

Universidade de Brasília

Faculdade de Medicina

Programa de Pós-Graduação em Ciências médicas



BÁRBARA MERFORT FERREIRA

SEQUENCIAMENTO COMPLETO DE EXOMA NA INVESTIGAÇÃO DE
SÍNDROMES CRANIOFACIAIS

BRASÍLIA

2025

UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA
FACULDADE DE MEDICINA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS MÉDICAS

BÁRBARA MERFORT FERREIRA

SEQUENCIAMENTO COMPLETO DE EXOMA NA INVESTIGAÇÃO DE
SÍNDROMES CRANIOFACIAIS

Tese apresentada como requisito parcial para a obtenção do Título de
Doutora pelo Programa de Pós-graduação em Ciências Médicas da
Universidade de Brasília

Área de concentração: Ciências Aplicadas em Saúde

Linha de pesquisa: Genética

Orientadora: Juliana Forte Mazzeu de Araújo

BRASÍLIA

2025

Dedico este trabalho às excelentíssimas mestras
Profa. Dr^a Íris Ferrari e Profa. Dr^a Leonora Gandolfi,
que, com generosa paciência e entusiasmo,
me ensinaram trabalhar com amor,
dedicação e disciplina.

AGRADECIMENTOS

Início estes agradecimentos com um sentimento de gratidão ao tempo, que me fez amadurecer e compreender a jornada até aqui de uma forma mais profunda. Agradeço aos meus mestres, desde os meus primeiros dias na escola até os atuais, que com imensa atenção e paciência têm me guiado incansavelmente pelo caminho do conhecimento e curiosidade pela ciência, pela saúde e pela vida. Em especial, agradeço imensamente à minha orientadora, Professora Dr^a. Juliana Forte Mazzeu de Araújo. Sua dedicação, confiança e os valiosos ensinamentos passados durante anos de trabalho, desde que eu era apenas uma estagiária do laboratório de genética clínica da UnB. Terminei este ciclo com a certeza de que és uma educadora de excelência, uma geneticista brilhante, uma cientista e mulher de humanidade ímpar.

Esta jornada, contudo, só foi possível graças ao apoio inabalável do meu porto seguro. À minha família, que me ofereceu o alicerce de confiança e o incentivo para voar; o amor, a paciência e a crença que depositaram em mim foram o combustível para os momentos de maior desafio. Ao meu companheiro de vida, meu amor, agradeço pela cumplicidade e por tornar a caminhada mais leve e significativa. Este sonho também é de vocês.

Finalmente, sou grata às instituições que tornaram esta pesquisa possível: à Universidade de Brasília, pela formação de excelência e ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Médicas e seus estimados funcionários, e à CAPES, pela bolsa concedida que permitiu minha dedicação exclusiva.

A todos que somaram de alguma forma nesta caminhada — amigos, familiares, colegas e professores —, deixo aqui meu reconhecimento e meu mais profundo muito obrigada.

RESUMO

As síndromes que cursam com malformações craniofaciais constituem um grupo clinicamente heterogêneo, frequentemente associado a variantes genéticas que afetam vias críticas do desenvolvimento. Neste estudo, foram analisados 21 casos brasileiros com fenótipos complexos e etiologia molecular indefinida. A aplicação do sequenciamento de exoma completo (WES), aliada à análise bioinformática integrada, permitiu a identificação de variantes patogênicas em 62% dos casos (13/21), este número supera a média de diagnóstico para doenças raras, estimada entre 30% e 40%. Foram identificadas variantes em 13 genes relacionados a diferentes síndromes, incluindo: *PTEN*, *ATRX*, *SOX2*, *DVL2*, *SMAD4*, *FLNA*, *SHH*, *LMNA*, *NSDHL*, *EYAI*, *MIDI*, *TCOF1* e *ACTB*. A heterogeneidade genética observada reflete a participação de múltiplas vias moleculares, como a biogênese ribossomal (*TCOF1*), a sinalização PI3K/AKT (*PTEN*), remodelamento de cromatina (*ATRX*), via Hedgehog (*SHH*), via WNT (*DVL2*) e sinalização TGF- β (*SMAD4*), culminando em fenótipos amplamente sobrepostos. Casos como o de dupla heterozigose em *PTEN* e *EYAI* sugerem possível influência conjunta nas características clínicas, enquanto a variabilidade na expressividade fenotípica — como observado em *LMNA*, com quadro progeróide grave - evidencia a atuação de modificadores genômicos e epigenéticos. Os resultados reforçam o valor do WES como ferramenta diagnóstica e destacam a importância da integração entre genética, embriologia e bioinformática, além da construção de bancos de dados clínico-genômicos globais, para o avanço da medicina de precisão e a compreensão dos mecanismos moleculares subjacentes a síndromes craniofaciais complexas.

Palavras-chave: Sequenciamento completo de exoma; malformações craniofaciais; heterogeneidade genética; genética clínica.

ABSTRACT

Syndromes presenting with craniofacial malformations constitute a clinically heterogeneous group, frequently associated with genetic variants affecting critical developmental pathways. In this study, 21 Brazilian cases with complex phenotypes and undefined molecular etiology were analyzed. The application of Whole Exome Sequencing (WES), coupled with integrated bioinformatic analysis, allowed for the identification of pathogenic variants in 62% of the cases (13/21); this figure exceeds the average diagnostic rate for rare diseases, estimated between 30% and 40%. Variants were identified in 13 genes related to different syndromes, including: *PTEN*, *ATRX*, *SOX2*, *DVL2*, *SMAD4*, *FLNA*, *SHH*, *LMNA*, *NSDHL*, *EYAI*, *MIDI1*, *TCOF1*, and *ACTB*. The observed genetic heterogeneity reflects the involvement of multiple molecular pathways, such as ribosome biogenesis (*TCOF1*), PI3K/AKT signaling (*PTEN*), chromatin remodeling (*ATRX*), the Hedgehog pathway (*SHH*), the WNT pathway (*DVL2*), and TGF- β signaling (*SMAD4*), culminating in widely overlapping phenotypes. Cases such as the double heterozygosity in *PTEN* and *EYAI* suggest a possible joint influence on clinical characteristics, while the variability in phenotypic expressivity — as observed in *LMNA*, with a severe progeroid presentation — highlights the role of genomic and epigenetic modifiers. The results reinforce the value of WES as a diagnostic tool and underscore the importance of integrating genetics, embryology, and bioinformatics, in addition to building global clinical-genomic databases, for the advancement of precision medicine and the understanding of the molecular mechanisms underlying complex craniofacial syndromes.

Key-words: WES; craniofacial malformations; genetic heterogeneity; clinical genetics.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1	Derivados dos arcos faríngeos humanos19
Figura 2	Desenvolvimento da cabeça e face e genes craniofaciais identificados.21
Figura 3	Variante no gene <i>TCOF1</i>43
Figura 4	Variante no gene <i>PTEN</i>46
Figura 5	Variante no gene <i>EYAI</i>47
Figura 6	Variante no gene <i>ATRX</i>51
Figura 7	Variante no gene <i>SOX2</i>55
Figura 8	Variante no gene <i>SMAD4</i>60
Figura 9	Variante no gene <i>SHH</i>64
Figura 10	Variante no gene <i>SHH</i>65
Figura 11	Variante no gene <i>LMNA</i>72
Figura 12	Variante no gene <i>DVL2</i>78
Figura 13	Variante no gene <i>MIDI</i>82
Figura 14	Variante no gene <i>ACTB</i>88
Figura 15	Variante no gene <i>FLNA</i>91

LISTA DE TABELAS

Tabela 1	Resumo dos resultados39
-----------------	-----------------------	---------

LISTA DE SIGLAS

ACMG - American College of Medical Genetics and Genomics

ADRS - Síndrome de Robinow Autossômica Dominante

ALX3 – Gene homeobox ALX3

ATR-X - Síndrome Alfa-Talassemia-Deficiência Intelectual Ligada ao X

BMP - Proteína Morfogenética Óssea

BOR - Síndrome Brânquio-Oto-Renal

BRRS - Síndrome de Bannayan-Riley-Ruvalcaba

BWCFF - Síndrome de Baraitser-Winter

CCN – Células da Crista Neural

NCC – Células da Crista Neural Craniana

CHARGE - Síndrome CHARGE

CNV – Variação do Número de Cópias

CS - Síndrome de Cowden

DALYs – Anos de Vida Ajustados por Incapacidade

DHODH – Gene da diidroorotato desidrogenase

Dlx – Família de genes homeobox DLX

DNA – Ácido Desoxirribonucleico

DYNC1H1 – Gene da cadeia pesada 1 da dineína citoplasmática

EDTA – Ácido Etilenodiamino Tetraacético

EFNB1 – Gene da efrina-B1

EGF – Fator de Crescimento Epidérmico

EHMT1 – Gene histona-lisina N-metiltransferase 1

ERF – Gene do fator de transcrição ETS2

ETV5 – Gene do fator de transcrição ETS

EYA1 – Gene eyes absent homolog 1

FASTQ – Formato de arquivo para sequências de DNA

FGF – Fator de Crescimento de Fibroblastos

FGFR – Receptor do Fator de Crescimento de Fibroblastos

FL/P – Fenda Labial e/ou Palatina

FP – Fenda Palatina

GATK – Genome Analysis Toolkit

GRCh38 – Genoma de Referência Humano versão 38

H3Africa – Human Heredity and Health in Africa

HGPS - Síndrome de Hutchinson-Gilford

Hox – Família de genes homeobox

HPE – Holoprosencefalia

IRF6 – Gene do fator regulador de interferon 6

KANSL1 – Gene KAT8 regulatory NSL complex subunit 1

LCR - Líquido Cefalorraquidiano

LDD - Doença de Lhermitte-Duclos

LOH – Perda de Heterozigosidade

MAD - Displasia Mandibuloacral

MIM – Mendelian Inheritance in Man

MN1 – Gene meningioma 1

MSX1 – Gene homeobox MSX1

MTHFR – Gene da metilenotetra-hidrofolato redutase

NGS - Sequenciamento de Nova Geração

NC - Neural Chest Cell

NCC - Cranial Neural Chest Cell

NIH – National Institutes of Health

OAVS – Espectro Oculoauriculovertebral

PBMRs – Países de Baixa e Média Renda

PCR – Reação em Cadeia da Polimerase

PDGFC – Gene do fator de crescimento derivado de plaquetas C

PHTS - Síndrome do Tumor Hamartoma PTEN

POGZ – Gene pogo transposable element derived with ZNF domain

RNA – Ácido Ribonucleico

SCN1A – Gene do canal de sódio neuronal tipo 1 alfa

SDS – Dodecil Sulfato de Sódio

SHH – Sonic Hedgehog

SIX1 – Gene homeobox SIX1

SNC - Sistema Nervoso Central

SNP - Sistema Nervoso Periférico

SNV – Variante de Nucleotídeo Único

SOX9 – Gene SRY-box 9

SQSD - Deficiência de Esqualeno Sintase

SR - Síndrome de Robinow

STC - Síndrome de Treacher Collins

TBX22 – Gene T-box 22

TCF12 – Gene do fator de transcrição 12

TGF – Fator de Crescimento Transformador

TGF- β - Fator de Crescimento Transformador Beta

Tris – Tris(hidroximetil)aminometano

TWIST1 – Gene do fator de transcrição TWIST1

VEGF - Fator de Crescimento Endotelial Vascular

VUS - Variante de Significado Incerto

WES - Sequenciamento do Exoma Completo

WES – Sequenciamento Completo de Exoma

WGS - Sequenciamento Completo do Genoma

WHO – Organização Mundial da Saúde

WNT – Via de sinalização WNT

XLID - Deficiência Intelectual Ligada ao X

ZIC2 – Gene Zic family member 2

ÍNDICE

1. INTRODUÇÃO	14
1.1 CAPÍTULO 1 - A IMPORTÂNCIA DO COMPLEXO CRANIOFACIAL: FUNÇÃO, FORMA E DOENÇA	14
1.2 CAPÍTULO 2 - O DESENVOLVIMENTO CRANIOFACIAL	17
1.2.1 Eventos Iniciais: O Tubo Neural e a Origem Celular	17
1.2.2 A Quarta Semana e a Formação dos Arcos Faríngeos	18
1.2.3 Migração, Interação Tecidual e Sinalização Molecular	19
1.2.4 Diferenciação Estrutural: Neurocrânio e Viscerocrânio	20
1.2.5 Maturação Funcional e Remodelação	20
1.2.6 Implicações Clínicas e Genéticas	21
1.3 CAPÍTULO 3 - AS SÍNDROMES DE MALFORMAÇÃO CRANIOFACIAL	22
1.4 CAPÍTULO 4 - SEQUENCIAMENTO COMPLETO DE EXOMA (WES)30	
2. OBJETIVO	34
2.1 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	35
2.2 JUSTIFICATIVA	35
3. MATERIAL E MÉTODOS	35
3.1 PARTICIPANTES DO ESTUDO	36
3.2 CARACTERIZAÇÃO FENOTÍPICA	36
3.3 EXTRAÇÃO DE DNA	36
3.4 SEQUENCIAMENTO COMPLETO DE EXOMA (WES)	37
4. RESULTADOS E DISCUSSÕES INDIVIDUAIS	38
4.1 CASO 01 - VARIANTE PATOGÊNICA NO GENE <i>TCOF1</i>	42
4.1.1 Descrição clínica	42
4.1.2 Resultado da análise de WES	42
4.1.3 Discussão	43

4.1.4 Conclusão	44
4.2 CASO 02 - VARIANTES PATOGÊNICAS NOS GENES <i>PTEN</i> E <i>EYA145</i>	
4.2.1 Descrição clínica	45
4.2.2 Resultado da análise de WES	45
4.2.3 Discussão	47
4.2.4 Conclusão	50
4.3 CASO 03 - VARIANTE PATOGÊNICA NO GENE <i>ATRX</i>	50
4.3.1 Descrição Clínica	50
4.3.2 Resultado da análise de WES	51
4.3.3 Discussão	51
4.3.4 Conclusão	53
4.4 CASO 04 - VARIANTE PATOGÊNICA NO GENE <i>SOX2</i>	54
4.4.1 Descrição clínica	54
4.4.2 Resultado da análise de WES	54
4.4.3 Discussão	55
4.3.1 Conclusão	58
4.10.4 Conclusão	58
4.5 CASO 05 - VARIANTE PATOGÊNICA NO GENE <i>SMAD4</i>	59
4.5.1 Descrição Clínica	59
4.5.2 Resultado da análise de WES	60
4.5.3 Discussão	60
4.5.4 Conclusão	62
4.6 CASO 06 e 07 - VARIANTES PATOGÊNICAS NO GENE <i>SHH</i>	63
4.6.1 Descrição clínica do caso 06	63
4.6.2 Resultado da análise de WES do caso 06	63
4.6.3 Descrição clínica caso 07	64

4.6.4	Resultado da análise de WES do caso 07	64
4.6.5	Discussão dos casos 6 e 7	65
4.6.6	Conclusão	69
4.7	CASO 08 - VARIANTE PATOGÊNICA NO GENE <i>LMNA</i>	70
4.7.1	Descrição Clínica	70
4.7.2	Resultado da análise de WES	71
4.7.3	Discussão	72
4.7.4	Conclusão	76
4.8	CASO 09 - VARIANTE PATOGÊNICA NO GENE <i>DVL2</i>	77
4.8.1	Descrição Clínica	77
4.8.2	Resultado da análise de WES	77
4.8.3	Discussão	78
4.8.4	Conclusão	80
4.9	CASO 10 - VARIANTE PATOGÊNICA NO GENE <i>MIDI1</i>	81
4.9.1	Descrição Clínica	81
4.9.2	Resultado da análise de WES	81
4.9.3	Discussão	82
4.9.4	Conclusão	86
4.10	CASO 11 - VARIANTE PATOGÊNICA NO GENE <i>ACTB</i>	86
4.10.1	Descrição Clínica	86
4.10.2	Resultado da análise WES	87
4.10.3	Discussão	88
4.11	CASO 12 - VARIANTE PATOGÊNICA NO GENE <i>FLNA</i>	90
4.11.1	Descrição clínica	90
4.11.2	Resultado da análise de WES	90
4.11.3	Discussão	91

4.11.4 Conclusão	93
4.12 CASO 13 - VARIANTE PATOGÊNICA NO GENE <i>MSDHL</i>	94
4.12.1 Descrição clínica	94
4.12.2 Resultado da análise de WES	94
4.12.3 Discussão	95
4.12.4 Conclusão	97
5. CONCLUSÃO	98
6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	98
TRABALHOS PUBLICADOS	142

1. INTRODUÇÃO

1.1 CAPÍTULO 1 - A IMPORTÂNCIA DO COMPLEXO CRANIOFACIAL: FUNÇÃO, FORMA E DOENÇA

Olhar para um rosto é sempre esclarecedor. Talvez, porque nossas faces revelam muito sobre nossas emoções, história evolutiva, desenvolvimento embriológico, herança genética, propensão a doenças, estado de saúde e até mesmo exposições que sofreremos ao longo da vida. Nossas vidas se tornam mais ricas pela diversidade das expressões faciais. O rosto proporciona uma identidade, uma aparência e um meio de comunicar para maioria dos recém-nascidos, crianças e adultos. Além disso, é através do complexo craniofacial que realizamos importantes funções fisiológicas como a respiração, digestão, termorregulação e funções sensoriais essenciais como a audição e a visão.

