

Aspectos moleculares das craniossinostoses: implicações no diagnóstico e aconselhamento genético

Molecular aspects of craniosynostoses: implications in diagnosis and genetic counseling

Maria Rita Passos-Bueno* Fernanda Sarquis Jehee
Lúcia Maria Libório Armelin****

RESUMO: Craniossinostose caracteriza-se pelo fechamento prematuro de uma ou mais suturas cranianas. As craniossinostoses formam um grupo bastante heterogêneo, com uma incidência de 1 para 2000-3000 nascimentos. Tanto fatores ambientais como genéticos podem estar relacionados com o surgimento das craniossinostoses. Na última década, verificou-se que mutações em 4 genes (FGFR1, FGFR2, FGFR3, TWIST) podem causar formas sindrômicas de craniossinostose bem definidas clinicamente, a saber: Síndromes de Apert, Pfeiffer, Crouzon, Jackson-Weiss, Beare-Stevenson e Saethre-Chotzen. Ainda, duas novas síndromes foram clinicamente e molecularmente caracterizadas: a síndrome de Muenke e a de Boston. O quadro clínico associado com estas duas formas de craniossinostose é bastante variado, incluindo desde paciente com crânio em trevo até aqueles com apenas craniossinostose da sutura coronal (bilateral ou unilateral), os quais são classificados como portadores de craniossinostose não sindrômica. Uma precisa correlação fenótipo-genótipo têm sido difícil na grande maioria dos casos devido à sobreposição do quadro clínico e pela heterogeneidade genética do grupo, e portanto o teste molecular pode ser importante para o diagnóstico de um grande número de pacientes. O padrão de herança das craniossinostoses acima referidas é o autossômico dominante, o que significa que um indivíduo afetado possui 50% de chance de vir a ter um filho afetado com a mesma condição. Outros padrões de herança também têm sido relatados, sendo sempre importante uma avaliação genética e clínica de todos os membros da família do afetado. Exemplificamos com dois casos atendidos em nosso laboratório, a importância do uso de testes moleculares para a confirmação do diagnóstico e realização precisa do aconselhamento genético.

DESCRIPTORIOS: Craniossinostose/diagnóstico; Craniossinostose/genética; Diagnóstico Diferencial; Aconselhamento Genético; Fatores de Risco.

INTRODUÇÃO

Craniossinostose é um grupo heterogêneo de doenças que se caracteriza pelo

fechamento prematuro de uma ou mais suturas cranianas. A incidência de craniossinostose é de aproximadamente 1 em 2000-3000 nascimentos, constituindo portanto um problema relevante na prática médica¹⁻⁴. Os in-

Laboratório de Genética do Desenvolvimento Humano, Centro de Estudos do Genoma Humano. Departamento de Biologia, Instituto de Biociências, Universidade de São Paulo.

* Profa. Dra. Depto. de Biologia- IBUSP.

** Laboratório de Genética do Desenvolvimento Humano.

Endereço para correspondência: Dra. Maria Rita Passos-Bueno - Rua do Matão, 277 - CEP 05508-900 - São Paulo, SP - Tel: 11-38187563 - Fax: 11-38187419 - E-mail: passos@ib.usp.br

divíduos com craniossinostose apresentam um formato anormal da cabeça (cranioestenose) resultante de um crescimento alométrico da caixa craniana nos primeiros anos de vida. Em alguns casos de sinostoses envolvendo múltiplas suturas, pode ocorrer aumento de pressão intracraniana em decorrência de ausência de espaço para acomodação do cérebro em crescimento. Esta pressão aumentada pode causar deficiência no fluxo sanguíneo, danos cerebrais e visuais se não tratada adequadamente. Além disto, em decorrência da compressão cerebral estes pacientes podem apresentar atraso no desenvolvimento neuropsicomotor e alterações de comportamento⁵. Assim sendo, o diagnóstico precoce e preciso das craniossinostoses é de extrema importância pois determina a conduta a ser seguida e pode evitar sérias complicações secundárias. A intervenção cirúrgica recomendada em um grande número de casos, não tem caráter puramente estético e pode prevenir a ocorrência da maioria destes problemas se realizada em idade apropriada. No entanto, a cirurgia nem sempre soluciona todos os problemas e o co-

nhecimento da etiologia das craniossinostoses poderá contribuir para novas abordagens terapêuticas^{4,5}.

