

Rice DP. Developmental anatomy of craniofacial sutures. *Front Oral Biol.* 2008; 12:1-21.

Richards LJ, Plachez C, Ren T. Mechanisms regulating the development of the corpus callosum and its agenesis in mouse and human. *Clin Genet.* 2004; 66(4):276-89.

Robin NH, Falki MJ, Haldeman-Englert CR. FGFR-related Craniosynostosis syndromes. In: Pagon RA, Bird TD, Dolan CR, Stephens K, editors. *GeneReviews* [homepage on the Internet]. Seattle: University of Washington; 2007. [Update 2007 sept 27; cited 2011 jan 20]. Available from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK1455>.

Rosner B. *Fundamental of Biostatistics.* 4a. ed. New York: Duxbury Press; 1994. p.682.

Ruggieri VL, Arberas CL. Behavioural phenotypes: biologically determined neuropsychological patterns. *Rev Neurol.* 2003; 37(3):239-53.

Saugstad LF. From superior adaptation and function to brain dysfunction--the neglect of epigenetic factors. *Nutr Health*. 2004; 18(1):3-27.

Schaer M, Eliez S. From genes to brain: understanding brain development in neurogenetic disorders using neuroimaging techniques. *Child Adolesc Psychiatr Clin N Am*. 2007; 16(3):557-79.

Slaney SF, Oldridge M, Hurst JA, Moriss-Kay GM, Hall CM, Poole MD, et al. Differential effects of FGFR2 mutations on syndactyly and cleft palate in Apert syndrome. *Am J Hum Genet* 1996; 58(5):923-32.

Speltz ML, Kapp-Simon KA, Cunningham M, Marsh J, Dawson G. Single-suture craniosynostosis: a review of neurobehavioral research and theory. *J Pediatr Psychol*. 2004; 29(8):651-68.

Stenirri S, Restagno G, Ferrero GB, Alaimo G, Sbaiz L, Mari C, et al. Integrated strategy for fast and automated molecular characterization of genes involved in craniosynostosis. *Clin Chem*. 2007; 53(10):1767-74.

Tessier P. The definitive plastic surgical treatment of the severe facial deformities of craniofacial dysostosis: Crouzon's and Apert's diseases. *Plast Reconstr Surg*. 1971; 48(5):419-42.

Thompson DNP, Jones B, Harkness W, Gonzalez S, Hayward R. Consequences of cranial vault expansion surgery for craniosynostosis. *Pediatr Neurosurg*. 1997; 26(6):296-303.

Tsai FJ, Hwu WL, Lin SP, Chang JG, Wang TR, Tsai CH. Two common mutations 934C to G and 937C to G of fibroblast growth factor receptor 2 (FGFR2) gene in Chinese patients with Apert syndrome. *Hum Mutat*. 1998; (Suppl 1):18-9.

Twigg SR, Kan R, Babbs C, Bochukova EG, Robertson SP, Wall SA, et al. Mutations of ephrin-B1 (EFNB1), a marker of tissue boundary formation, cause craniofrontonasal syndrome. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2004; 101(23):8652-7.

Wilke M, Sohn JH, Byars AW, Holland SK. Bright spots: correlations of gray matter volume with IQ in a normal pediatric population. *Neuroimage*. 2003; 20(1):202-15.

Wilkie AO, Morris-Kay GM. Genetics of craniofacial development and malformation. *Nat Rev Genet*. 2001; 2(6):458-68.

Wilkie AO, Patey SJ, Kan SH, Van den Ouweland AM, Hamel BC. FGFs, their receptors, and human limb malformations: clinical and molecular correlations. *Am J Med Genet.* 2002; 112(3):266-78.

Wilkie AO, Slaney SF, Oldridge M, Poole MD, Ashworth GJ, Hockley AD, et al. Apert syndrome results from localized mutations of FGFR2 and is allelic with Crouzon syndrome. *Nat Genet.* 1995; 9(2):165-72.

Wilkie AO. Craniosynostosis: genes and mechanisms. *Hum Mol Genet.* 1997; 6(10):1647-56.

Woodcock KA, Oliver C, Humphreys GW. A specific pathway can be identified between genetic characteristics and behaviour profiles in Prader-Willi syndrome via cognitive, environmental and physiological mechanisms. *J Intellect Disabil Res.* 2009; 53(6):493-500.

World Health Organization (WHO). Mental and behavioural disorders. In: World Health Organization. International statistical classification of diseases and related health problems. [homepage on the Internet]. 10th Revision Version for 2007. Geneva: World Health Organization; 2007. [update 2011, cited 2010 dec 10]. Available: <http://apps.who.int/classifications/apps/icd/icd10online>.

Yacubian-Fernandes A, Ducati LG, Silva MV, Abramides DVM, Perosa GB, Palhares A. Síndrome de crouzon - fatores envolvidos no desenvolvimento neuropsicológico e na qualidade de vida. *Arq Neuropsiquiatr.* 2007; 65(2-B):467-71.

Yacubian-Fernandes A, Palhares A, Giglio A, Gabarra RC, Zanini S, Portela L, et al. Apert syndrome factors involved in the cognitive development. *Arq Neuropsiquiatr.* 2005; 63(4):963-8.