Ao analisar a história evolutiva da face e do complexo craniofacial humano, descobre-se uma jornada de milhões de anos marcada por uma complexa interação entre fatores genéticos, ambientais e culturais. As características faciais humanas foram gradualmente moldadas por adaptações a distintos ecossistemas, transformações nos padrões alimentares, avanços tecnológicos no uso de ferramentas e dinâmicas sociais ao longo do tempo (Lacruz et al., 2013; Lieberman et al., 2003). Estudos comparativos com outros primatas demonstram que adaptações em redes genéticas ancestrais resultaram em traços únicos, como o achatamento facial e a expansão craniana, impulsionadas por pressões seletivas associadas à encefalização e à dieta (Prescott et al., 2019).

Quanto a estrutura, o complexo craniofacial humano é composto por diversas partes que contribuem para a sua formação e função. A estrutura óssea facial consiste na maxila, mandíbula, ossos nasais, ossos zigomáticos e outros ossos faciais que dão forma e suporte à face. Os componentes craniofaciais também abrangem tecidos moles, como músculos, ligamentos e pele, que fornecem mobilidade, expressão e proteção. O complexo craniofacial engloba também as estruturas esqueléticas do crânio, que recobre o cérebro e outras estruturas importantes do sistema nervoso central, ossos faciais e vasos sanguíneos (Pereira et. al 2022).

No que se refere ao crânio, observamos uma estrutura bastante complexa que, em humanos, compreende 22 ossos separados, bem como 20 dentes decíduos e 32

permanentes. Os dentes desempenham um papel crucial na mastigação, na fala e na manutenção do alinhamento adequado dos maxilares e das estruturas faciais. O crânio ósseo é formado por dois componentes – o neurocrânio e o viscerocrânio. O neurocrânio, que envolve e protege o cérebro e os órgãos dos sentidos - olfatório e óptico - inclui os órgãos frontal, parietal, occipital, ossos esfenóide e temporal. O viscerocrânio inclui os ossos da face - mandíbula, maxila, zigoma e nasal -, e osso palatino, faríngeo, temporal e ossos auditivos (Bastir et al., 2006).

Não é surpreendente notarmos que uma extensa rede de genes e elementos reguladores devam ter evoluído para o correto desenvolvimento e formação da região craniofacial. O que inclui uma infinidade de genes que controlam diversos aspectos chave da morfogênese craniofacial, como o crescimento e a fusão dos ossos, a formação de características faciais e o estabelecimento de populações de células da crista neural (CCN), críticas para esse desenvolvimento. Assim, até mínimos defeitos nesse processo, advindos de variantes genéticas ou fatores ambientais, podem resultar em malformações na formação dessas estruturas (Attanasio et al., 2013).

Neste sentido, as condições que afetam a região craniofacial podem gerar impactos significativos na qualidade de vida do indivíduo, acarretando não apenas limitações funcionais, mas também consequências psicossociais profundas. Entre os desafios emocionais, destacam-se a deterioração da autoestima, distorções na percepção da imagem corporal e dificuldades de interação social, fatores que podem levar ao isolamento e à vulnerabilidade psicológica. No âmbito funcional, comprometimentos na respiração, mastigação, deglutição, fonação e audição são frequentes, prejudicando atividades cotidianas essenciais (WHO, 2002).

Ademais, as malformações nessa região frequentemente exigem acompanhamento médico contínuo, envolvendo cirurgias complexas, terapias especializadas e reintervenções ao longo da vida, um processo fisicamente desgastante e financeiramente custoso. Contudo, a implementação de uma abordagem multidisciplinar, que integre diagnóstico precoce, cirurgias reparadoras, reabilitação fonoaudiológica, suporte psicológico estruturado e acesso a redes de apoio social, pode ser crucial para mitigar esses efeitos. Tal estratégia não apenas otimiza a funcionalidade física, mas também promove resiliência emocional e inclusão sociocultural, permitindo que os indivíduos alcancem maior autonomia e bem-estar integral (WHO, 2002).

A prevalência global de anomalias craniofaciais congênitas varia conforme o tipo e a região. A fenda lábio-palatina, por exemplo, ocorre em 1 a 2 casos por 1.000 nascidos vivos, sendo uma das malformações craniofaciais mais comuns. Já a craniossinostose, fusão prematura das suturas cranianas, apresenta uma incidência de 1 para 2.000 a 2.500 nascimentos, com variações conforme o subtipo clínico. Países de baixa e média renda (PBMRs) concentram a maior carga global dessas condições: estima-se que 90% dos casos graves de anomalias congênitas, incluindo craniofaciais, ocorram nessas regiões, devido a fatores como acesso limitado a cuidados pré-natais, desnutrição materna e exposição a agentes teratogênicos (WHO, 2023).

Desvendar a origem das malformações craniofaciais, através da identificação dos genes envolvidos e das vias de sinalização que regulam o desenvolvimento craniofacial é fundamental para compreender os mecanismos subjacentes a esses distúrbios. Pesquisas destacam a complexidade desses processos, revelando como alterações mínimas em genes e vias de sinalização cruciais durante o desenvolvimento embrionário podem resultar no surgimento de uma ou múltiplas malformações (Hausser e Zavolan, 2014).

O detalhamento dos mecanismos moleculares aprimora a precisão diagnóstica, viabiliza o aconselhamento genético adequado e desenvolve terapias e intervenções específicas. Adicionalmente, a identificação de genes-chave e vias de sinalização comprometidas em diferentes síndromes craniofaciais facilita a correlação entre fenótipos distintos, aprofundando o entendimento sobre a variabilidade clínica (Shmetz et al, 2021).

Contudo, ainda há uma compreensão limitada sobre a estrutura molecular e os mecanismos regulatórios que determinam tanto a formação dessas estruturas quanto o surgimento da variação morfológica nas características faciais — desde diferenças tipicamente sutis, que conferem singularidade fenotípica a cada indivíduo, até as malformações craniofaciais observadas em contextos clínicos. Diante disso, diversas condições genéticas associadas a padrões fenotípicos únicos permanecem sem uma etiologia claramente estabelecida, com mecanismos moleculares ainda não totalmente elucidados (Braybrook et al., 2021).

Diante disso, diversas condições genéticas associadas a padrões fenotípicos específicos ainda necessitam de uma etiologia molecular definida. A utilização de tecnologias genômicas de alto rendimento nas últimas décadas impulsionou

significativamente a identificação de genes ligados a fenótipos craniofaciais. A aplicação do sequenciamento de próxima geração (NGS), em particular, revolucionou a descoberta de genes associados a doenças raras, incluindo aquelas com heterogeneidade clínica acentuada, casos esporádicos e condições previamente sem associação genética conhecida. A principal contribuição do NGS reside na identificação de variantes patogênicas, que não apenas revelam novos genes candidatos, mas também geram hipóteses inéditas sobre os mecanismos moleculares subjacentes ao desenvolvimento craniofacial (Weinberg et al., 2018).

1.2 CAPÍTULO 2 - O DESENVOLVIMENTO CRANIOFACIAL

A embriogênese é o processo pelo qual uma única célula origina toda a diversidade celular e tecidual de um organismo, coordenada pela expressão programada do genoma. No contexto do desenvolvimento craniofacial, compreender os estágios da embriogênese é fundamental para elucidar as causas subjacentes à possíveis malformações (Gilbert, 2021).

1.2.1 Eventos Iniciais: O Tubo Neural e a Origem Celular

O desenvolvimento craniofacial tem a sua gênese na formação do tubo neural. A região anterior deste tubo diferencia-se em vesículas primárias — prosencéfalo, mesencéfalo e rombencéfalo. Este último é segmentado em rombômeros sob a estrita regulação de genes *Hox*, que são cruciais para orientar a migração e o destino celular (Gans e Northcutt, 1983).

É neste estágio inicial, nas cristas laterais da placa neural, que surgem as células da crista neural craniana (NCCs). Estas células são pluripotentes e migratórias, desempenhando um papel central na formação da maior parte do esqueleto facial, incluindo ossos, cartilagens, tecido nervoso periférico e tecidos conectivos. A sua especificação e subsequente migração dependem de vias sinalizadoras essenciais como BMP, WNT e FGF, processos críticos à morfogênese craniofacial (Santagati e Rijli, 2003; Nie et al., 2006).

1.2.2 A Quarta Semana e a Formação dos Arcos Faríngeos

Cronologicamente, o desenvolvimento da face humana inicia-se de forma visível por volta da quarta semana de gestação, um período que frequentemente antecede a percepção da gravidez pela mulher. Este processo depende da interação coordenada de múltiplas linhagens celulares: as NCCs, o mesoderma paraxial e o ectoderma (Bhat, 2020).

Especificamente a partir do 22º dia de gestação, inicia-se a formação de cinco pares de arcos faríngeos, que mantêm uma correspondência evolutiva com os arcos 1, 2, 3, 4 e 6 dos vertebrados ancestrais, dado que o 5º arco se apresenta vestigial. Cada arco exibe uma arquitetura complexa composta por três componentes fundamentais: o ectoderma externo, que reveste a estrutura superficialmente; o endoderma interno, responsável pelo revestimento faríngeo e pela formação das cavidades; e o mesênquima central, derivado de células mesodérmicas e ectomesenquimais, que atua como o precursor para a diferenciação em ossos, cartilagens e tecidos conjuntivos (Sperber et al., 2010).

O primeiro e segundo arcos faríngeos constituem a maior parte do viscerocrânio. Enquanto o ectoderma e o endoderma participam da formação das cavidades oral e faríngea, células da crista neural vagal contribuem para a região circunfaríngea (Kuratani, 2018; Kuratani et al., 2018).

Os destinos dos arcos faríngeos e as estruturas deles derivadas estão resumidos na **Figura 1**. Para melhor interpretação da origem embriológica, a figura utiliza um sistema de código de cores. O primeiro arco (verde) é inervado pelo nervo Trigêmeo (V) e dá origem aos músculos da mastigação e à cartilagem de Meckel (martelo e bigorna). O segundo arco (laranja/rosa), associado ao nervo Facial (VII), forma os músculos da expressão facial, o estribo, o processo estiloide e a parte superior do hioide. Já o terceiro arco (azul) relaciona-se com o nervo Glossofaríngeo (IX), originando o músculo estilofaríngeo e a parte inferior do hioide. Por fim, os quarto e sexto arcos (roxo) são inervados pelo nervo Vago (X) e são responsáveis pela formação dos músculos da faringe e laringe, bem como pelas cartilagens tireoide e cricoide. A ilustração baseia-se na obra de Carlson, *Human Embryology and Developmental Biology* (2009).

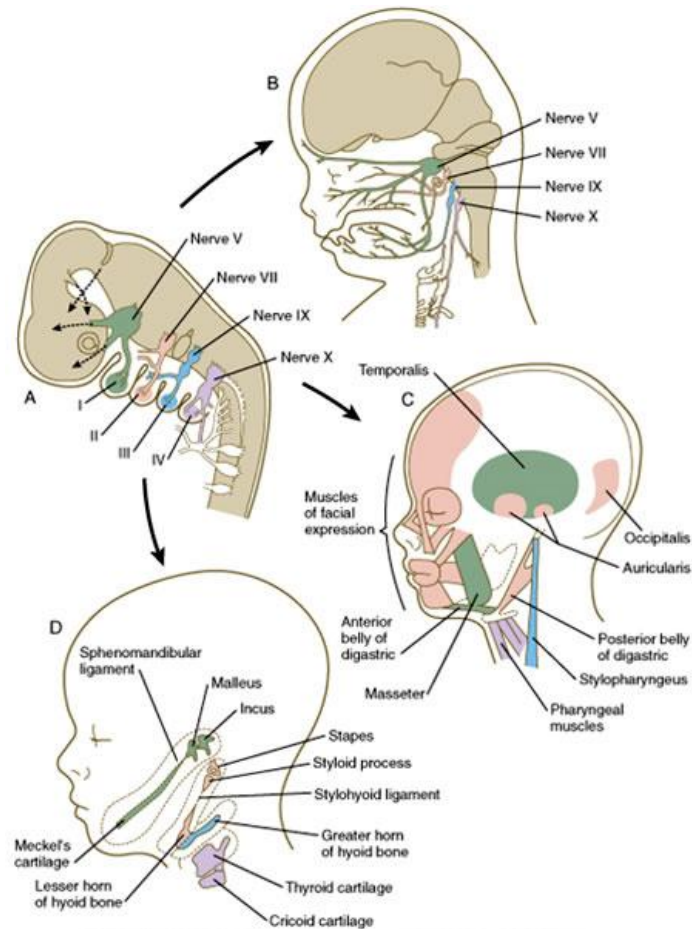


Figura 1. Derivados dos arcos faríngeos humanos. A imagem ilustra a diferenciação dos arcos embrionários nas estruturas definitivas da cabeça e pescoço. Detalha a inervação pelos nervos cranianos (V, VII, IX e X) e os respectivos derivados musculares e esqueléticos, como os ossículos do ouvido e o osso hioide. (Adaptado de Carlson, 2009).

1.2.3 Migração, Interação Tecidual e Sinalização Molecular

Durante a formação e estabilização destas estruturas, ocorre uma intensa interação entre o neuroepitélio e o mesênquima facial. Esta interação é mediada por genes como *SOX9*, *PAX6* e *FGF8*, sendo fundamental para a formação de órgãos sensoriais e estruturas esqueléticas (Le Douarin & Kalcheim, 1999; Ornoy et al., 2020).

A migração das NCCs é rigorosamente regulada por fatores de transcrição como *Hox* e *Dlx*, além de moléculas sinalizadoras. A especificidade das NCCs é influenciada pela expressão segmentar de *Hox*, que modula a sua resposta a fatores de crescimento e determina a diferenciação em estruturas únicas (Le Douarin & Kalcheim, 1999). Vias como SHH e WNT orientam a migração e a organização dos tecidos (Creuzet et al., 2006; Dworkin et al., 2016; He & Chen, 2012; Abramyan & Richman, 2018), enquanto

a interação das NCCs com outras células faciais é mediada por fatores de crescimento e retinoides (Johnston & Bronsky, 1995).

1.2.4 Diferenciação Estrutural: Neurocrânio e Viscerocrânio

Após a migração e o estabelecimento celular nos arcos, inicia-se a diferenciação estrutural do complexo craniofacial, que se divide em duas regiões principais: o neurocrânio e o viscerocrânio. O neurocrânio localiza-se na região dorsal-rostral, com a função de proteção encefálica, e é formado tanto por ectomesênquima proveniente das NCCs quanto por mesênquima estritamente mesodérmico, o qual dá origem a porções da base do crânio e ao próprio neurocrânio (Santagati e Rijli, 2003; Bhat, 2020). Por sua vez, o viscerocrânio posiciona-se na região ventral-caudal, servindo de suporte funcional para a boca, a faringe e a laringe superior, sendo constituído predominantemente por ectomesênquima derivado das NCCs.

Um aspecto distintivo desta fase é o tipo de ossificação. Diferentemente do esqueleto pós-craniano (de origem mesodérmica e formado por ossificação endocondral), as estruturas craniofaciais derivam quase exclusivamente das NCCs via ossificação intramembranosa. Isto gera componentes leves como a maxila e a mandíbula, essenciais à evolução de funções alimentares complexas em gnatóstomos (Noden & Schneider, 2006). A notável exceção é a clavícula, o único osso mesodérmico que também forma osso de membrana, evidenciando a plasticidade genética destes mecanismos (Le Douarin et al., 2004).