As craniossinostoses são geralmente classificadas de acordo com o formato que o crânio adquire, que é por sua vez decorrente do tipo da sutura envolvida, da época em que ocorreu a sinostose e da fusão total ou parcial dos ossos. Os principais tipos de craniossinostose estão descritos na figura 1 (<http://www.pedisurg.com/PtEduc/Craniosynostosis.htm>).

A sinostose das suturas cranianas pode ocorrer como uma característica isolada no indivíduo (formas não-sindrômicas) ou acompanhada de outras anormalidades, tais como dismorfismos faciais ou de membros, defeitos cardio-vasculares e/ou retardo mental. Este último grupo caracteriza as mais de 100 formas sindrômicas de craniossinostose já definidas clinicamente.

Tanto fatores ambientais como genéticos podem contribuir para o fechamento prematuro das suturas ósseas. Entre os fatores ambientais já identificados destacam-se os seguintes: o hipertireoidismo, a exposi-

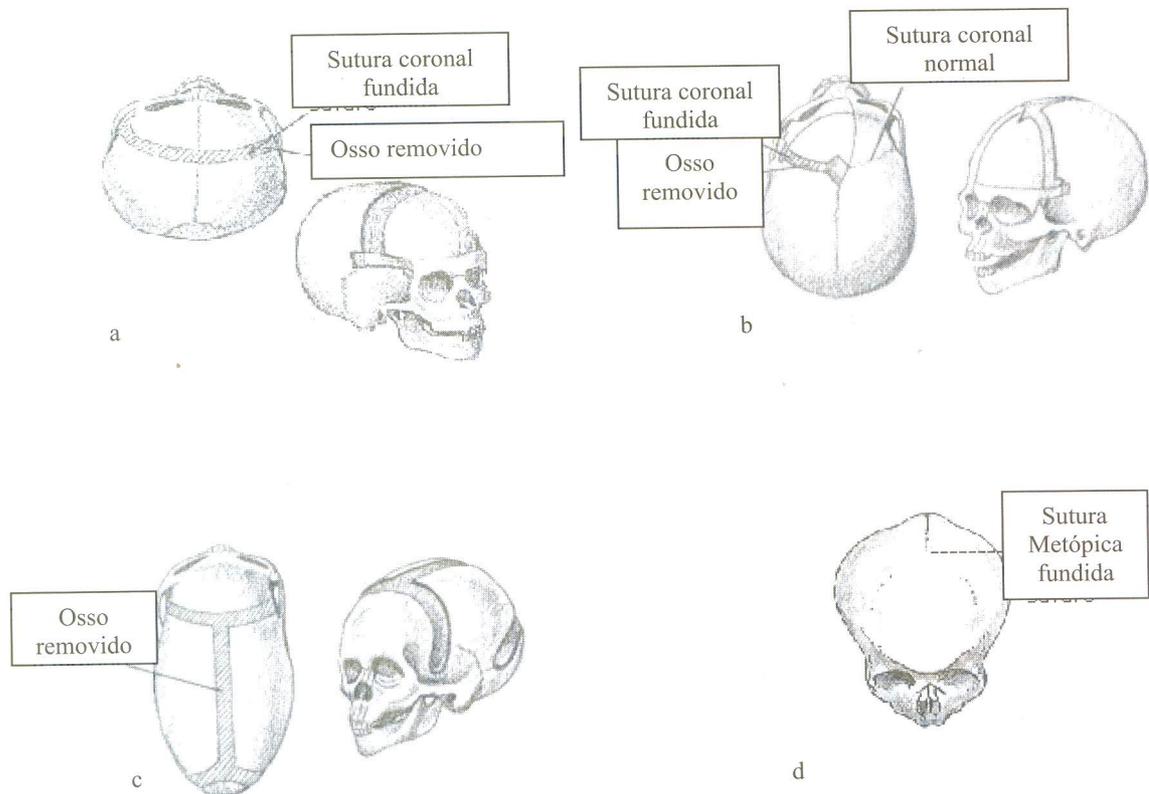


Figura 1 - Diferentes tipos de cranioestenoses. a. Braquicefalia devido à fusão das suturas coronais e lambdoidais. b. Plagiocefalia devido à fusão unilateral da coronal. c. Dolicocefalia (ou Escafocefalia) originada pelo fechamento da sutura sagital d. Trigonocefalia decorrente do fechamento prematuro da sutura metópica.

ção a teratógenos, como a hidantoína, o ácido retinóico e o ácido valpróico e a compressão intra-uterina^{6,7}. A elucidação dos mecanismos moleculares associados às craniossinostoses deu um grande salto nos últimos 10 anos. Até o momento já foram identificados 5 genes que quando alterados causam craniossinostoses: três deles pertencem à família gênica dos receptores de fatores de crescimento de fibroblasto e são denominados FGFR1, FGFR2 e FGFR3, enquanto os outros dois, o TWIST e o MSX2, são genes associados ao controle de regulação da transcrição, atuando diretamente no DNA. Abaixo, descrevemos as formas clínicas de craniossinostoses decorrentes de mutações nestes genes e as implicações dos testes moleculares no diagnóstico e aconselhamento genético deste grupo de doenças.