Yoon SR, Qin J, Glaser RL, Jabs EW, Wexler NS, Sokol R, et al. The ups and downs of mutation frequencies during aging can account for the Apert syndrome paternal age effect. *PLoS Genet* [serial on the Internet]. 2009 July [cited 2010 dec 10]; 5(7):[9p. e1000558]. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed>.

Yu K, Herr AB, Waksman G, Ornitz DM. Loss of fibroblast growth factor receptor 2 ligand-binding specificity in Apert syndrome. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2000; 97(26):14536-41.

ANEXOS

ANEXO 1 - Ofício de aprovação do projeto emitido pelo Comitê de Ética em Pesquisa em Seres Humanos

Ofício nº 006/2009-SVAPEPE-CEP

Bauru, 18 de fevereiro de 2009.

Prezado(a) Senhor(a)

O projeto de pesquisa encaminhado a este Comitê de Ética em Pesquisa em Seres Humanos, denominado **“Síndromes de Apert e Crouzon: análise molecular e do fenótipo neuropsicológico”**, de autoria de **MARILYSE DE BRAGANÇA LOPES FERNANDES** desenvolvido sob sua orientação, foi enviado ao relator para avaliação.

Na reunião de **17 de fevereiro de 2009**, o parecer do relator **aprovando o projeto**, foi aceito pelo Comitê, considerando que não existem infrações éticas pendentes para início da pesquisa. Solicitamos a V.Sa. a gentileza de comunicar o parecer ao(à) pesquisador(a) e anexar o presente ofício ao projeto pois o mesmo será necessário para futura publicação do trabalho.

O(A) pesquisador(a) fica responsável pela entrega na SVAPEPE – Apoio ao Projeto de Pesquisa dos relatórios semestrais, bem como, comunicar ao CEP todas as alterações que possam ocorrer no projeto.

Informamos que após o recebimento do trabalho concluído, este Comitê enviará o parecer final para publicação.

Atenciosamente,

PROFA. DRA. IZABEL MARIA MARCHI DE CARVALHO
Coordenadora do Comitê de Ética em Pesquisa em Seres Humanos do HRAC-USP

Ilmo(a) Sr(a)
Prof. Dr. Adriano Yacubian Fernandes
Departamento de Fonoaudiologia – FOB/USP

Rua Silvío Marchione, 3-20 Bauru SP Brasil
Caixa Postal 1501 CEP 17.012-900
Tel. 55 14 3235 8421
E-mail: cep@centrinho.usp.br

ANEXO 2 - Ofício de aprovação das alterações do projeto emitido pelo Comitê de Ética em Pesquisa em Seres Humanos

HOSPITAL DE REABILITAÇÃO
DE ANOMALIAS CRANIOFACIAIS
UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO

Serviço de Apoio ao Ensino, Pesquisa e Extensão
Seção de Apoio à Pesquisa

Ofício nº 396/2010-SVAPEPE-CEP

Bauru, 16 de dezembro de 2010

Prezado(a) Senhor(a)

O projeto de pesquisa intitulado "**Síndromes de Apert e Crouzon: análise molecular e do fenótipo neuropsicológico**", de autoria de V.Sa., foi aprovado pelo CEP em 17 de fevereiro de 2009. Na reunião realizada em **30 de novembro de 2010**, as alterações solicitadas e a alteração de título para "**Síndromes de Apert e Crouzon: perfil cognitivo e análise molecular**" foram **aprovadas**.

Informamos que após o recebimento do trabalho concluído, este Comitê enviará um parecer final que poderá ser utilizado para publicação do trabalho.

Atenciosamente,

PROFA. DRA. MARCIA RIBEIRO GOMIDE

Coordenadora do Comitê de Ética em Pesquisa em Seres Humanos do HRAC-USP

Ilmo(a) Sr(a)

MARILYSE DE BRAGANÇA LOPES FERNANDES

A/C

Prof. Dr. Adriano Yacubian Fernandes

Departamento de Fonoaudiologia – FOB/USP

ANEXO 3 - Termo de Consentimento Livre e Esclarecido**“Síndromes de Apert e Crouzon: perfil cognitivo e análise molecular”****TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO**

Você está sendo convidado a participar do projeto de pesquisa acima citado. O documento abaixo contém todas as informações necessárias sobre a pesquisa que estamos fazendo. Se concordar, o documento será assinado e só então daremos início à pesquisa. Sua colaboração neste estudo será de grande importância para nós, mas se desistir a qualquer momento, isso não causará nenhum prejuízo a você.

Pelo presente instrumento que atende às exigências legais, o Sr. (a)

_____,
portador da cédula de identidade _____,
responsável pelo paciente* _____,
após leitura minuciosa deste documento, devidamente explicado pelos profissionais em seus mínimos detalhes, ciente dos serviços e procedimentos aos quais será submetido, não restando quaisquer dúvidas a respeito do lido e explicado, firma seu **CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO** concordando em participar da pesquisa de livre e espontânea vontade como voluntário(a) do estudo: “Síndromes de Apert e Crouzon: perfil cognitivo e análise molecular”, realizado por: Marilyse de Bragança Lopes Fernandes nº do Conselho: 92676, sob orientação do Dr: Adriano Yacubian Fernandes, nº do Conselho: 72480.