1.2.5 Maturação Funcional e Remodelação

Numa etapa posterior do desenvolvimento, o crescimento encefálico molda a abóbada craniana e a base do crânio, enquanto as estruturas faríngeas estabelecem a arquitetura facial definitiva, mediando a formação de ossos e articulações mandibulares. Paralelamente, ocorrem processos de maturação funcional, nos quais as vias aéreas se desenvolvem e a coordenação neuromuscular necessária para a deglutição e fonação exige ajustes no palato e na laringe. Neste contexto, forças biomecânicas geradas pelo desenvolvimento muscular modulam o crescimento ósseo via ativação de vias como BMP e FGF, ao passo que a erupção dentária se integra à remodelação alveolar e à oclusão funcional (Sperber et al., 2010). Todo este desenvolvimento é ainda modulado

por influências ambientais e mecanismos epigenéticos, que regulam a expressão gênica sem alterar a sequência do DNA (Bhat, 2020).

1.2.6 Implicações Clínicas e Genéticas

Compreender estes estágios é fundamental para elucidar as causas de malformações (Gilbert, 2021) , uma vez que a desregulação das moléculas sinalizadoras ou da migração das células da crista neural (NCCs) resulta em patologias como fendas orofaciais ou craniossinostose (Minoux and Rijli, 2010; Twigg & Wilkie, 2015). Dado que vias como BMP, FGF, SHH e WNT coordenam simultaneamente a morfogênese craniofacial, de membros e do sistema nervoso, disfunções nestas redes resultam em malformações complexas e anomalias neurológicas (Ornoy, 2020).

A correlação entre a origem embriológica específica das células da crista neural e os distúrbios genéticos resultantes pode ser visualizada na **Figura 2**. Este mapeamento associa genes recentemente identificados a defeitos em regiões anatômicas distintas, dependendo da população de células progenitoras afetada e das vias de sinalização envolvidas.

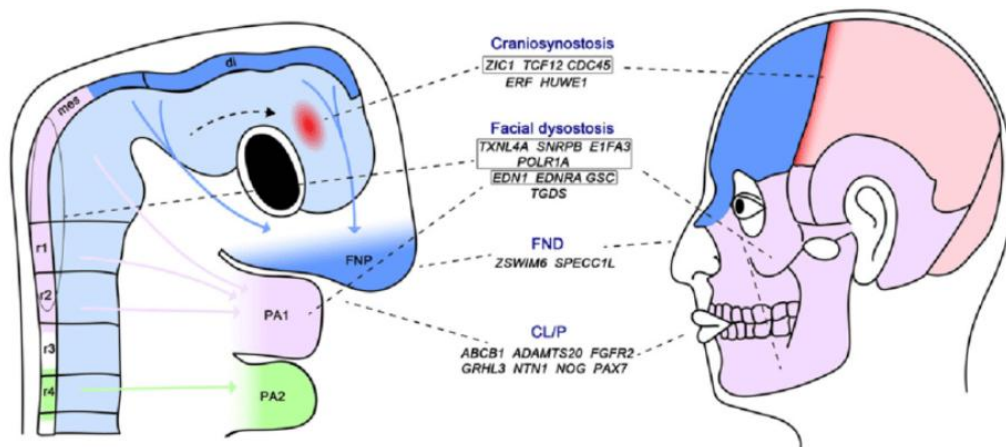


Figura 2. Desenvolvimento da cabeça e face e genes craniofaciais identificados. À esquerda, um embrião exibe os padrões de migração das células da crista neural (NCCs) diencefálicas (*di*), mesencefálicas anteriores e posteriores (*mes*) e rombencefálicas (*r1-4*) para a proeminência frontonasal (FNP) e arcos faríngeos 1 e 2 (PA1, PA2). A seta tracejada indica o movimento de células-tronco mesenquimais derivadas do mesoderma para o centro regulatório supraorbital. À direita, as regiões craniofaciais derivadas da crista neural formadas a partir da FNP e PA1 são indicadas com as mesmas cores na cabeça. Os ossos parietais e occipitais são derivados do mesoderma (rosa). A sutura coronal contém células puramente derivadas do mesoderma (vermelho). Centralmente, são listados genes discutidos na literatura, associados aos sítios embriológicos subjacentes à patogênese e às estruturas afetadas por mutações, incluindo genes para craniossinostose, disostose facial, displasia frontonasal e fenda labial/palatina (Adaptado de Twigg e Wilkie (2015)).

A base genética destes defeitos é vasta e, como ilustrado na **Figura 1**, abrange desde alterações clássicas em genes como *PAX3*, *TWIST1* e *IRF6*, ligadas a defeitos craniofaciais (Tassabehji et al., 1992; Howard et al., 1997; Kondo et al., 2002), até genes como *TCF12* e *ERF* na craniossinostose e *POLR1A* e *EDN1* nas disostoses faciais. Defeitos em colágenos e interações gene-ambiente também amplificam riscos de micrognatia e hipoplasia (Richards et al., 2006; Sulik, 2005).

Avanços genômicos, como GWAS, identificaram polimorfismos em *PRDM16* e *PAX9* associados à morfologia facial, enquanto técnicas como CRISPR/Cas9 permitem modelar variantes em animais, ajudando a elucidar os mecanismos patogênicos subjacentes (Claes et al., 2014; Cong et al., 2013)

1.3 CAPÍTULO 3 - AS SÍNDROMES DE MALFORMAÇÃO CRANIOFACIAL

Uma síndrome é classicamente definida como uma condição clínica caracterizada pela ocorrência consistente de um conjunto de sintomas e sinais, cuja associação configura um padrão diagnóstico reconhecível (Dorland, 2020). No âmbito das síndromes craniofaciais, esse conceito se aplica a um grupo heterogêneo de doenças marcadas por alterações morfológicas e funcionais no crânio, na face e em estruturas correlatas, como ossos, cartilagens e tecidos moles (Cohen, 1997).

A etiologia das síndromes é multifacetada, envolvendo interações entre fatores genéticos - variantes, variações cromossômicas -, influências ambientais e mecanismos multifatoriais. Atualmente, mais de 500 entidades clínicas com envolvimento craniofacial estão catalogadas na literatura. Entretanto, a quantificação precisa das síndromes craniofaciais é desafiadora devido à sobreposição de fenótipos, critérios diagnósticos em evolução e descobertas genômicas contínuas (Jones et al., 2021).

Do ponto de vista epidemiológico, aproximadamente 5-8% da população mundial é diagnosticada com algum distúrbio genético (Baird et al., 1988; OMS, 2023; NIH, 2023). Apesar da raridade individual de muitas dessas condições, seu impacto coletivo é expressivo: doenças genéticas raras contribuem substancialmente para a morbidade global, representando até 20% das hospitalizações pediátricas em países de média e alta renda (Kumar et al., 2018). A Organização Mundial da Saúde (OMS) ressalta que essas condições são responsáveis por aproximadamente 30% dos anos de vida ajustados por

incapacidade (DALYs) em crianças menores de cinco anos, destacando seu papel crítico na carga global de doenças (WHO, 2021).

A identificação da síndrome inicialmente requer um diagnóstico clínico, incluindo uma história familiar precisa, exame físico e fotografias. O monitoramento do crescimento e desenvolvimento pós-natal também é valioso, principalmente nos casos em que não está claro o diagnóstico no nascimento. A presença de três ou mais pequenas anomalias no recém-nascido predispõe fortemente o bebê a ter uma grande anomalia envolvendo um ou mais sistemas (Jones, 2021).

Para melhor compreensão, as síndromes genéticas craniofaciais podem ser classificadas em duas grandes categorias: aquelas associadas à craniossinostose e aquelas associadas às fissuras orais (Johnson & Wilkie, 2011).

As craniossinostoses constituem um grupo heterogêneo de malformações congênitas caracterizadas pelo fechamento prematuro de uma ou mais suturas cranianas. Esse processo, denominado craniossinostose (o termo "craniostenose" refere-se às consequências clínicas desse fechamento, como a restrição do crescimento craniano), resulta em alterações morfológicas do crânio, como braquicefalia e escafocefalia, e pode levar a complicações como hipertensão intracraniana, compressão cerebral e, em casos graves, atrasos no desenvolvimento neuropsicomotor (Bhat et al., 2020; Forbes et al., 2010). Embora o impacto primário seja craniano, deformidades faciais secundárias — como assimetria facial, proptose ocular, turricéfalia e micrognatia — são frequentes devido à interconexão biomecânica entre crânio e face durante o crescimento (Wilkie et al., 2017). A prevalência de craniossinostoses é estimada em 1:2.000 a 1:2.500 nascidos vivos, com aumento observado nas últimas décadas, provavelmente devido a avanços diagnósticos e maior conscientização clínica (Johnson & Wilkie, 2011).

Variantes em seis diferentes genes são frequentemente associadas as craniossinostoses: *FGFR2*, *FGFR3*, *TWIST1*, *EFNB1*, *TCF12* e *ERF* (Twigg et al., 2013). Complicações como estenose traqueal e pansinostose pós-natal são comuns em variantes de *FGFR2* (Wenger et al., 2015; Wood et al., 2015). Síndromes raras, como Beare-Stevenson (MIM 123790) (variantes em *FGFR2*) e displasia óssea curvada (MIM 112250) com variantes em *FGFR2*, apresentam alta mortalidade (Wenger et al., 2015; Krakow et al., 2016). A síndrome de Muenke (*FGFR3*; MIM 62849) tem variabilidade clínica, incluindo hidrocefalia isolada (Kruszka et al., 2016; González-Del Angel et al.,

2016). Variantes em ERF causam fenótipos variáveis, desde Crouzon-like até craniossinostose não sindrômica (Twiggg et al., 2013; Chaudhry et al., 2015).

Dentre os defeitos congênitos mais prevalentes globalmente, as fissuras orofaciais — incluindo fissura labial (isolada ou associada à fissura palatina) e fissura palatina isolada (FL/P) — apresentam incidência variável de 1,5 a 25 casos por 10.000 nascimentos, com disparidades étnicas e geográficas marcantes (Mossey & Castilla, 2003). A taxa média global é estimada em 1 caso para cada 700 nascimentos, sendo mais alta na Ásia e mais baixa na África, enquanto a fissura palatina isolada (FP) mantém incidência estável, aproximada 1:1.500 nascimentos, sem variação regional significativa (Wyszynski et al., 1996; Tolarova, 1987). A maioria das fissuras labiais (80-85%) é unilateral, predominando no lado esquerdo (33%) (Hagberg et al., 1998; Jensen et al., 1988).

Recém-nascidos com FL/P enfrentam complicações multifacetadas: dificuldades alimentares por falha na sucção, perda auditiva condutiva por disfunção da tuba auditiva, distúrbios de fala (insuficiência velofaríngea) e anomalias dentárias (hipodontia, má oclusão). Além dos impactos físicos, desafios psicossociais — como ansiedade e estigma social — exigem abordagem holística. O manejo ideal envolve reparo cirúrgico primário (labial entre 2-6 meses; palatina entre 9-18 meses), complementado por fonoaudiologia, ortodontia e cirurgias secundárias até a adolescência para otimizar função e estética (Mackay et al., 1999; Stanier & Moore, 2004).

O significado da palavra "fenda" torna-se facilmente compreensível quando ilustrado por exemplos clínicos, como a fenda labial ou palatina. No entanto, defeitos que afetam as estruturas juncionais nem sempre são tão evidentes ou de fácil classificação. Historicamente, diversas tentativas foram realizadas para categorizar essas fissuras, refletindo a complexidade e a diversidade dessas condições (Tunçbilek et al., 2010).

Exemplos importantes de síndromes genéticas relacionadas a fendas orais, são a síndrome de Pierre Robin (MIM 261800), Treacher Collins (MIM 154500), Nager (MIM 154400), Binder (MIM 155050) e Stickler (MIM 108300). Em 70-85% dos casos, as fissuras ocorrem de forma isolada, sem associação com outras anomalias (Mossey et al., 2009). No entanto, existem mais de 350 síndromes conhecidas que incluem fissuras orais como uma de suas características, nas quais outros defeitos congênitos também estão presentes (Dixon et al., 2011; Kondo et al., 2002; Vieira et al., 2005; Wilkie et al.,

1995). Entre os genes e fatores de transcrição relevantes associados às fissuras orofaciais, destacam-se: *TGF- α* , *TGF- β 3*, *MSX1*, *IRF6*, *MTHFR*, *FGFR1*, *MNI*, *TBX22*, *ALX3*, *PDGFC* e *ETV5*. Esses genes desempenham papéis críticos no desenvolvimento craniofacial, e variantes ou variações em sua expressão podem contribuir para a ocorrência dessas malformações (Twiggy et al., 2013; Attanasio et al., 2013; Leslie & Marazita, 2013).

Além desses dois grandes grupos, é possível elencar outras síndromes de malformação craniofacial relevantes que não são, necessariamente, pertencentes a craniossinostoses ou fendas orais. Dentre estes podemos elencar os distúrbios craniofaciais que afetam diferentes estruturas do sistema nervoso, como a holoprosencefalia (MIM 236100), as microssomias e as síndromes associadas à deficiência intelectual.

A associação entre malformações craniofaciais e anomalias do sistema nervoso central (SNC) está enraizada na origem embriológica comum dessas estruturas, derivadas da crista neural e da placa neural. Síndromes como Crouzon (MIM 123500) e Apert (MIM 101200), ligadas a variantes no gene *FGFR2*, exemplificam essa relação: além da craniossinostose, até 50-70% dos pacientes desenvolvem complicações neurológicas, como hidrocefalia, hipoplasia do corpo caloso e deficiência intelectual. A deficiência intelectual nesses contextos está frequentemente associada a fatores como displasia cortical (15% dos casos), malformação de Chiari tipo I e hipertensão intracraniana crônica, que comprometem a organização neuronal e a mielinização, exacerbando atrasos no desenvolvimento neuropsicomotor (Twiggy et al., 2019; Johnson et al., 2020).

Estudos longitudinais demonstram que a coexistência de múltiplas anomalias cerebrais triplica o risco de deficiência intelectual grave, comparado a casos com anomalias isoladas. Além disso, variantes em *FGFR2* perturbam vias críticas para a migração neuronal e sinaptogênese, como a sinalização WNT/ β -catenina, agravando comprometimentos cognitivos (Lajeunie et al., 2005). Em síndromes como Muenke e Saethre-Chotzen (*TWIST1*; 101400), a deficiência intelectual ocorre em 20-40% dos casos, muitas vezes subdiagnosticada devido à variabilidade fenotípica (Wilkie et al., 2017).

O manejo desses pacientes exige avaliação neuropsicológica precoce e intervenções multimodais, incluindo cirurgia para descompressão craniana, derivação ventrículo-

peritoneal em casos de hidrocefalia e terapias de estimulação cognitiva. A ressonância magnética cerebral serial é essencial para monitorar complicações tratáveis, como expansão ventricular progressiva, enquanto protocolos de intervenção precoce podem mitigar déficits funcionais e melhorar a qualidade de vida (Starr et al., 2020; Komotar et al., 2018).

A holoprosencefalia (HPE) é uma malformação congênita complexa caracterizada por defeitos na divisão do prosencéfalo e anomalias craniofaciais ao longo da linha média, resultantes de falhas na indução ventral durante as primeiras semanas de desenvolvimento embrionário. Seu espectro fenotípico varia desde formas leves, como o incisivo central único (HPE microforme), até casos graves com fusão completa dos hemisférios cerebrais (HPE alobar), onde um único ventrículo cerebral substitui a estrutura ventricular bilateral típica (Solomon et al., 2010). Nas formas intermediárias, como a HPE semilobar e lobar, observa-se fusão parcial dos hemisférios e ventrículos, frequentemente associada a hipoplasia do corpo caloso e disgenesia do septo pelúcido (Dubourg et al., 2018).

A manifestação craniofacial reflete diretamente a gravidade da desorganização cerebral. Em casos leves, além do incisivo central único, presente em 10-20% dos casos, podem ocorrer hipotelorismo ou fenda lábio-palatina isolada. Já nas formas graves, observam-se defeitos dramáticos, como ciclopia, probóscide ou agenesia nasal completa, frequentemente acompanhados de comprometimento neurológico grave, incluindo epilepsia refratária e deficiência intelectual profunda (Roessler & Muenke, 2010).