CRANIOSSINOSTOSES CAUSADAS POR MUTAÇÕES NOS FGFRS

Neste grupo, estão incluídas as três formas de craniossinostoses sindrômicas mais comuns: as Síndromes de Crouzon (OMIM#123500), Apert (OMIM#101200) e Pfeiffer (OMIM#101600) e duas outras formas relativamente raras: as Síndromes de Jackson-Weiss (OMIM#123150) e Beare-Stevenson (OMIM#123790). Ainda, um novo subtipo de craniossinostose foi identificado através dos estudos moleculares: a Síndrome de Muenke (OMIM#602849).

Exceto esta última, todas as outras são condições clínicas muito bem caracterizadas e uma descrição detalhada de cada uma delas pode ser encontrada em vários livros textos⁵ ou endereços eletrônicos (<http://www.med.nyu.edu/PlasticSurg/Divs/cranio.htm>, <http://www.erlanger.org/cranio/images/craniosyn.pdf>, <http://www.geneclinics.org/profiles/craniosynostosis/details.html>). Todas estas síndromes têm padrão de herança autossômico dominante.

Na síndrome de Muenke, pode ocorrer craniossinostose coronal bilateral ou apenas unilateral, enquanto nas outras cinco síndromes acima referidas é invariável a presença de craniossinostose coronal bilateral ou craniossinostose múltipla (crânio em trevo) associadas a alterações faciais. O diagnóstico diferencial entre elas é realizado analisando-se o comprometimento de membros e as alterações cutâneas (Tabela 1). O diagnóstico clínico é possível na grande maioria dos casos, em particular para as Síndromes de Apert, Pfeiffer, Crouzon e Beare-Stevenson. Por outro lado, os quadros clínicos das Síndromes de Jackson-Weiss e Muenke não são tão claros pois apresentam grande variabilidade de expressão fenotípica. Na Síndrome de Muenke por exemplo, uma porcentagem significativa dos pacientes é acometida apenas por craniossinostose coronal (bilateral ou unilateral) sem nenhum outro comprometimento facial ou de membros enquanto outros pacientes apresentam formas similares a Crouzon ou Pfeiffer. Atualmente tem-se sugerido que a Síndrome de Jackson-Weiss seja uma forma variante de Crouzon ou de Pfeiffer por causa da ocorrência de duas formas