Estou ciente que:

- a) O estudo se faz necessário para que possam descobrir as possíveis causas da doença denominada e para um melhor entendimento sobre características do desenvolvimento mental dos indivíduos com estas síndromes.
- b) Será feita pelo menos 1 coleta de 10 ml de sangue no próprio hospital HRAC/BAURU.
- c) Essa coleta será feita apenas para este estudo e em nada influencia o meu tratamento; não vai me curar; não vai me causar nenhum problema, exceto o pequeno incômodo de dor no caso de coleta de sangue (introdução da agulha para retirada do sangue).
- d) A participação neste projeto não tem por objetivo me submeter a um tratamento terapêutico e será sem custo algum para mim.
- e) Os resultados obtidos durante neste ensaio serão mantidos em sigilo, mas concordo que sejam divulgados em publicações científicas, desde que meus dados pessoais não sejam mencionados.
- f) Caso eu deseje, poderei tomar conhecimento dos resultados ao final desta pesquisa:

(☐) Desejo conhecer os resultados (☐) Não desejo conhecer os resultados

ANEXO 3 - continuação

"Caso o sujeito da pesquisa queira apresentar reclamações em relação a sua participação na pesquisa, poderá entrar em contato com o Comitê de Ética em Pesquisa em Seres Humanos, do HRAC-USP, pelo endereço Rua Silvio Marchione, 3-20 no Serviço de Apoio ao Ensino, Pesquisa e Extensão ou pelo telefone (14) 3235-8421".

Fica claro que o sujeito da pesquisa ou seu representante legal, pode a qualquer momento retirar seu CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO, deixar de participar desta pesquisa, e também ciente de que todas as informações prestadas tornar-se-ão confidenciais e guardadas por força de sigilo profissional (Resolução 196/96 do Conep).

Por estarem de acordo assinam o presente termo.

Bauru-SP, ____ de _____ de 2009.

Assinatura do Sujeito da Pesquisa
ou responsável

Assinatura do Pesquisador

* A SER PREENCHIDO QUANDO O SUJEITO DA PESQUISA NÃO FOR O SEU REPRESENTANTE LEGAL.

Nome do Pesquisador Responsável: Marilyse Bragança Lopes Fernandes
Endereço Institucional: Rua Silvio Marchione, 3-20 caixa postal 1501
Cidade: Bauru Estado: São Paulo CEP: 17012900
Telefone: 55 14 3235 8421 E-mail: marilyse@usp.br

ANEXO 4 - Identificação dos pacientes e data da realização das avaliações

Caso	RG	Iniciais	DN	QI	RM	Cirurgia(m)	DNA
1	01.07776-53	DBM	27/07/1983	27/11/2000	24/03/2000	76	2000*
2	01.16301-69	KBV	17/09/1991	24/04/2000	15/12/2000	12	26/04/2010
3	01.17332-82	JVSP	26/04/1989	24/04/2000	07/04/2000	96	26/04/2010
4	01.21520-43	EAP	03/03/1993	31/11/2000	31/01/2000	29	22/04/2010
5	01.24643-97	VLS	24/07/1992	08/05/2000	09/05/2000	02	22/04/2010
6	01.26980-82	FJKS	05/07/1991	21/02/2000	08/08/2000	02	26/04/2010
7	01.28898-18	APSM	02/08/1988	26/07/2000	25/07/2000	-	26/04/2010
8	01.20432-69	MBR	02/03/1974	03/02/2000	04/02/2000	-	26/04/2010
9	01-33729-74	IWRO	07/12/1990	19/03/2007	11/08/2003	16	26/04/2010
10	01-33728-93	GASO	20/11/1991	19/03/2007	16/06/2003	03	23/08/2010
11	01-35126-99	GDM	02/04/1995	23/04/2007	05/05/2003	74	26/04/2010
12	01-34765-73	PGSM	02/10/1998	12/03/2007	12/03/2007	07	23/08/2010
13	01-35125-28	ALS	23/07/1994	21/05/2007	08/04/2003	-	26/04/2010
14	01-26981-6	LFGS	15/01/1997	17/12/2007	25/08/2003	24	23/08/2010

Notas:**RG:** registro do paciente no Hospital de Reabilitação de Anomalias Craniofaciais**Iniciais:** letras iniciais dos nomes dos pacientes**DN:** data de nascimento dos pacientes**RM:** data de realização da ressonância magnética**Cirurgia:** idade em meses da realização da cirurgia**QI:** Testes de inteligência aplicados. **WAIS:** *Wechsler adult intelligence scale*. Wechsler D. *WAIS-R manual*: Wechsler adult intelligence scale-revised. New York: Psychological Corporation, 1981. **WISC III:** *Wechsler intelligence scale for children*. Wechsler D. *Test de inteligencia para niños WISC-III: manual*. Buenos Aires: Paidós, 1994**DNA:** data avaliação da mutação * sem informação sobre dia e mês da coleta