Geneticamente, a HPE está ligada a variantes em genes críticos para a sinalização da linha média embrionária, como *SHH* (30% dos casos familiares), *SIX3*, *ZIC2* e *TGIF1*, que regulam vias de desenvolvimento como a Sonic Hedgehog (*SHH*) – essencial para a padronização ventral do tubo neural (Roessler et al., 2018). Fatores ambientais, como diabetes materno mal controlado, exposição a álcool e deficiência de colesterol (como na síndrome de Smith-Lemli-Opitz [MIM 270400]), também contribuem para a etiologia, ampliando o risco em até 20 vezes em gestações de mães diabéticas (Pineda-Alvarez et al., 2011).

Epidemiologicamente, a HPE ocorre em 1:10.000 nascidos vivos, mas sua prevalência embrionária é estimada em 1:250 conceptos, refletindo a alta taxa de abortamentos espontâneos em casos graves (Orioli & Castilla, 2010). Aproximadamente

40% dos pacientes apresentam anomalias extracraniofaciais, como defeitos cardíacos, displasia renal e anomalias esqueléticas (Mercier et al., 2011).

O manejo clínico exige abordagem multidisciplinar, envolvendo neuroimagem precoce, aconselhamento genético e intervenções sintomáticas, como tratamento anticonvulsivante e cirurgias corretivas para fendas faciais. O diagnóstico pré-natal, por meio de ultrassom morfológico e análise genômica, permite planejamento terapêutico e orientação familiar, especialmente em casos recorrentes com padrão autossômico dominante ou recessivo (Mercier et al., 2011).

Algumas síndromes craniofaciais têm origem em perturbações no desenvolvimento dos arcos branquiais, estruturas embriológicas fundamentais para a formação da face e pescoço. A microssomia craniofacial, também conhecida como espectro oculoauriculovertebral (OAVS), é um exemplo paradigmático, resultando de alterações nos primeiro e segundo arcos branquiais durante a gestação. Esses arcos são compostos por três camadas germinativas distintas: o endoderma, o ectoderma e o mesoderma. Durante o desenvolvimento embrionário, as NCCs, derivadas do tubo neural, migram para os arcos faríngeos e diferenciam-se em estruturas como ossos, cartilagens e tecidos moles da face. Perturbações nessa migração — causadas por fatores genéticos, ambientais ou multifatoriais — levam a defeitos na formação craniofacial, como hipoplasia mandibular, assimetria facial e malformações auriculares. Pacientes com microssomia craniofacial frequentemente apresentam deformidades esqueléticas, incluindo hipoplasia da mandíbula e maxila, além de alterações em tecidos moles, incluindo músculos da mastigação atrofícos. A assimetria facial é uma característica marcante, muitas vezes acompanhada de anomalias como microtia ou anotia. Essas manifestações refletem a importância crítica das NCCs na organização dos arcos branquiais durante a organogênese (Kauvar et al., 2010).

A microssomia craniofacial, também conhecida como OAVS (MIM 10210), ocorre predominantemente de forma esporádica (85-90% dos casos), sem histórico familiar evidente. No entanto, em 10-15% dos casos, observa-se um padrão de herança autossômico dominante com penetrância variável, onde variantes em genes como *SIX1* e *EYAI* foram identificadas em famílias afetadas (Beleza-Meireles et al., 2014).

A condição é marcada por extrema variabilidade fenotípica, que pode variar desde manifestações leves até deformidades graves. A micrognatia está presente em 80-90% dos pacientes e pode desencadear a sequência de Pierre Robin, caracterizada por

glossoptose, obstrução das vias aéreas e fenda palatina (Bogusiak et al., 2017). A fenda palatina ocorre em 35% dos casos, frequentemente associada a insuficiência velofaríngea, que compromete a fala e a deglutição (Heike et al., 2014).

Na forma mais grave do espectro, a síndrome de Goldenhar (MIM 164210), observam-se além das características craniofaciais, anomalias vertebrais cervicais em 30% dos casos, dermoides epibulbares em 20% e malformações cardíacas ou renais em 15-20% dos pacientes (Tasse et al., 2005).

O delineamento preciso de uma síndrome é fundamental para a medicina genética, pois permite a caracterização de seu espectro fenotípico completo, história natural e padrão de herança, otimizando o manejo clínico e o aconselhamento familiar. Quando uma síndrome inicialmente de etiologia desconhecida é adequadamente definida, os profissionais ganham *insights* sobre complicações potenciais, mesmo aquelas não evidentes no diagnóstico inicial. Por exemplo, na síndrome de Goldenhar, o reconhecimento do risco de hemivértebras permite monitoramento radiológico precoce para prevenir complicações como escoliose progressiva (Heike et al., 2014). Da mesma forma, na síndrome de Beckwith-Wiedemann (MIM 130650), o conhecimento do risco elevado de tumor de Wilms justifica ultrassons abdominais seriados até os 8 anos de idade, reduzindo a mortalidade por detecção precoce (Weksberg et al., 2010).

Além disso, a definição clara do risco de recorrência é crucial para o planejamento familiar. Em síndromes com herança autossômica dominante o risco de recorrência é de 50%, enquanto em condições esporádicas, o risco é geralmente inferior a 1%. Esse conhecimento permite orientar os pais sobre opções reprodutivas, como diagnóstico pré-implantacional ou pré-natal, especialmente em condições graves associadas a deficiência intelectual, desfiguração facial ou expectativa de vida reduzida (ACMG, 2021).

A concentração de geneticistas clínicos em países desenvolvidos aprofunda disparidades em regiões de baixa e média renda, onde a escassez de serviços especializados e a infraestrutura laboratorial precária limitam o uso de testes genéticos na prática clínica (WHO, 2022; Kumar et al., 2021). Nesse contexto, o diagnóstico ainda depende majoritariamente de métodos tradicionais, como avaliação fenotípica, radiografias, biópsias e análises metabólicas, complementados por técnicas como cariótipo e microarray. Embora úteis, essas abordagens têm taxas diagnósticas modestas (15-25%), deixando a maioria dos pacientes sem respostas definitivas — um cenário

que perpetua ciclos de incerteza e intervenções ineficazes (Stark et al., 2019). No Brasil, a taxa de confirmação diagnóstica de síndromes genéticas é condicionada por disparidades estruturais, como acesso desigual a serviços especializados em genética clínica, disponibilidade limitada de testes genéticos de alta complexidade e ausência de programas de triagem populacional estruturados. Estima-se que apenas 20% a 30% dos indivíduos com suspeita de síndromes genéticas obtêm confirmação diagnóstica, com disparidades regionais acentuadas entre centros urbanos e áreas remotas (Horovitz et al., 2013).

Assim como o Brasil, em outros países em desenvolvimento as doenças genéticas emergem como um desafio prioritário de saúde pública, à medida que a transição epidemiológica redireciona o perfil de morbimortalidade. Atualmente, causas não infecciosas — como malformações congênitas, erros inatos do metabolismo e síndromes genéticas — representam mais de 70% das mortes infantis evitáveis (OMS, 2021). Esse cenário exige a implementação urgente de políticas que integrem rastreamento neonatal ampliado, acesso equitativo a testes genéticos e protocolos de acompanhamento longitudinal, visando reduzir diagnósticos tardios e complicações evitáveis.

A falta de diagnóstico traz consequências devastadoras para famílias e sistemas de saúde. Além da impossibilidade de acessar tratamentos específicos, as famílias enfrentam riscos desconhecidos de recorrência em gestações futuras e a ausência de orientação prognóstica. A "odisseia diagnóstica" — uma busca exaustiva por respostas que dura em média 5 a 7 anos e custa cerca de US\$ 20.000 por paciente — consome recursos financeiros e emocionais, sobrecarregando sistemas de saúde já fragilizados (Splinter et al., 2018; Rodríguez-Acevedo et al., 2020). Em países como o Quênia, onde apenas 10% dos casos de doenças raras são diagnosticados, famílias percorrem até cinco hospitais diferentes antes de receber uma avaliação genética preliminar (Abdullahi et al., 2022).

Felizmente, o NGS está redefinindo as possibilidades diagnósticas. Essa tecnologia permite a análise simultânea de milhares de genes, identificando variantes patogênicas mesmo em condições ultra-raras ou não descritas na literatura. Em síndromes neurodesenvolvimentais, por exemplo, o NGS elevou as taxas diagnósticas para 30-50%, vinculando variantes em genes como *POGZ* e *DYNC1H1* a fenótipos específicos de deficiência intelectual e displasia cerebral (Wright et al., 2021). Iniciativas como o

Projeto 100.000 Genomas no Reino Unido e o H3Africa na África Subsaariana ilustram seu potencial para democratizar o acesso: no Gana, o uso de NGS em crianças com epilepsia refratária identificou variantes em *SCN1A* em 20% dos casos, direcionando terapias anticonvulsivantes personalizadas (Wonkam et al., 2020; Balogun et al., 2023).

Apesar dos avanços, a implementação global do NGS enfrenta obstáculos críticos. A redução de custos e a capacitação de profissionais em bioinformática são essenciais para sua adoção em larga escala. Bancos de dados diversificados, como o Genome Aggregation Database (gnomAD), que inclui dados genômicos de populações asiáticas e africanas, são fundamentais para evitar viés étnico nos diagnósticos (Karczewski et al., 2020). No Paquistão, parcerias com instituições europeias treinaram 200 profissionais em genômica entre 2021 e 2023, acelerando o diagnóstico de doenças como a talassemia (Ahmed et al., 2023). Para que a revolução genômica seja verdadeiramente inclusiva, é urgente integrar políticas públicas que priorizem investimentos em infraestrutura, educação médica e colaborações internacionais, garantindo que populações marginalizadas não sejam deixadas para trás (WHO, 2022).

1.4 CAPÍTULO 4 - SEQUENCIAMENTO COMPLETO DE EXOMA (WES)

A primeira sequência completa do genoma humano, concluída em 2003 pelo Projeto Genoma Humano, deixou um marco na ciência moderna. Esse feito foi alcançado usando o sequenciamento Sanger, método tradicional que dependia de eletroforese capilar e terminadores de cadeia marcados com fluorescência. Embora revolucionário para a época, o processo consumiu mais de uma década e custou cerca de US\$ 3 bilhões, destacando a necessidade de tecnologias mais eficientes (International Human Genome Sequencing Consortium, 2004).

Esse avanço abriu caminho para a revolução do NGS, impulsionada por investimentos dos Institutos Nacionais de Saúde (NIH) e iniciativas privadas. Entre 2005 e 2010, empresas como Illumina e Roche desenvolveram plataformas de alto rendimento, reduzindo o custo do genoma para menos de US\$ 1.000 e acelerando o processo para poucos dias (Metzker, 2010).

O sequenciamento de nova geração (NGS) constitui uma tecnologia que possibilita a análise em larga escala de sequências de DNA e RNA, aliando alta precisão a um custo reduzido. Ao contrário do método de Sanger, que realiza o sequenciamento de

fragmentos individuais de maneira linear, o NGS adota abordagens paralelizadas que permitem o processamento simultâneo de milhões de fragmentos. Tal capacidade revela-se particularmente valiosa no contexto de estudos de doenças raras, como as síndromes de malformações craniofaciais, nas quais a identificação de variantes genéticas demanda elevada sensibilidade e ampla cobertura genômica. Conseqüentemente, esta tecnologia tem sido fundamental para desvendar a heterogeneidade genética dessas condições, contribuindo significativamente para a redução da "odisseia diagnóstica" enfrentada pelos pacientes (Goodwin et al., 2016).

A análise bioinformática envolve o alinhamento das leituras ao genoma de referência usando algoritmos como BWA-MEM (Li, 2013), seguido da identificação de variantes como SNVs (*Single Nucleotide Variants* - Variantes de Nucleotídeo Único) e CNVs (*Copy Number Variants* - Variantes no Número de Cópias) (McKenna et al., 2010; Talevich et al., 2016). A anotação funcional, realizada por softwares como ANNOVAR (Wang et al., 2010), classifica variantes com base em bancos de dados como ClinVar e gnomAD (Landrum et al., 2016; Karczewski et al., 2020), priorizando aquelas com potencial patogênico. Diretrizes do ACMG (Richards et al., 2015) são críticas para interpretar variantes de significado incerto (VUS), integrando dados fenotípicos para decisões clínicas

Opcionalmente, realiza-se o enriquecimento de regiões-alvo, como éxons (via WES) ou painéis de genes específicos, usando sondas de hibridização (Mamanova et al., 2010).

Na etapa de sequenciamento, plataformas como a Illumina utilizam o método de síntese por incorporação de nucleotídeos marcados com fluoróforos. Cada ciclo de incorporação emite um sinal fluorescente, capturado por imagens de alta resolução. Já a plataforma Ion Torrent detecta mudanças de pH durante a adição de bases, oferecendo rapidez, porém com limitações em regiões repetitivas (Metzker, 2010). A geração de dados brutos resulta em arquivos FASTQ, que passam por controle de qualidade para remover leituras de baixa qualidade (score Q30) (Andrews, 2010; Illumina, 2021).

O WES é uma aplicação específica do NGS que se concentra na sequenciação de éxons, que correspondem a apenas entre 1-2% do genoma humano, porém abrigam aproximadamente 85% das variantes patogênicas conhecidas em doenças monogênicas. O WES utiliza técnicas de captura por hibridização com sondas específicas para enriquecer essas regiões-alvo, seguido de sequenciamento paralelo massivo. Essa abordagem é especialmente vantajosa em estudos de doenças raras, como síndromes

craniofaciais, pois reduz custos e simplifica a análise ao focar em áreas com maior probabilidade de conter variantes clinicamente relevantes (Biesecker & Green, 2014).

Estudos demonstram que o WES alcança uma taxa de diagnóstico de 25-40% em casos de malformações congênitas, superando métodos tradicionais como painéis de genes. Por exemplo, Yang et al. (2014) identificaram variantes patogênicas em *FGFR2* e *TWIST1* em pacientes com craniossinostose usando WES, destacando sua eficácia na descoberta de genes associados a fenótipos complexos. No entanto, o WES não substitui o sequenciamento do genoma completo (WGS), que analisa regiões não codificantes, mas oferece um equilíbrio entre custo e resolução diagnóstica. A integração do WES ao fluxo de trabalho do NGS tem sido fundamental para avanços na genética clínica, permitindo a identificação de novos genes candidatos e a personalização de condutas terapêuticas (Retterer et al., 2016).

À medida que as tecnologias de NGS avançavam, sua aplicação clínica para elucidar doenças raras não diagnosticadas acelerou-se significativamente. Um marco inicial ocorreu em 2010, quando o NGS foi utilizado para identificar o gene causador da síndrome de Miller, uma condição rara caracterizada por malformações craniofaciais e de membros, em quatro indivíduos não aparentados, revelando variantes no gene *DHODH* (Ng et al., 2010). Pouco depois, um estudo pioneiro empregou o sequenciamento em trio (probandos e pais biológicos) em casos de deficiência intelectual, demonstrando que variantes *de novo* eram a causa predominante, responsáveis por até 30% dos casos (Vissers et al., 2010).

A análise por NGS geralmente inicia-se com o sequenciamento de Sanger para pré-selecionar genes candidatos baseando-se no fenótipo clínico. Quando nenhuma variante é identificada nesses genes, o NGS é aplicado, frequentemente em dois ou mais indivíduos — dependendo da estrutura familiar ou da coorte estudada — para ampliar a busca por variantes patogênicas (Gilissen et al., 2011). Os dados brutos do NGS passam por múltiplos critérios de filtragem e priorização, como a avaliação da qualidade técnica, a exclusão de variantes sinônimas ou localizadas em regiões não codificantes, e a remoção de SNPs (*Single Nucleotide Polymorphism* - Polimorfismo de Nucleotídeo Único) comuns (frequência >1% em bancos populacionais). Esses critérios são combinados com o modo de herança esperado e podem integrar dados complementares, como estudos de ligação ou matrizes de SNPs, para refinar regiões candidatas (Gilissen et al., 2011). Após a filtragem, as variantes prioritárias são validadas pelo

sequenciamento de Sanger, confirmando sua segregação familiar e eliminando artefatos técnicos. Essa abordagem foi essencial, por exemplo, na identificação de variantes *de novo* em genes em casos de deficiência intelectual (O’Roak et al., 2012; Rauch et al., 2012) e na elucidação de síndromes como a de Kleefstra (MIM 610253) (EHMT1) e Koolen-de Vries (MIM 610443) (KANSL1), onde a integração de NGS e validação por Sanger permitiu correlacionar variantes raras a fenótipos específicos (De Ligt et al., 2012; Koolen et al., 2012).