SÍNDROMES						
Características	Apert	Pfeiffer	Crouzon	Muenke	Jackson-Weiss	Beare-Stevenson
Primeiro dígito	Às vezes fundido a outros dedos	Largo e torto	Normal	Normal	Normal	Normal
Mãos	Sindactilia óssea	Braquidactilia e sindactilia cutânea variáveis	Normal	Fusão carpal freqüente	Variável	Normal
Primeiro artelho	Às vezes fundido a outros artelhos	Largo e torto	Normal	Largo	Largo e torto	Normal
Pés	Sindactilia óssea	Braquidactilia e sindactilia cutânea variáveis	Normal	Fusão tarsal freqüente	Tarsos anormais	Normal

Tabela 1 - Diagnóstico diferencial entre 6 síndromes relacionadas aos genes da família dos FGFRs.

clínicas (por exemplo, Jackson-Weiss e Crouzon) em uma mesma família⁹.

Os genes FGFRs associados a cada uma destas síndromes estão listados na Tabela 2. Podemos verificar que algumas destas síndromes, como a Síndrome de Apert, são causadas por mutações em apenas um gene. Já em outros casos, mutações em vários genes podem causar um mesmo quadro clínico, como ocorre por exemplo na Síndrome de Pfeiffer. É interessante notar que o quadro clínico resultante de mutações em genes diferentes é indistinguível^{9,10}.

Estudos de correlação entre o fenótipo e genótipo em pacientes com estas síndromes mostram que:

- Aproximadamente 100% dos pacientes com Síndrome de Apert apresentam mutações em FGFR2;
- 100% dos pacientes com Síndrome de Crouzon associada a acanthosis nigricans e 100% dos pacientes com Síndrome de Muenke apresentam mutações no gene FGFR3;
- Todos os casos estudados até o momento com Síndrome de Beare-Stevenson apresentam uma mutação específica no gene FGFR2;
- Cerca de 50% -80% dos casos de Crouzon apresentam mutações em FGFR2;
- A grande maioria dos casos de Pfeiffer apresenta uma mutação específica em FGFR1 ou mutações em FGFR2.

Estes resultados mostram que a realização do teste molecular em pacientes com uma destas formas sindrômicas de craniossinostose permite a confirmação dos achados clínicos na grande maioria dos casos. Contudo, estes testes moleculares só devem ser indicados quando houver dúvida em relação

ao diagnóstico ou tiver importância para um adequado aconselhamento genético da família.

Também é importante notar que 5-10% dos pacientes com craniossinostose isolada apresentam mutação em FGFR3. Tendo em vista que esta é a única causa genética conhecida para craniossinostose isolada, recomenda-se a realização do teste molecular em todos os casos de craniossinostose da coronal (unilateral ou bilateral) isolada para confirmação do diagnóstico.

CRANIOSSINOSTOSES CAUSADAS POR MUTAÇÕES EM GENES QUE REGULAM A TRANSCRIÇÃO GÊNICA

No presente grupo incluem-se duas formas de craniossinostose: a Síndrome de Saethre-Chotzen (OMIM#101400) e a craniossinostose tipo Boston (OMIM#604757), ambas com padrão de herança autossômico dominante. A craniossinostose tipo Boston, causada por uma mutação (tipo substituição de aminoácido) em um gene homeobox, o MSX2, parece ser uma condição muito rara, havendo apenas uma família com 19 afetados descrita na literatura. A variabilidade do quadro clínico é muito grande, desde casos com crânio em trevo até outros assintomáticos. Recentemente, demonstrou-se que mutações neste gene podem originar uma outra condição genética, a forâmina parietal¹¹. Já a síndrome de Saethre-Chotzen, é uma condição genética mais frequente e bem caracterizada clinicamente. A craniossinostose da