A identificação de variantes genéticas causais subjacentes a uma doença específica depende não apenas da detecção eficiente de variantes no genoma do paciente, mas também da análise comparativa com parentes biológicos selecionados. Na prática, a estratégia mais comum envolve o uso de dados de trios familiares, nos quais são sequenciados o genoma do paciente e de seus pais. Essa abordagem permite investigar padrões de herança mendeliana compatíveis com o fenótipo clínico, além de detectar eventos como variantes *de novo* ou perda de heterozigosidade (LOH), que podem estar associados a condições como câncer e síndromes de *imprinting* (Roach et al., 2010).

A análise integrada de trios familiares possibilita filtrar variantes com base em critérios de segregação genética. Já em casos de variantes *de novo*, identifica-se variantes presentes exclusivamente no paciente, ausentes nos genomas parentais — uma causa comum de autismo e epilepsias infantis (O’Roak et al., 2012). A LOH, por sua vez, é detectada quando há perda de um alelo parental em regiões cromossômicas específicas, frequentemente associada a síndromes como a de Beckwith-Wiedemann (Conlin et al., 2010).

Nas últimas décadas, avanços extraordinários no sequenciamento do NGS revolucionaram a genômica, com melhorias significativas em velocidade, comprimento das leituras e capacidade de processamento, aliadas a uma redução drástica no custo por base sequenciada de 10.000 dólares por genoma em 2008 para menos de 1.000 dólares em 2023. Esses progressos democratizaram o acesso ao NGS, viabilizando aplicações inovadoras não apenas na pesquisa básica, mas também em áreas translacionais, incluindo diagnóstico clínico de doenças raras, oncogenômica, agrogenômica e ciência forense (Wetterstrand, 2017).

A combinação de leituras mais longas e tecnologias portáteis transformou áreas como a medicina de precisão, permitindo a detecção de fusões gênicas em câncer e variantes estruturais em doenças genéticas. Na agricultura, o NGS é utilizado para

desenvolver variedades resistentes a pragas, enquanto na forense, técnicas como o sequenciamento de DNA mitocondrial aprimoram a resolução de casos complexos (Shendure et al., 2017)

Identificar genes causais que melhor expliquem um conjunto de fenótipos clínicos é uma tarefa desafiadora (Rao et al., 2018). Por essa razão, ferramentas computacionais de priorização de genes baseadas em fenótipo têm tornado a correlação fenótipo-genótipo mais fácil. O objetivo precípua dessas plataformas é a geração de uma lista priorizada de genes candidatos em resposta à inserção de sinais e sintomas clínicos de um indivíduo. Esse processo tem auxiliado nos algoritmos de análise do NGS e melhorado a interpretação nos diagnósticos sobre as análises de variantes. Dessa forma, o uso de plataformas digitais otimiza a análise encurtando o tempo para o diagnóstico e a tomada de decisão quanto a conduta terapêutica (Son et al., 2018).

Diante do cenário de complexidade diagnóstica inerente às síndromes craniofaciais, este trabalho propõe-se a elucidar a etiologia genética de quadros sindrômicos por meio da análise integrada a WES e avaliação fenotípica, visando superar as limitações da abordagem convencional. Ao correlacionar variantes patogênicas em genes candidatos com achados clínicos multidimensionais. Os resultados poderão ampliar o conhecimento sobre a genética dessas condições, oferecer critérios diagnósticos mais precisos e subsidiar estratégias personalizadas de manejo. Além disso, a identificação de variantes recorrentes em populações específicas pode revelar padrões epidemiológicos e influências epigenéticas, contribuindo para políticas públicas em saúde craniofacial (Boycott et al., 2013; Twigg & Wilkie, 2015).

2. OBJETIVO

O objetivo deste estudo é identificar e caracterizar variantes genéticas associadas a síndromes complexas de malformações craniofaciais, utilizando o WES e análises bioinformáticas integradas. Através da correlação sistemática entre dados genotípicos e fenotípicos, o estudo busca elucidar as bases moleculares dessas condições, estabelecendo as relações entre as variantes em genes específicos e as manifestações clínicas apresentadas pelos pacientes.

Adicionalmente, o trabalho visa ampliar a caracterização clínica de síndromes craniofaciais raras ou pouco descritas, fornecendo novos *insights* à literatura médica

sobre a heterogeneidade genética, a pleiotropia e a influência de vias de sinalização no desenvolvimento craniofacial.

2.1 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

1. Identificar variantes genéticas patogênicas ou provavelmente patogênicas relacionadas às síndromes de malformações craniofaciais.
2. Correlacionar achados genotípicos e fenotípicos para estabelecer relações entre variantes em genes específicos e fenótipos clínicos.
3. Integrar dados clínicos e genéticos para aprimorar o diagnóstico diferencial e o manejo de pacientes no Serviço de Genética do Hospital Universitário de Brasília (HUB).
4. Ampliar a caracterização clínica de síndromes craniofaciais por meio da descrição de fenótipos associados a variantes em genes pouco estudados.

2.2 JUSTIFICATIVA

Integrar abordagens multidisciplinares, o projeto pretende contribuir para a consolidação de um banco de dados clínico-genômico de referência, aprimorando o diagnóstico diferencial, orientando o manejo terapêutico e facilitando o aconselhamento genético para famílias afetadas. Este esforço visa não apenas reduzir a "odisseia diagnóstica" dos pacientes, mas também promover avanços na medicina personalizada, direcionando futuras pesquisas para o desenvolvimento de terapias e estratégias preventivas.

3. MATERIAL E MÉTODOS

O presente estudo teve como objetivo principal identificar variantes genéticas associadas a malformações craniofaciais em pacientes com quadros sindrômicos relacionados. A etapa central da investigação consistiu na aplicação do WES. Esta estratégia de sequenciamento de nova geração permite a identificação de variantes patogênicas ou provavelmente patogênicas, sendo essencial para o estabelecimento da etiologia molecular. Concomitantemente, e de forma complementar, foi conduzida caracterização fenotípica por uma equipe multidisciplinar especializada. Esta avaliação

foi fundamental para a análise genótipo-fenótipo, fornecendo a base clínica para a interpretação dos dados genéticos. Para garantir a precisão e a coesão das informações, foram utilizados recursos padronizados, incluindo avaliação clínica, exames de imagem, avaliação auditiva e registros fotográficos, com todos os achados sistematicamente organizados.

3.1 PARTICIPANTES DO ESTUDO

A coorte deste estudo foi composta por 21 pacientes atendidos no Ambulatório de Genética do Hospital Universitário de Brasília (HUB), todos apresentando quadro sindrômico incluindo malformações craniofaciais com ou sem diagnóstico clínico definido. Os critérios de inclusão foram:

- a) Presença de anomalias craniofaciais congênitas combinadas com outras características sindrômicas.
- b) Exclusão de diagnósticos prévios por métodos convencionais.
- c) Consentimento informado assinado pelos responsáveis legais ou pacientes adultos.

3.2 CARACTERIZAÇÃO FENOTÍPICA

A caracterização fenotípica foi realizada por uma equipe multidisciplinar, incluindo avaliação clínica detalhada, exames de complementares e registros fotográficos. Dados clínicos foram documentados em prontuários físicos e digitais.

3.3 EXTRAÇÃO DE DNA

A extração de DNA foi realizada a partir de amostras de sangue periférico coletadas em tubos contendo EDTA seguindo o protocolo de rotina do laboratório. A primeira etapa da metodologia consiste na lise celular utilizando 9 ml da solução de lise RBC (5mM de MgCl₂ e 1mM EDTA pH 8,0) e 3 ml de sangue total colocados em tubo falcon. As amostras foram incubadas a temperatura ambiente por 10 minutos e posteriormente submetidas a centrifugação a 3400 rpm por igual período. O sobrenadante foi removido, deixando de 100 a 200 µl de líquido residual e um pellet de células brancas. Após a ressuspensão do pellet, foi adicionado 3 ml da solução de lise

celular (10 mM Tris pH 7,5, 1 mM EDTA pH 8,0 e 1% SDS). Para a segunda etapa foi adicionado 1 ml da solução de precipitação de proteína que contém 7,5 M NH₄Ac e 57,81g de acetato de amônia diluídos em 100 ml de água destilada. O tubo foi homogeneizado para se obter uma solução uniforme e submetidos novamente a centrifugação a 3400 rpm por 10 minutos, dando origem a formação de um pellet marrom. O sobrenadante contendo o DNA foi transferido para outro tubo falcon com 3 ml de isopropanol 100%. A solução foi invertida diversas vezes até que ocorresse a formação de novelos de DNA e centrifugada a 3400 rpm por 3 minutos dando origem a um pellet branco. Novamente o sobrenadante foi descartado e foi adicionado 3 ml de etanol 70% seguido de centrifugação a 3400 rpm por 1 minuto. Após retirada do sobrenadante, os tubos foram deixados a temperatura ambiente por 15 minutos. Para hidratação do DNA foi adicionado 200-250 µl de tampão TE 1x e deixado a temperatura ambiente por 12-24 horas. O DNA foi armazenado entre 2-8°C. Para paciente do caso 013, o DNA foi extraído de esfregaço da mucosa utilizando-se kit |All pre DNA da Qiagen ®.

3.4 SEQUENCIAMENTO COMPLETO DE EXOMA (WES)

As amostras de DNA foram enviadas para sequenciamento na Macrogen Humanizing Genomics, na Coreia do Sul. A captura de regiões alvo foi realizada por meio do método Sureselect V6 (Agilent, EUA) seguido de sequenciamento de nova geração em plataforma HiScanSQ (Illumina, EUA). Os dados brutos do sequenciamento foram inseridos na plataforma Franklin (Genoox, Israel) para a análise e busca de variantes responsáveis pela etiologia das patologias.

A técnica de sequenciamento de nova geração é aplicada para a detecção de alterações em variantes, permitindo a aplicação de filtros de análise que auxiliam na busca por variantes correlacionadas a alteração patológicas já descritas anteriormente. A análise das variantes foi realizada utilizando a plataforma Franklin (www.genoox.com). Durante a análise foi possível importar os dados de sequenciamento para configurar nosso próprio pipeline. Uma série de filtros foi aplicada para obter um conjunto de variantes candidatas causadoras de doenças: (1) variantes removidas por erro de leitura ou baixa cobertura; (2) filtragem baseada em efeito deixando restrito o modo: *frameshift*, *missense*, *nonsense* e *splicing*. (3) filtro para zigosidade, deixando homocigoto e heterocigoto (4) filtros de características fenotípicas da paciente foram utilizados. Além

destes filtros, uma análise das variantes restantes foi realizada individualmente de acordo com o quadro clínico apresentado e a classificação do ACMG.

4. RESULTADOS E DISCUSSÕES INDIVIDUAIS

Em uma coorte de 21 pacientes brasileiros com fenótipos complexos relacionados a malformações craniofaciais, sem etiologia molecular previamente elucidada, a abordagem conjunta entre a fenotipagem e a análise genômica permitiu estabelecer um diagnóstico molecular em 62% dos casos (13/21). Este rendimento diagnóstico robusto, alcançado através da identificação de variantes patogênicas em 13 genes distintos, não apenas elucidou a causa de quadros individuais, mas também contribuiu para a expansão do espectro clínico de condições raras. Os achados detalhados para cada paciente estão sumarizados no Tabela 1 que se encontra a seguir:

Tabela 1. Resultado da análise genética dos casos relacionados à síndromes de malformações craniofaciais.

Caso	Gene afetado	Variantes causadoras de doença	Efeito na proteína	Zigossidade	ACMG classification	Clínica
1	<i>TCOF1</i>	c.1812dupT	p.Val605fs	Het	Possivelmente patogênica PVS1 e PM2	Dismorfias faciais típicas, baixa estatura e hipogonadismo
2	<i>PTEN</i> <i>EYAI</i>	c.737C>T* c.1523C>T*	p.Pro246Leu p.Ala508Val	Het Het	Patogênica PM1, PP2, PM2 e PP5 VUS PM2 e PP3	Surdez, dismorfias faciais, macrocefalia, fenda palatina e deficiência intelectual
3	<i>ATRX</i>	c.736C>T	p.Arg246Cys	Hom	Patogênica PM1, PP3 e PM2	Microcefalia e dismorfias faciais
4	<i>SOX2</i>	c.244_245delTT	p.Leu82fs	Het	Patogênica PVS1, PM2 e PP5	Microcefalia, deficiência intelectual, baixa estatura e dismorfias faciais
5	<i>SMAD4</i>	c.1498A>G	p.Ile500Val	Het	Patogênica PM1, PP2 e PM2, PM5 e PP3	Deficiência auditiva, dismorfias faciais e alterações ósseas
6	<i>SHH</i>	c.80delG	p.Gly27fs	Het	Possivelmente patogênica PVS1 e PM2	Holoprosencefalia e dismorfias faciais
7	<i>SHH</i>	c.824C>A	p.Ala275Glu	Het	Possivelmente patogênica PM1, PM2, PP2, PP3 e PP5	Dismorfias faciais, alterações ósseas e de membro
8	<i>LMNA</i>	c.898G>C	p.Asp300His	Het	Possivelmente patogênica PM1, PP2, PM5 e PP3	Dismorfias faciais progeróides e alterações esqueléticas

9	<i>DVL2</i>	c.1556delT	p.Leu519fs	Het	VUS PM2	Dismorfias faciais, alterações ósseas e de membros, hipogonadismo
10	<i>MIDI1</i>	c.1514_1520del	p.Thr505Asnfs Ter24	Hem	Possivelmente patogênica PVS1 e PM2	CA e dismorfias
11	<i>ACBT</i>	c.173C>T	p.Ala58Va	Het	Patogênica PM1, PP2, PM2, PP3 e PP5	Deficiência intelectual, dismorfias faciais
12	<i>FLNA</i>	c.3896A>C	p.Asn1299Thr	Hem	VUS PP2, PPM2	Dismorfias faciais, defeito de fechamento de linha média, fenda lábio palatina, deficiência intelectual
13	<i>NSDHL</i>	c.543+1G>A	Região de <i>splicing</i>	Hem	Possivelmente patogênica PVS1, PM2	Hemi-hiperplasia lado direito
14	Inconclusivo		-			Cardiopatía congênita e dismorfias
15	Inconclusivo		-			Holoprosencefalia alobar e dismorfias faciais
16	Inconclusivo		-			Malformação auricular, dentária e dismorfias faciais
17	Inconclusivo		-			Displasia mesodérmica pós axial e dismorfismo facial
18	Inconclusivo		- -			Dismorfias faciais, surdez, alteração de membros e malformação cardíaca

			-	
19	Inconclusivo		-	Dismorfias faciais
20	Inconclusivo		-	Macrocefalia e dismorfias faciais
21	Inconclusivo		-	Dismorfias faciais e alterações ósseas

Tabela 1 .Caracterização clínica e molecular da coorte estudada: variantes identificadas, genes associados e conclusão diagnóstica via sequenciamento completo do exoma.

Foram identificadas variantes nos genes: *PTEN*, *ATRX*, *SOX2*, *DVL2*, *SMAD4*, *FLNA*, *SHH*, *LMNA*, *NSDHL*, *EYAI*, *MIDI*, *TCOF1* e *ACTB*. Em um paciente duas variantes distintas foram relacionadas ao seu quadro. A identificação destas variantes destaca a notável heterogeneidade genética subjacente aos fenótipos craniofaciais e a importância chave das vias de sinalização no controle de seu desenvolvimento.

A seguir se encontram as descrições clínicas, resultados e discussões individuais de cada um dos casos clínicos aqui relatados.

4.1 CASO 01 - VARIANTE PATOGÊNICA NO GENE *TCOF1*

4.1.1 Descrição clínica

O paciente do sexo masculino, sem relato de consanguinidade na família, foi encaminhado ao serviço de genética por apresentar malformações craniofaciais e hipogonadismo, levantando a suspeita de uma síndrome semelhante à de Treacher Collins (TCS). Ao exame dismorfológico, o indivíduo exibe baixa estatura e um fenótipo facial altamente sugestivo de disostose mandibulofacial. O quadro é marcado por microtia e orelhas malformadas, presença de fenda palatina, e uma anomalia mandibular evidente com queixo pequeno e retraído (micrognatia e retrognatia) e borda irregular. Adicionalmente, apresenta testa ampla, raiz nasal alta e nariz projetado para frente.

4.1.2 Resultado da análise de WES

A análise de seu exoma revelou uma duplicação no gene *TCOF1*: *TCOF1*:c.1812dupT:p.Val605fs em heterozigose. Esta variante é caracterizada pela inserção de uma base no éxon 5 do gene *TCOF1*, localizado no cromossomo 5 (Chr5: 149,755,793) ocasionando uma mudança na matriz de leitura (*frameshift*) deste gene. Na **Figura 3** pode-se observar em detalhes a variante aqui encontrada.

A variante c.1812dupT do gene *TCOF1* teve classificação provavelmente patogênica preenchendo os critérios PVS1 e PM2 do ACMG. A prioridade desta variante foi considerada alta em todos os critérios: classificação computacional da variante, confiança da variante, conexão com o fenótipo do caso e modo de herança do gene. A variante c.1812dupT também não foi observada em nenhum dos bancos de

dados populacionais, sugerindo que é uma variante muito rara na população. Esta variante atingiu Alto Grau de Confiança em seu sequenciamento, atingindo todos os parâmetros de confiabilidade. Há 124 publicações relacionando variantes neste gene ao fenótipo pesquisado.

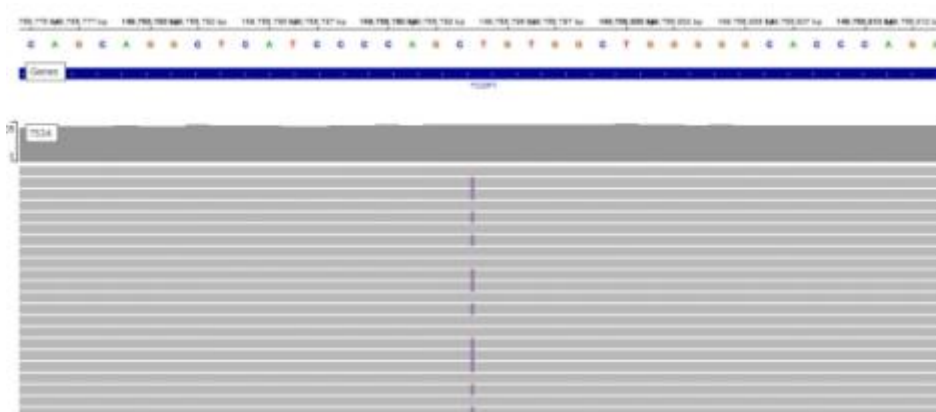


Figura 3. Variante no gene *TCOF1*. A marcação em roxo representa o local da inserção no gene *TCOF1*:c.1812dupT:p.Val605fs.

4.1.3 Discussão

O gene *TCOF1* (treacle ribosome biogenesis factor), localizado no braço longo do cromossomo 5 (5q32), desempenha um papel fundamental no desenvolvimento craniofacial durante a embriogênese, sendo crítico para a especificação da crista neural (NC). Variantes neste gene estão associadas à TCS, uma condição geneticamente heterogênea também conhecida como disostose mandibulofacial. Durante o desenvolvimento embrionário, o *TCOF1* atua como um regulador central após sofrer monoubiquitinação pelo complexo BCR, processo que facilita sua interação com a proteína Nolc1. Essa associação permite que o *TCOF1* funcione como uma plataforma molecular, conectando a RNA polimerase I a enzimas envolvidas no processamento e modificação ribossômica. Esse mecanismo reprograma o perfil translacional das células em diferenciação, direcionando-o para a especificação da NC, um passo essencial para a formação de estruturas craniofaciais (PubMed: 26399832).

A TCS é caracterizada por anomalias na diferenciação do primeiro e segundo arcos faríngeos, resultando em fenótipos como microtia com perda auditiva condutiva, fissuras palpebrais oblíquas, hipoplasia da face média, micrognatia, fenda palatina esporádica e atresia ou estenose coanal. A incidência da TCS é estimada em 1 para cada 50.000 nascidos vivos, com cerca de 40% a 50% dos casos apresentando perda auditiva

condutiva, atribuída principalmente a malformações dos ossículos e hipoplasia do ouvido médio (Marszałek-Kruk et al., 2022; Chang e Steinbacher, 2012).

Geneticamente, a TCS é dividida em quatro subtipos: TCS1 (MIM 154500) (associada a variantes no *TCOF1*), TCS2 (MIM 613717) (ligada a variantes no *POLR1D*), TCS3 (MIM 618939) (relacionada a variantes no *POLR1C*) e TCS4 (MIM 618939) (vinculada a variantes no *POLR1B*), refletindo sua heterogeneidade molecular (Treacher Collins Syndrome Collaborative Group, 1996; Dauwerse et al., 2011; Schaefer et al., 2014; Noack Watt et al., 2021). A herança é autossômica dominante, com expressividade fenotípica variável, porém sem afetar o desenvolvimento neurológico. Essa especificidade ocorre porque as variantes no *TCOF1* impactam seletivamente as células da crista neural (NCs) envolvidas na formação craniofacial, preservando aquelas que contribuem para o sistema nervoso central (Dixon et al., 2006).

Em nível molecular, mais de 120 variantes já foram identificadas no *TCOF1*, incluindo variantes de *splicing*, *nonsense* e deleções. Todas essas alterações resultam na inserção prematura de um códon de parada, levando à haploinsuficiência da proteína Treacle, codificada pelo gene. A Treacle está envolvida na biogênese ribossomal, integrando-se ao complexo de pré-processamento do rRNA e participando de sua metilação. Estudos em modelos murinos demonstram que a expressão máxima do *TCOF1* ocorre no neuroepitélio embrionário, processo frontonasal e arcos branquiais, corroborando seu papel no desenvolvimento craniofacial. Além disso, embora as variantes não interfiram na migração das células da NC, observa-se uma redução significativa em sua população em camundongos heterozigotos, o que explica as malformações teciduais sem comprometimento neurológico (Jones et al., 2008; Trainor e Andrews, 2013).

4.1.4 Conclusão

A variante *TCOF1*:c.1812dupT:p.Val605fs, classificada como provavelmente patogênica (critérios ACMG PVS1 e PM2), está diretamente associada às características clínicas clássicas de TCS observadas no paciente, como hipoplasia mandibular, fenda palatina e malformações auriculares. Sua ausência em bancos populacionais e a forte correlação com fenótipos craniofaciais consolidam seu papel etiológico. No entanto, a baixa estatura grave do paciente não pode ser a princípio explicada por essa alteração

e não foram identificadas outras alterações pelo sequenciamento de exoma que expliquem a baixa estatura.

4.2 CASO 02 - VARIANTES PATOGÊNICAS NOS GENES *PTEN* E *EYA1*

4.2.1 Descrição clínica

A paciente do sexo feminino, sem consanguinidade parental, foi encaminhada ao serviço de genética por apresentar deficiência intelectual, deficiência auditiva e um quadro dismorfológico com malformações craniofaciais e anomalias de membros. Ao exame, nota-se assimetria facial, fronte ampla e macrocefalia. As dismorfias faciais incluem sobrelanceadas no terço distal com sínófris leve, fendas palpebrais oblíquas para cima (direita) e retas (esquerda) com epicanto inverso bilateral, e fenda labiopalatina bilateral. A região nasal exibe raiz média alta e um dorso nasal largo e projetado, com base nasal larga, columela grossa e filtro curto e bem marcado. Nas extremidades, a paciente apresenta sindactilia no terço proximal dos 2º e 3º e 3º e 4º pododáctilos bilateralmente, além de aumento da distância entre o 1º e 2º pododáctilos direitos, sublinhando um complexo defeito de desenvolvimento das extremidades.

4.2.2 Resultado da análise de WES

A análise do WES dessa paciente revelou a existência uma variante patogênica e uma VUS, no gene *PTEN* (*PTEN*:c.737C>T:p.Pro246Leu) e outra no gene *EYA1* (*EYA1*:c.1523C>T:p.Ala508Val).

A variante no gene *PTEN* é caracterizada pela substituição de uma única base em região codificante do éxon 7, localizado no cromossomo 10 (Chr10:89717712), com consequente substituição do aminoácido prolina por leucina. Esta variante foi classificada como patogênica preenchendo os critérios PM1, PP2, PM2 e PP5 do ACMG Guidelines. A prioridade desta variante foi considerada alta e muito alta nos critérios: classificação computacional da variante, confiança da variante, conexão com o fenótipo do caso e modo de herança do gene. A variante *PTEN*:c.737C>T foi reportada na Franklin Community Frequency em 5 diferentes casos como causa da patologia em casos onde o fenótipo corresponde a parte do caso estudado, além disto, esta variante não foi observada em nenhum dos bancos de dados populacional, sugerindo que é uma

variante muito rara na população. A variante também foi descrita 5 vezes no ClinVar relacionada a síndrome de Cowden (MIM 158350) e a síndrome do tumor hamartoma *PTEN* (MIM 601728). Na **Figura 4** pode-se observar em detalhes a variante aqui encontrada. A variante atingiu Alto Grau de Confiança em seu sequenciamento, atingindo todos os parâmetros de confiabilidade. Há 16606 publicações descrevendo variantes patogênicas neste gene, e outras 17 esta mesma variante.

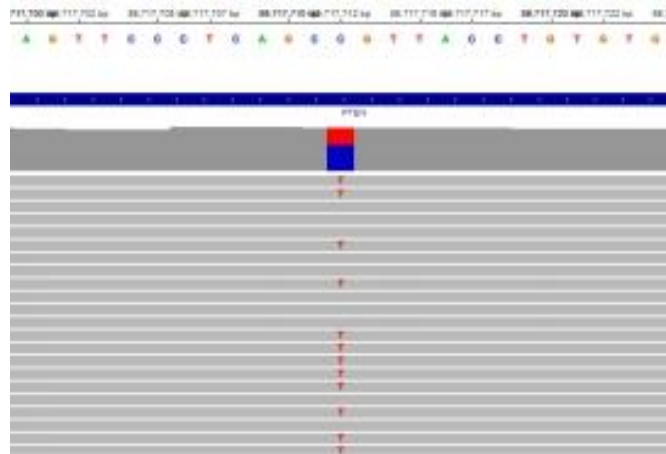


Figura 4. Variante no gene *PTEN*. No retângulo vermelho está a substituição de base na região codificante do gene *PTEN*:c.737C>T:p.Pro246Leu.

A segunda variante também se refere à uma substituição de uma única base na região codificante do éxon 16 do gene *EYAI*, localizado no cromossomo 8 (Chr8:72127696), com consequente substituição do aminoácido alanina por valina. Esta variante foi VUS preenchendo os critérios PM2 e PP3 do ACMG Guidelines. A prioridade desta variante foi considerada alta e muito alta nos critérios: classificação computacional da variante, confiança da variante, conexão com o fenótipo do caso e modo de herança do gene. A variante *EYAI*:c.1523C>T:p.Ala508Val foi reportada na Franklin Community Frequency em 7 diferentes casos como causa da patologia, além disto, esta variante não foi observada em nenhum dos bancos de dados populacional, sugerindo que é uma variante muito rara na população. Na **Figura 5** pode-se observar em detalhes a variante aqui encontrada. A variante também foi descrita 1 vez no ClinVar relacionada a síndrome de Melnick-fraser (MIM 113650). A variante atingiu alto grau de confiança em seu sequenciamento, atingindo todos os parâmetros de confiabilidade. Há 234 publicações reportando variantes patogênicas relacionadas a este gene.



Figura 5. Variante no gene *EYAI*. O retângulo verde indica troca de base na região codificante do gene *EYAI*:c.1523C>T:p.Ala508Val.

4.2.3 Discussão

O termo síndrome do tumor hamartoma *PTEN* (PHTS) tem sido usado para se referir a um espectro de distúrbios que têm sido associados à variantes germinativas no gene homólogo da fosfatase e tensina (*PTEN*), incluindo síndrome de Cowden (CS), síndrome de Bannayan-Riley-Ruvalcaba (BRRS), doença de Lhermitte-Duclos em adultos (LDD) e distúrbios do espectro autista associados à macrocefalia (Pilarski et al., 2019)

O gene *PTEN* é um supressor de tumor que freia a cascata de sinalização promotora de crescimento PI3K/AKT/mTOR (Eng et al., 2001). A disfunção do *PTEN* causa desregulação desta e de outras vias, resultando em crescimento excessivo (Hyman et al., 2005). A síndrome de Cowden, uma predisposição hereditária ao câncer e distúrbio de crescimento excessivo, foi a primeira condição mendeliana associada a variantes germinativas do *PTEN* (Eng, 1997). Desde então, avanços significativos da comunidade científica e médica elucidaram como as manifestações fenotípicas clínicas resultam das variantes germinativas subjacentes do *PTEN* (Pilarski et al., 2019). Com o tempo, tornou-se evidente que as variantes *PTEN* podem resultar num amplo espectro fenotípico, causando distúrbios aparentemente díspares, desde câncer até autismo (Butler et al., 2005).

O gene *PTEN* (Phosphatase and Tensin Homolog) é um importante supressor de tumor e desempenha um papel crítico na regulação da proliferação, crescimento e sobrevivência celular. Localizado no braço longo do cromossomo 10 (10q23.3), o gene

PTEN codifica a proteína PTEN, que atua como uma fosfatase de lipídios. Como uma fosfatase lipídica, é conhecida por sinalizar a via PI3K/Akt chave no ciclo celular G1 e apoptose. Sua atividade de proteína fosfatase também demonstrou regular as vias de sobrevivência celular, como a via da quinase ativada por mitógeno (MAPK). Sua homologia com as moléculas de adesão focal tensina e auxilina sugere que pode desempenhar um papel na migração celular e na adesão focal. Assim, o *PTEN* poderia potencialmente desempenhar papéis significativos em uma série de vias moleculares que regulam proliferação celular, migração e apoptose, todos processos importantes na regulação do funcionamento celular normal e no crescimento (Tamguney e Stokoe 2007).

Variantes germinativas no *PTEN* também causam um subconjunto de casos de transtornos combinados do espectro do autismo e macrocefalia, com ou sem outro histórico pessoal ou familiar consistente com CS/BRRS (Butler et al. 2005; Herman et al. 2007). Há indícios de que o grau de macrocefalia possa indicar a probabilidade de encontrar uma variante. (Butler et al. 2005; Buxbaum et al. 2007).

Apesar da sobreposição de características fenotípicas da paciente com as síndromes do gene *PTEN*, a surdez permaneceu fora do espectro fenotípico encontrado para este gene até o momento (Eng, 2013). Por este motivo, continuou-se a investigação por causas genéticas que pudessem estar relacionadas à condição. Foi então identificada uma variante no gene *EYAI* (Abdelhak et al., 1997).

O gene *EYAI* está associado à síndrome de Branchio-Oto-Renal (BOR) (MIM 113650), uma doença genética rara de herança autossômica dominante, caracterizada por malformações no pescoço e orelhas, surdez congênita e anomalias renais. Essa síndrome tem etiologia genética heterogênea e, até o momento, três genes principais foram identificados como causadores da síndrome: *EYAI* (Abdelhak et al., 1997), *SIX1* (Ruf et al., 2004) e *SIX5* (Hoskins et al., 2007).

No estudo de Wang et al. (2018), uma família chinesa com BOR foi investigada para descobrir sua causa genética, identificando uma nova variação sem sentido heterozigótica no éxon 11 de *EYAI*, enquanto nenhum membro não afetado carregava a variante nesta posição. Os experimentos funcionais não detectaram *splicing* anormal ao nível de RNA; no entanto, o western blotting mostrou que a proteína mutante estava truncada. Neste estudo, os fenótipos clínicos da síndrome BOR mostraram alta heterogeneidade (Smith et al., 2012). As variações fenotípicas são comuns para

linhagens afetadas devido à penetrância incompleta e expressividade variável dentro ou entre famílias. Os membros afetados desta família também apresentaram fenótipos diferentes.

O gene *EYA1* é um gene altamente conservado e desempenha um papel fundamental no desenvolvimento embrionário e em diversos processos fisiológicos. Este gene está presente em uma ampla variedade de espécies, desde invertebrados até mamíferos, incluindo os seres humanos. Ele codifica uma proteína tirosina fosfatase que atua como um importante regulador de vias de sinalização e expressão gênica. Além disso, a proteína *EYA* está envolvida na formação e função de vários tecidos e órgãos, desempenhando um papel crucial no desenvolvimento normal. *EYA1* é altamente expresso no rim embrionário humano, enquanto é pouco expresso no cérebro e no pulmão. Em adultos, o *EYA1* é fortemente expresso no coração e nos músculos esqueléticos, enquanto uma expressão mais fraca foi observada no fígado e no cérebro; nenhuma expressão foi observada nos olhos e rins (Xu et al., 2013). Além disso, *EYA1* está sujeito ao efeito de dosagem gênica, o que implica que a quantidade da proteína codificada decide o desenvolvimento do arco branquial, ouvido e rim; a atividade do gene é discernível apenas se a quantidade de proteína codificada ultrapassar um certo limiar (Wang et al., 2015).