Síndromes	GENES				
	FGFR1	FGFR2	FGFR3	TWIST	MSX2
Apert		X			
Pfeiffer	X	X			
Crouzon		X			
Crouzon com acantosis nigricans			X		
Muenke			X		
Jackson-Weiss		X			
Beare-Stevenson		X			
Saethre-Chotzen		X	X	X	
Boston					X

Figura 2 - Relação de genes que quando apresentam mutações podem causar síndromes associadas à craniossinostose.

sutura coronal, tanto bilateral como unilateral, está presente na maioria dos casos. O quadro clínico é bastante variável, havendo grande sobreposição com as Síndromes de Crouzon, Pfeiffer e Muenke. Geralmente os pacientes com Saethre-Chotzen distinguem-se destas 3 últimas pela presença de ptose palpebral e estrabismo⁵.

A grande maioria dos casos de Saethre-Chotzen é causada por mutações no gene TWIST. Contudo, tem-se notado que alguns pacientes com diagnóstico clínico compatível com esta síndrome apresentam mutações no gene FGFR2 ou FGFR3 (tabela 2). Novamente, o quadro clínico resultante de mutações em um destes 3 genes é indistinguível.

Os estudos moleculares neste grupo de craniossinostoses mostram portanto que clinicamente é muito difícil predizer qual é o mecanismo molecular envolvido na maioria destas síndromes, e nos casos em que há heterogeneidade genética, ou seja, mais de um gene causando o mesmo quadro clínico, o teste molecular passa a ser uma ferramenta importante para estabelecer-se um diagnóstico correto.

ACONSELHAMENTO GENÉTICO

A obtenção de um diagnóstico preciso e a determinação do padrão de herança da craniossinostose são de fundamental importância para a realização do aconselhamento genético.

Todas as 7 síndromes acima discutidas apresentam padrão de herança autossômico dominante, que vem sendo descrito como o tipo de herança mais frequentemente relacionado a este grupo de doenças. Em casos de herança autossômica dominante, quando o propósito é o único afetado na família, o risco de recorrência para o casal é considerado mínimo, equivalente ao da população geral. Nestes casos supõe-se que a doença tenha surgido pela ocorrência de uma mutação nova no afetado. Deve-se notar no entanto que este indivíduo afetado têm uma chance de 50% de vir a ter um filho também afetado. A grande maioria dos casos de Síndrome de Apert e todos de Beare-Stevenson descritos na literatura são casos isolados, re-

sultantes de mutação nova; assim sendo, os pais de afetados por estas síndromes tem um risco de recorrência desprezível. Por outro lado, casos familiares de Síndrome de Crouzon, Pfeiffer, Muenke e Saethre-Chotzen têm sido descritos, o que torna então importante a avaliação, sempre que possível, dos pais e irmãos do propósito afetado para uma estimativa correta da recorrência da craniossinostose em questão. É importante ressaltar que a variabilidade do quadro clínico de pacientes com Síndrome de Muenke e Saethre-Chotzen é extremamente grande, não sendo raro a identificação de indivíduos portadores do gene alterado que não manifestam clinicamente a doença. Nestes casos em particular, os testes moleculares são altamente relevantes pois além de confirmarem o diagnóstico clínico permitem identificar indivíduos assintomáticos portadores do gene mutado que têm alto risco de transmitir o problema para os seus descendentes.

Apesar de a grande maioria das formas sindrômicas de craniossinostose ter um padrão de herança autossômico dominante formas recessivas já foram descritas. Quando a herança é autossômica recessiva os descendentes do casal (cl clinicamente normal) têm um risco de 25% de virem a ser afetados. Assim sendo, uma análise cuidadosa de todos os membros da família é sempre importante para assegurar uma estimativa de risco precisa para todos.

Na grande maioria, 90-95%, dos casos de craniossinostose isolada em que não se encontra mutação em nenhum dos genes acima mencionados, é muito difícil de se realizar o aconselhamento genético. Nestes casos, o desconhecimento da etiologia da craniossinostose, a qual pode então ser de origem ambiental ou genética, impossibilita a estimativa de riscos de recorrência de novos casos na família tanto para os pais do paciente como para o próprio afetado.

Descreveremos abaixo dois casos nos quais realizamos testes moleculares que se mostraram de grande importância para a família em questão (os nomes aqui apresentados são fictícios).

Caso 1: Pedro, de 27 anos de idade, é formado em engenharia, trabalha e é casado com Antonieta, de 25 anos de idade. Pedro é portador da síndrome de Crouzon e sofreu duas cirurgias, uma na infância e outra na adolescência. Não há outros casos na família. Pedro procurou o nosso serviço, pois

desejava saber se existiria alguma maneira de evitar o nascimento de uma criança como ele. Oferecemos a realização de um teste molecular e informamos que, caso identificássemos uma mutação em um dos genes candidatos para esta síndrome, a realização de um diagnóstico intra-útero de um futuro feto ou a realização de diagnóstico pré-implantacional, quando esta tecnologia se tornar disponível, seria possível. Ele optou em fazer o teste. A análise do seu DNA revelou uma mutação no gene FGFR2. As decisões tomadas pelo casal não são relevantes.

Caso 2: José, de 4 anos de idade, tem um quadro clínico compatível com uma forma grave da síndrome de Saethre-Chotzen. Aparentemente José é o único caso na família. O paciente foi encaminhado para o nosso laboratório para confirmarmos o diagnóstico através do teste molecular e realizar o aconselhamento genético na família. A análise do DNA de José revelou que ele tem uma deleção no gene TWIST. Informamos aos pais do propósito este resultado, porém também informamos que para a realização de um aconselhamento genético preciso seria importante testá-los para excluir a possibilidade de um deles ser portador desta deleção. Os pais concordaram em realizar o exame e surpreendentemente encontramos a deleção no pai de José. Estes resultados modificaram

completamente o risco de recorrência, que inicialmente poderia ter sido considerado como desprezível, pois o único afetado da família era José. Agora que sabemos que o pai de José, apesar de assintomático, tem o gene alterado, o risco de seus futuros filhos virem a ter esta síndrome é de 50%.

Estes dois casos exemplificam a aplicação e a importância da realização de testes moleculares neste grupo de doenças. A realização destes testes deve ser direcionada e cuidadosa, pois as implicações para a família dos propósitos afetados são grandes.

Considerando-se que há pelo menos 100 formas de craniossinostoses sindrômicas e que conhecemos apenas 5 genes associados a 7 destas formas, podemos dizer que nosso conhecimento acerca dos mecanismos moleculares associados a este grupo de doenças é escasso. Acreditamos, contudo, que diante dos avanços tecnológicos e do seqüenciamento do genoma humano, nos próximos 10 anos estes mecanismos sejam esclarecidos. Não resta dúvida de que a identificação de novos genes e seus mecanismos de ação contribuirão para o aperfeiçoamento do diagnóstico clínico e do aconselhamento genético, bem como, para o surgimento de novas perspectivas de tratamentos, que poderão ser utilizados conjuntamente às intervenções cirúrgicas.