O gene *EYA1* está localizado no braço curto do cromossomo 8 (8q13.3) é responsável pela produção da proteína *EYA*, que possui quatro domínios conservados: o domínio de tirosina fosfatase, o domínio de ativação dependente de histidina (HAD), o domínio de interação com o fator SIX (D-SIX) e o domínio transativador (Ozaki et al., 2002; Xu et al., 2013). Esses domínios desempenham funções específicas na atividade da proteína *EYA*.

A proteína *EYA* funciona como uma tirosina fosfatase, revertendo a fosforilação de proteínas-alvo específicas, afetando, assim, suas atividades. Ela interage com outras proteínas importantes, como os fatores SIX, e desempenha um papel vital na regulação de vias de sinalização como o desenvolvimento de órgãos, proliferação celular, apoptose, regeneração tecidual e reparo de DNA (Xu et al., 2013).

4.2.4 Conclusão

A variante *PTEN:c.737C>T:p.Pro246Leu*, classificada como patogênica (critérios ACMG PM1, PP2, PM2, PP5), está associada às características clínicas de macrocefalia, dismorfias faciais e risco aumentado para síndromes hamartomatosas (compatíveis com o espectro PHTS (síndrome do tumor hamartoma *PTEN*). A presença desta variante em bancos de dados clínicos e sua raridade populacional reforçam seu papel na etiologia das manifestações.. Já a variante *EYAI:c.1523C>T:p.Ala508Val*, classificada como VUS (critérios PM2, PP3), embora não definitivamente patogênica, apresenta plausibilidade biológica para explicar a surdez congênita e alterações auditivas, considerando o papel do gene *EYAI* na BOR e seu envolvimento no desenvolvimento do ouvido interno.

A combinação das duas variantes — uma patogênica (*PTEN*) e uma de significado incerto (*EYAI*) — sugere um quadro clínico resultante de efeitos aditivos, onde a variante em *PTEN* explica as características dismórficas, enquanto a variante em *EYAI* pode contribuir para a surdez e anomalias adicionais. Este caso ilustra a complexidade da sobreposição fenotípica em síndromes geneticamente heterogêneas, destacando a necessidade de integrar análises genômicas detalhadas com avaliações clínicas multissistêmicas para elucidar fenótipos multifatoriais. A coexistência de variantes em genes distintos reforça a importância de considerar interações genéticas e pleiotropia em diagnósticos complexos.

4.3 CASO 03 - VARIANTE PATOGÊNICA NO GENE *ATRX*

4.3.1 Descrição Clínica

Paciente do sexo masculino, filho de pais não consanguíneos, é encaminhado ao serviço de genética aos cinco meses de idade devido à presença de atraso do desenvolvimento neuropsicomotor, microcefalia e pequenas dismorfias faciais: baixa implantação de cabelos em fronte, hirsutismo na fronte, sinofres, epicanto bilateral, fendas retas, raiz nasal média, dorso alargado, filtro nasolabial mérdio e pouco marcado, língua protusa, orelhas de implantação límitrofe e proeminentes. Encurtamento de 5 dedo. Pregas palmares sem presença de sulco halucal. O paciente também apresentou criptorquidismo à esquerda. Esta combinação de falha de crescimento encefálico e

comprometimento funcional precoce sugere fortemente uma encefalopatia do desenvolvimento de etiologia genética.

4.3.2 Resultado da análise de WES

A partir da análise deste paciente foi encontrada uma variante patogênica no gene *ATRX*, *ATRX:c.736C>T:p.Arg246Cys*. Esta variante é caracterizada pela substituição de base única, com consequência na substituição do aminoácido arginina por cisteína, em região codificante do éxon 9 do gene *ATRX*, no cromossomo X, (ChrX:76940012). Esta variante foi classificada como patogênica preenchendo os critérios PM1, PP3 e PM2 do ACMG Guidelines. A prioridade desta variante foi considerada alta e muito alta nos critérios: classificação computacional da variante, confiança da variante, conexão com o fenótipo do caso e modo de herança do gene. A variante *ATRX:c.736C>T* foi reportada no ClinVar em cinco diferentes casos como causa da patologia em casos onde o fenótipo está relacionado a malformações do sistema nervoso. Na **Figura 6** pode-se observar em detalhes a variante aqui encontrada.



Figura 6. Variante no gene *ATRX*. O retângulo em verde representa o local da troca de base *ATRX:c.736C>T:p.Arg246Cys*.

4.3.3 Discussão

A proteína codificada pelo gene *ATRX* pertence à família SWI/SNF de remodeladores de cromatina, que atuam na reorganização da estrutura nucleossômica para regular processos genéticos (Gibbons et al., 2003). Essa proteína passa por fosforilação dependente do ciclo celular, modificação que controla sua localização nuclear e interação com a cromatina, indicando seu papel na regulação gênica durante a interfase e na segregação cromossômica durante a mitose (Xue et al., 2003). Variantes

nesse gene estão associadas a síndromes de herança ligada ao cromossomo X (MIM 309580), que incluem deficiência intelectual e alfa-talassemia, uma condição caracterizada pela síntese reduzida de cadeias de alfa globina (Gibbons et al., 1995; Picketts et al., 1996).

A síndrome de deficiência intelectual ligada ao X alfa-talassemia (ATR-X) (MIM 300032) é caracterizada por dismorfias craniofaciais distintas, anomalias genitais, hipotonia e atraso de desenvolvimento/deficiência intelectual leve a grave (Gibbons et al., 1995). As anormalidades craniofaciais incluem perímetro cefálico pequeno, telecanto ou hipertelorismo, nariz curto, lábio superior em tenda e lábio inferior grosso ou evertido com características faciais grosseiras ao longo do tempo (Guerrini et al., 2000). Embora todos os indivíduos afetados tenham um cariótipo 46, XY normal, as anomalias genitais incluem hipospádia e criptorquidia, até genitália ambígua ou aparentemente feminina (Gibbons et al., 2003). A alfa-talassemia, observada em cerca de 75% dos indivíduos afetados, é leve e normalmente não requer tratamento (Gibbons et al., 1995). Osteossarcoma foi relatado em alguns homens com variantes patogênicas em *ATR-X* (De La Fuente et al., 2013).

O gene *ATR-X* possui regiões altamente conservadas onde não são encontradas variantes, como as regiões codificantes do *zinc finger* e do terminal N (Gibbons et al., 1997). O domínio ADD é onde está localizada a variante deste caso. Variantes no domínio semelhante ao PHD do gene *ATR-X* correlacionam-se com comprometimento psicomotor grave e anomalias urogenitais graves em pacientes com síndrome *ATR-X* (Argentaro et al., 2007). As variantes da síndrome *ATR-X* residem quase exclusivamente em algum um desses dois domínios, ADD ou PHD (Fig. 1A) (Xue et al., 2003).

O domínio helicase do *ATR-X* possui atividade de translocase de DNA via hidrólise dependente de ATP. Na verdade, a inativação por variantes neste domínio resulta em defeitos de translocase, e uma variante específica causadora de doença desacopla a hidrólise do ATP da ligação ao DNA (Mitson et al., 2011). O domínio ADD, afetado neste caso contém um domínio semelhante ao GATA e um dedo PHD (plant homeodomain), que juntos reconhecem H3K9me3 quando não metilado em H3K4 (Dhayalan et al., 2011; Eustermann et al., 2011; Iwase et al., 2011). Curiosamente, uma variante sem sentido no resíduo 37 do *ATR-X* está associada a um fenótipo mais leve do que aquele associado a variantes missense nos domínios ADD e helicase (Guerrini et al., 2000). A variante sem sentido no resíduo 37 é separada de um subconjunto de

transcritos, o que restaura parcialmente a função da proteína *ATRX*. Na verdade, foi proposto que virtualmente todas as variantes em pacientes com síndrome *ATRX* representam hipomorfismo causado por efeitos desestabilizadores da proteína (Gibbons et al., 2003).

Consistentemente com a hipótese de que o *ATRX* é necessário para o desenvolvimento embrionário, os camundongos nulos para *Atrx* morrem em E9.5 (Garrick et al., 2006). Além disso, a inativação condicional do *Atrx* no prosencéfalo em desenvolvimento resulta em letalidade perinatal. O córtex frontal, subículo e hipocampo são reduzidos em tamanho, e o giro denteado está completamente ausente em camundongos (Bérubé et al., 2005). Não há defeito na proliferação de células progenitoras neurais, mas as células sofrem apoptose à medida que saem do ciclo celular e iniciam seus programas de diferenciação. Este efeito parece ser celular autônomo. Assim, o fenótipo em camundongos é muito mais grave do que em humanos, porque os pacientes com variantes *ATRX*, geralmente, sobrevivem até a idade adulta. Estas descobertas em modelos de ratos geneticamente modificados são consistentes com a hipótese de que quase todos os alelos *ATRX* em pacientes com síndrome *ATRX* representam hipomorfos (Gibbons et al., 2008).

As variantes no *ATRX* são as únicas alterações genéticas que causam a síndrome *ATR-X*. Isto sugere que o *ATRX* é essencial para diversos processos de desenvolvimento nas linhagens ectodérmica (crista neural e sistema nervoso central [SNC]), mesodérmica (linhagem óssea e eritróide) e endodérmica (genitália) (Gibbons et al., 2008).

4.3.4 Conclusão

O paciente apresenta um quadro clínico compatível com a síndrome *ATRX*, caracterizada por microcefalia, dismorfias faciais e atraso do desenvolvimento neuropsicomotor, fenótipo que se sobrepõe significativamente às manifestações associadas a variantes no gene *ATRX*. A identificação da variante patogênica *ATRX:c.736C>T* (p.Arg246Cys), localizada no éxon 9, reforça essa correlação. Classificada como patogênica conforme os critérios PM1, PP3 e PM2 das Diretrizes ACMG, essa variante promove a substituição de arginina por cisteína em um domínio crítico da proteína (ADD), afetando sua interação com a cromatina e

corroborando os achados de comprometimento no neurodesenvolvimento e em malformações sistêmicas.

A presença dessa variante em cinco casos relatados no ClinVar, associados a fenótipos similares, confirma seu papel etiológico. Adicionalmente, o modo de herança ligado ao X justifica a investigação genética da mãe para determinar a origem da variante (esporádica ou herdada) e fornecer orientação adequada sobre o risco de recorrência. Recomenda-se acompanhamento multidisciplinar para o paciente, visando manejar as comorbidades clínicas, e aconselhamento genético familiar para esclarecer implicações reprodutivas futuras.

4.4 CASO 04 - VARIANTE PATOGÊNICA NO GENE *SOX2*

4.4.1 Descrição clínica

Indivíduo do sexo masculino, sem relato de consanguinidade parental, é encaminhado ao serviço de genética por apresentar microcefalia, deficiência intelectual, baixa estatura e dismorfias faciais proeminentes. Ao exame dismorfológico, o paciente exibe um padrão de microbraquicefalia com implantação capilar alta na fronte e na nuca. As características faciais são marcadas por olhos de implantação profunda com fendas palpebrais oblíquas para cima, sobrancelhas com rarefação distal, raiz nasal alta, nariz adunco com hipoplasia das asas nasais, filtro curto, lábio superior grosso e lábio inferior evertido. Além disso, a dentição mostra-se desalinhada com aumento da distância entre os incisivos centrais inferiores. Os achados sistêmicos incluem heterocromia abdominal, postura com tronco inclinado para frente, assimetria de membros inferiores e pés cavus.

4.4.2 Resultado da análise de WES

A análise do exoma do indivíduo revelou uma deleção patogênica em heterozigose no gene *SOX2*:c.244_245delTT:p.Leu82fs. Esta variante é caracterizada pela deleção de duas bases no exon 3 do gene *SOX2* localizado no cromossomo 3 (chr3-181430389), gerando uma mudança no quadro de leitura deste gene. Esta variante foi classificada como patogênica preenchendo os critérios PVS1, PM2 e PP5 do ACMG Guidelines. A variante *SOX2*:c.244_245delTT foi reportada na Clinvar em um caso de síndrome de anoftalmia-atresia esofágica. Na **Figura 7** pode-se observar em detalhes a variante aqui

encontrada. Esta variante não foi observada em nenhum dos bancos de dados populacionais, sugerindo que é uma variante muito rara na população. Há 3625 publicações relacionando variantes neste gene a patologias humanas, e outros dois estudos relacionando esta mesma variante.



Figura 7. Variante no gene *SOX2*. O retângulo em branco representa o local deleção *SOX2*:c.244_245delTT;p.Leu82fs

4.4.3 Discussão

O gene *SOX2* é membro da família SRY-related HMG-box (SOX) de fatores de transcrição envolvidos na regulação do desenvolvimento embrionário e na determinação do destino celular durante a embriogênese. O produto desse gene é necessário para a manutenção das células-tronco no sistema nervoso central e para a regulação da expressão do gene no estômago. Variantes nesse gene têm sido associadas à hipoplasia do nervo óptico e à microftalmia síndrômica (MIM 206900), uma forma grave de malformação estrutural do olho. O espectro fenotípico do transtorno de *SOX2* inclui anoftalmia e/ou microftalmia, malformações cerebrais, deficiência intelectual, atresia esofágica, hipogonadismo hipogonadotrófico, hipoplasia hipofisária, retardo de crescimento pós-natal, hipotonia, convulsões e movimentos espásticos ou distônicos. É importante salientar que, com o uso generalizado atual de testes genéticos moleculares avançados, ficou evidente que o espectro clínico associado às variantes patogênicas do *SOX2* inclui fenótipos com achados oculares mínimos ou ausentes (Williamson, et al., 2020).

O gene *SOX2* é um fator de transcrição essencial para o desenvolvimento embrionário, desde os primeiros estágios de formação até o estabelecimento do sistema nervoso. Sua função é crítica e precoce: é expresso na massa celular interna do embrião

de camundongo, e sua ablação por uma variante nula homozigótica resulta na interrupção do desenvolvimento embrionário logo após a implantação (Avilion et al., 2003). Dada a sua importância na manutenção das células-tronco pluripotentes iniciais, o *SOX2* foi subsequentemente identificado como um dos quatro fatores centrais capazes de reprogramar células somáticas diferenciadas, gerando células-tronco pluripotentes induzidas (iPSC) (Takahashi & Yamanaka, 2006; Takahashi et al., 2007).

Posteriormente no desenvolvimento, a expressão de *SOX2* marca a formação do sistema nervoso (neuroepitélio), sendo crucial para a manutenção da identidade e potência das células-tronco neurais (Pevny & Placzek, 2005). O *SOX2* preserva a identidade pluripotente nos estágios iniciais e, mais tarde, salvaguarda a identidade multipotente, sendo essencial para o estabelecimento de diversas linhagens embrionárias e a manutenção de pools progenitores na vida pós-natal (Arnold & Robertson, 2009; Favaro et al., 2009; Sarkar & Hochedlinger, 2016).

A regulação de *SOX2* é vital para a morfogênese craniofacial devido ao seu papel no controle do fluxo da Transição Epitelial-Mesenquimal (EMT), que gera as NCCs. Níveis elevados de *SOX2* no ectoderma inibem a formação de NCCs, enquanto sua regulação negativa precisa é necessária para que ocorra a delaminação e migração de NCCs em números adequados na região da cabeça (Adikusuma et al., 2017; Rogers et al., 2012). A ablação específica de *SOX2* no epiblasto leva a um acúmulo anormal de NCCs *SOX10+*, resultando em malformações anteriores graves, hidrocefalia e truncamentos frontonasais em embriões mutantes. O controle temporal exercido pelo *SOX2* nas decisões de diferenciação, além de sua interação com outros fatores, como o complexo CHD7, sublinha o seu papel fundamental na regulação da heterocronia genética e na etiologia das neurocristopatias (Bajpai et al., 2010; Graham et al., 2003).

A expressão *SOX2* é ativada através de quatro principais vias de sinalização do desenvolvimento embrionário, incluindo HIPPO, SHH, WNT, FGFR e TGF- β (Sanchez-Ferras et al., 2014). Funções da via SHH para induzir a proliferação celular no desenvolvimento do SNC também estão implicadas na condução da tumorigênese no cérebro (Lai et al., 2003).