Pasos-Bueno, M.R.; Jehee, F.S.; Armelin, L.M.L.: Aspectos moleculares das craniossinostoses: Implicações no diagnóstico e aconselhamento genético. *Rev Med, São Paulo, 80(1):7-13, jan./fev./mar., 2001.*

ABSTRACT: Craniosynostosis is characterized by the premature closure of one or more cranial sutures. It is a highly heterogeneous group, with an incidence of 1 per 2000-3000 births. Both environmental and genetic factors play a role in its etiology. In the last decade, it has been shown that mutations in 4 genes (FGFR1, FGFR2, FGFR3, TWIST) may cause very well known craniosynostotic syndromes: Apert, Pfeiffer, Crouzon, Jackson-Weiss, Beare-Stevenson and Saethre-Chotzen. Two new conditions associated with the molecular defect have also been elucidated: Muenke's syndrome and Boston type of craniosynostosis. The variability of the phenotype of these two conditions is particularly wide, including patients with only craniosynostosis, classified as non syndromic cases, or those with cloverleaf skull. A precise phenotype and genotype correlation has not always been possible because of the great clinical overlap and genetic heterogeneity in this group of disorders. All the above syndromes present an autosomal dominant pattern of inheritance, and therefore a patient has a 50% chance of having an affected child. Other patterns of inheritance for craniosynostosis have also been described and therefore it is important to perform a careful examination of each case and family. We present two cases seen at our laboratory, one with Crouzon and other with Saethre-Chotzen syndrome, to illustrate the importance of the molecular testing for an accurate diagnosis and genetic counseling.

KEYWORDS: Craniosynostoses/diagnosis; Craniosynostoses/genetics; Diagnosis, Differential; Genetic Counseling; Risk Factors

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Shuper A, Merlob P, Grunebaum M, Reisner S. (1985) The incidence of isolated craniosynostosis in the newborn infant. Am. J. Dis. Child. 139: 85-86.
2. Lajeunie E, Le Merrer Mm Bonaïti-Pellie C, Marchac D, Renier D. (1995) Genetic study of nonsyndromic coronal craniosynostosis. Am. J. Med. Genet. 55: 500-504.
3. Lajeunie E, Le Merrer Mm Bonaïti-Pellie C, Marchac D, Renier D. (1996) Genetic study of scaphocephaly. Am. J. Med. Genet. 62: 282-285.
4. Wilkie AOM. (2000) Epidemiology and Genetics of Craniosynostosis. Am. J. Med. Genet. 90: 82-83.
5. Gorlin RJ, Coehn MM Jr, Levin LS. 1990. Syndrome of the Head and Neck, Oxford University Press.
6. Cohen MM (1993) Sutural Biology and the Correlates of Craniosynostosis. Am. J. Med. Genet. 47: 581-616.
7. Lajeunie E, Le Merrer M, Marchac D, Renier D. (1998) Syndromal and nonsyndromal primary trigonocephaly: analysis of a series of 237 patients. Am. J. Med. Genet. 2: 211-215.
8. OMIM - Online Mendelian Inheritance in Man - <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/omim/>
9. Wilkie AOM. (1997) Craniosynostosis: genes and mechanisms. Hum. Mol. Genet. 10:1647-1656.
10. Passos-Bueno MR, Wilcox WR, Jabs EW, Sertié AL, Alonso LG, Kitoh H (1999) Clinical spectrum of fibroblast growth factor receptor mutations. Hum Mutat 14: 115-125.
11. Cohen MM Jr. 2000. Craniofacial disorders caused by mutations in homeobox genes MSX1 and MSX2. J Craniofac Genet Dev Biol 20:19-25.
12. OMIM - Online Mendelian Inheritance in Man - <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/omim/>

Recebido para publicação em 02.2001
Aceito para publicação em 03.2001

LIVRARIA CIENTÍFICA ERNESTO REICHMANN

Desde 1936

Medicina • Odontologia • Farmácia • Ciências Afins
Livros Importados e Nacionais (também aceitamos encomendas)

Agora mais perto de você

MATRIZ

Rua Dom José de Barros, 168 – 6º andar
(Metrô República)
Tel.: 255-1342 – 255-4325 – 214-3167
Tel/Fax: 255-7501
CEP 01038-100

FILIAL VILA MARIANA

Rua Napoleão de Barros, 639
(esquina com Rua Borges Lagoa)
Tel/Fax: 575-3194
CEP 04024-000

VENHA NOS VISITAR