Variantes no gene *SOX2* estão relacionadas a síndrome anoftalmia-atresia esofágica. Esta síndrome pertence ao grupo das microftalmias sindrômicas e é caracterizada pela associação de anoftalmia ou microftalmia uni ou bilateral e atresia esofágica com ou sem fístula traqueoesofágica. Pode-se incluir anoftalmia clínica ou microftalmia com ou

sem defeitos do nervo óptico, quiasma óptico e trato óptico. Anormalidades extraoculares incluem anomalias cerebrais, convulsões, deficiência motora, atrasos neurocognitivos, perda auditiva neurosensorial e atresia esofágica. A hipoplasia da hipófise anterior é outra complicação importante, que frequentemente resulta em deficiência de hormônio do crescimento; no entanto, é provável que a deficiência de gonadotrofina seja a endocrinopatia, mais consistente em pacientes com variante *SOX2*. Os dismorfismos faciais observados com variantes *SOX2* são relativamente sutis, com testa alta, hipoplasia do terço médio da face, anti-hélice proeminente e um queixo proeminente.(Kelberman et al., 2010)

Múltiplos dentes supranumerários também estão presentes e geralmente não são sintomas solitários, indicando uma síndrome sistêmica, como a displasia cleidocraniana. Na odontogênese, muitos fatores transcricionais, como BMPs, FGFs e WNTs, desempenham papéis significativos e sabe-se que o *SOX2* interage com alguns deles. Apesar do conhecimento do papel do *SOX2* no desenvolvimento dentário humano ser apenas parcialmente compreendido, múltiplos dentes supranumerários podem ser considerados sintomas extraoculares da síndrome de anoftalmia do *SOX2*. Aproximadamente 60% das variantes *SOX2* são *de novo* (Gerth-Kahlert et al., 2013; Williamson et al., 2014). Variantes heterozigóticas de *SOX2* representam 10–20% de todos os indivíduos com anoftalmia ou microftalmia. A variante c.70del20 é a mais comum, representando 18–21% dos indivíduos com Anoftalmia relacionada a *SOX2* (Schneider et al., 2009; Reis et al., 2010; Zenteno et al., 2005)

Schneider et al. (2009) rastream o gene *SOX2* em 51 pacientes não aparentados com anoftalmia clínica e/ou microftalmia e identificaram variantes heterozigóticas em *SOX2* em 10 deles, incluindo 3 pacientes com a deleção recorrente de 20 pb (70del20; 184429.0010). A análise de todos os pacientes relatados com variantes *SOX2* sugeriu uma potencial correlação genótipo/fenótipo. Alterações missense geralmente resultaram em defeitos oculares menos graves.

Ensaio funcionais *in vitro* foram realizados apenas para um pequeno número de variantes (Schneider et al., 2009; Kelberman et al., 2008; Gerth-Kahlert et al., 2013). Além disso, enquanto Schneider et al. (2009) encontraram uma relação genótipo-fenótipo para a síndrome relacionada a *SOX2*, Kelberman et al. (2008) não visualizaram nenhuma correlação genótipo-fenótipo óbvia.

Embora cerca de 500 pacientes com anormalidades no *SOX2* tenham sido relatados até o momento (Schneider et al., 2009; Williamson et al., 2014; Zenteno et al., 2005; Reis et al., 2010; Gerth-Kahlert et al., 2013), a compreensão atual do espectro de variantes e determinantes fenotípicos desta condição permanece fragmentada.

4.3.1 Conclusão

A variante *SOX2*:c.244_245delTT (p.Leu82fs) foi classificada como patogênica conforme os critérios PVS1, PM2 e PP5 das Diretrizes ACMG, sendo considerada responsável pelo quadro clínico do paciente. Apesar da ausência de achados oftalmológicos evidentes, o espectro fenotípico associado a variantes no gene *SOX2* inclui casos com manifestações oculares mínimas ou inexistentes, conforme descrito na literatura recente. As características clínicas do paciente — microcefalia, dismorfias faciais (microbraquicefalia, hipoplasia nasal, filtro curto), deficiência intelectual, baixa estatura, alterações dentárias e assimetria de membros — sobrepõem-se significativamente às manifestações sistêmicas relatadas em síndromes relacionadas ao *SOX2*, como a síndrome de anoftalmia-atresia esofágica.

A variante identificada, uma deleção em heterozigose no éxon 3 do gene *SOX2*, resulta em mudança do quadro de leitura, comprometendo a função da proteína na regulação do desenvolvimento embrionário e na manutenção de células-tronco. Sua ausência em bancos populacionais e seu relato prévio no ClinVar em um caso com fenótipo similar reforçam seu papel etiológico. Considerando que aproximadamente 60% das variantes no *SOX2* são *de novo*, recomenda-se a investigação genética dos pais para esclarecer a origem da variante e oferecer aconselhamento genético adequado, incluindo orientações sobre risco de recorrência em futuras gestações. Além disso, sugere-se acompanhamento multidisciplinar para monitorar possíveis complicações endócrinas, neurológicas e odontológicas, bem como avaliação periódica para detectar manifestações oftalmológicas tardias.

4.10.4 Conclusão

A identificação da variante *ACTB*:c.173C>T:p.Ala58Val no paciente, classificada como patogênica segundo critérios ACMG (PM1, PP2, PM2, PP3, PP5), confirma sua associação com a BRWS. O fenótipo observado, incluindo microcefalia, dismorfismos

craniofaciais (sinofre, epicanto bilateral, raiz nasal baixa, retrognatia) e deficiência intelectual, alinha-se com as características clássicas dessa síndrome, embora a ausência de coloboma ou paquigiria frontal destaque sua variabilidade fenotípica.

A proteína *ACTB*, componente crítico do citoesqueleto, regula processos como migração, proliferação celular e sinalização nuclear. A substituição de alanina por valina no domínio funcional da actina compromete sua estrutura, impactando a dinâmica celular durante o desenvolvimento embrionário. Estudos em fibroblastos demonstram que a haploinsuficiência de *ACTB* altera a morfologia e migração celular, corroborando os defeitos observados em órgãos como cérebro, coração e rins.

A classificação como patogênica reforça o papel central do *ACTB* na BWCF, embora a heterogeneidade clínica exija diferenciação de outras síndromes. A ausência da variante em bancos populacionais e sua raridade ressaltam seu impacto diagnóstico. Este caso ilustra a importância do sequenciamento do exoma na elucidação de doenças raras e a necessidade de integrar dados genômicos, funcionais e clínicos para orientar o manejo multidisciplinar. Estudos futuros são essenciais para desvendar a relação entre variantes específicas de *ACTB/ACTG1* e a expressividade fenotípica, além de explorar estratégias terapêuticas direcionadas às disfunções do citoesqueleto.

4.5 CASO 05 - VARIANTE PATOGENICA NO GENE *SMAD4*

4.5.1 Descrição Clínica

Indivíduo do sexo masculino, sem relato de consanguinidade parental, é encaminhado por apresentar uma complexa sobreposição de defeitos: deficiência auditiva mista, atrofia renal e criptorquidia à direita, além de restrição articular e dismorfias faciais. Ao exame, o paciente exibe um fenótipo facial caracterizado por hipotelorismo ocular aparente e fendas palpebrais oblíquas para cima. As sobrancelhas são afiladas e também apresentam orientação oblíqua superior. A região nasal mostra raiz média, dorso alargado, columela curta e ponta nasal voltada para baixo, com oclusão dental de mordida aberta e palato sem anormalidades. As orelhas são pequenas e normoimplantadas, mas com desdobramento de hélices e anti-hélices proeminentes. Os achados sistêmicos incluem aparente hipertonia da musculatura abdominal.

4.5.2 Resultado da análise de WES

A análise do exoma do indivíduo revelou uma deleção em heterozigose no gene *SMAD4*:c.1498A>G;p.Ile500Val.

Esta variante é caracterizada pela substituição de base única, com consequência na substituição do aminoácido isoleucina por valina, em região codificante do exon 12 do gene *SMAD4*, localizado no cromossomo 18 (chr18:48604663-48604689). Esta variante foi classificada como patogênica preenchendo os critérios PM1, PP2 e PM2, PM5 e PP3 do ACMG Guidelines. Na **Figura 8** pode-se observar em detalhes a variante aqui encontrada.

A variante *SMAD4*:c.1498A>G foi reportada na 9 vezes no Clinvar em casos relacionados à síndrome de Myhre (MIM 139210). A síndrome de Myhre é caracterizada por forte constituição muscular, baixa estatura, mobilidade articular reduzida, braquidactilia, perda auditiva mista e deficiência intelectual de gravidade variável. Dismorfismo facial, hipoplasia maxilar e prognatismo está presente.



Figura 8. Variante no gene *SMAD4*. A marcação em laranja representa o local deleção *SMAD4*:c.1498A>G;p.Ile500Val.

4.5.3 Discussão

A síndrome de Myhre é um distúrbio do tecido conjuntivo com envolvimento multissistêmico, fibrose progressiva e proliferativa que pode ocorrer espontaneamente, após trauma ou cirurgia. Outros sinais incluem deficiência intelectual leve a moderada e, em alguns casos, transtorno do espectro autista. Os principais sistemas de órgãos envolvidos são: cardiovascular (defeitos cardíacos congênitos, estenose de segmentos longos e curtos da aorta e artérias periféricas, derrame pericárdico, pericardite

constritiva, cardiomiopatia restritiva e hipertensão); respiratório (estenose de coanas , estreitamento laringotraqueal, doença obstrutiva das vias aéreas ou doença pulmonar restritiva); gastrointestinal (estenose pilórica, estenose duodenal, constipação grave); e cutâneo (espessada principalmente nas mãos e superfícies extensoras). A típica *gestalt* facial inclui fissuras palpebrais curtas, hipoplasia da face média, filtro curto, prognatismo, boca estreita e orelhas pequenas. Prognatismo e pequenas fissuras palpebrais pareciam mais óbvias em pacientes mais velhos. Lábio superior fino e ptose foram observadas com menos frequência, assim como as fissuras de lábio e/ou palato (Lin et al., 2016).

Na síndrome de Myhre, a amplitude de movimento das articulações é consistentemente limitada, tanto em juntas pequenas quanto grandes (Lin et al., 2016; Le Goff et al., 2011). O andar na ponta dos pés foi observado em alguns casos (Cappuccio et al., 2017), enquanto a pseudo-hipertrofia muscular e a pele espessada são características frequentemente relatadas (Lin et al., 2016; Le Goff & Cormier-Daire, 2012). Esses sintomas explicam por que a síndrome de Myhre foi inicialmente considerada um diagnóstico diferencial de mucopolissacaridose (Le Goff & Cormier-Daire, 2012; Starr et al., 2014). A descoberta de variantes no gene *SMAD4* como causa subjacente (Le Goff et al., 2011) ajudou a distinguir essa condição de outras doenças metabólicas.

O gene *SMAD4* codifica uma proteína membro da família Smad de proteínas de transdução de sinal. As proteínas Smad são fosforiladas e ativadas por quinases do receptor de serina-treonina transmembranica em resposta à sinalização do fator de crescimento transformador (TGF)-beta. O produto desse gene forma complexos homoméricos e complexos heteroméricos com outras proteínas Smad ativadas, que então se acumulam no núcleo e regulam a transcrição dos genes alvo. A proteína codificada pelo gene *SMAD4* é um componente crucial das vias de sinalização de proteínas relacionadas a formação óssea. As proteínas Smad também estão sujeitas a regulação complexa por modificações pós-traducionais (Miyazawa e Miyazono K et al., 2017; Zhang, 2009).

A proteína SMAD4 pertence à família de oito membros das proteínas SMAD, dividida em três classes funcionais: os SMADs regulados por receptores (R-SMADs: *SMAD1*, 2, 3, 5 e 8), o co-mediador SMAD (*SMAD4*) e os SMADs inibitórios (*SMAD6*

e *SMAD7*). *SMAD2* e *SMAD3* respondem ao TGF β e à activina, enquanto *SMAD1*, 5 e 8 funcionam na via de sinalização de BMP (Derynck & Zhang, 2003; Massagué, 2008).

À primeira vista, a via de sinalização do TGF β parece ser um processo simples: ligantes ligam-se a receptores específicos que ativam por fosforilação os Smads intracelulares, retransmitindo o sinal para o núcleo para controlar a transcrição gênica (Massagué, 2012). Pesquisas recentes revelaram etapas complexas adicionais na via TGF β /SMAD, como a regulação negativa pelos SMADs inibitórios (I-SMADs: *SMAD6-7*), que se ligam a receptores ativados e bloqueiam a fosforilação dos R-SMADs (Derynck & Zhang, 2003; Schmierer & Hill, 2007).

Variantes no *SMAD4* foram identificadas em câncer pancreático, polipose juvenil (JPS), síndrome de JPS/HHT (MIM 175050) e síndrome de Myhre (Howe et al., 1998; Gallione et al., 2004; Le Goff et al., 2011). Não há correlações genótipo-fenótipo claras em pacientes com essas patologias (Calonge et al., 2010), mas o mecanismo subjacente ao câncer, JPS e HHT está associado à perda de função do *SMAD4* (Xu et al., 2000). Estudos sugerem que a degradação do *SMAD4* é um passo crítico na inativação da via TGF β em células cancerígenas (Schmierer & Hill, 2007; Xu et al., 2000).

4.5.4 Conclusão

A variante *SMAD4*:c.1498A>G (p.Ile500Val) foi classificada como patogênica de acordo com os critérios PM1, PP2, PM2, PM5 e PP3 das Diretrizes ACMG, sendo considerada responsável pelo quadro clínico do paciente. A sobreposição fenotípica com a síndrome de Myhre — incluindo deficiência auditiva mista, dismorfias faciais (hipotelorismo, fendas palpebrais oblíquas, raiz nasal alargada, orelhas pequenas), restrição articular, criptorquidia e alterações musculoesqueléticas — corrobora a associação desta variante à condição. Além disso, a variante foi reportada em nove casos no ClinVar relacionados à síndrome de Myhre, reforçando seu papel etiológico.

A substituição de isoleucina por valina no domínio MH2 da proteína *SMAD4* compromete sua função na via de sinalização do TGF- β , essencial para o desenvolvimento tecidual e homeostase. Alterações neste domínio estão associadas a estabilidade proteica anômala e disfunção na regulação transcricional, o que explica manifestações como fibrose progressiva, complicações cardiovasculares e musculoesqueléticas observadas na síndrome.

Considerando que variantes no *SMAD4* também estão vinculadas a outras condições, como polipose juvenil e neoplasias, recomenda-se acompanhamento multidisciplinar para monitorar complicações potenciais. A investigação genética da mãe não identificou a presença da variante. A partir destes resultados poderá haver o aconselhamento genético adequado, incluindo orientações sobre risco de recorrência e triagem de familiares. Medidas de manejo devem incluir avaliações periódicas auditivas, renais, articulares e endócrinas, além de intervenções precoces para mitigar a progressão das comorbidades associadas.

4.6 CASO 06 e 07 - VARIANTES PATOGÊNICAS NO GENE *SHH*

4.6.1 Descrição clínica do caso 06

Paciente do sexo masculino, nascido de pais não consanguíneos, cujo exame físico revela um fenótipo complexo. Apresenta microcefalia com perfil facial achatado, testa curta e hipotelorismo ocular com órbitas rasas. Os achados mais significativos concentram-se na linha média facial, incluindo hipoplasia nasal com narina única, hipoplasia da pré-maxila, lábio superior fino e uma incisura na gengiva superior. A avaliação da cavidade oral evidencia a ausência dos incisivos centrais superiores, compatível com um incisivo central maxilar único e mediano, além de incisivos laterais hipoplásicos. Os membros são proporcionados, com mãos estreitas e dedos longos. Ao exame abdominal, nota-se um nevo hiperocrômico de 2cm em região periumbilical esquerda, sem visceromegalias. Notavelmente, apesar de o fenótipo facial ser fortemente sugestivo do espectro da HPE, os exames de neuroimagem não revelam malformações cerebrais associadas

4.6.2 Resultado da análise de WES do caso 06

Na análise do sequenciamento do exoma deste paciente foi identificada a deleção patogênica *SHH*:c.80delG;p.Gly27fs em heterozigose. A variante no gene *SHH* é caracterizada pela deleção de uma única base em região codificante do exon 1, localizado no cromossomo 7 (chr7-155604736), com consequente mudança no quadro de leitura impedindo a correta transcrição gênica. Na **Figura 9** pode-se observar em detalhes a variante aqui encontrada.

Esta variante foi classificada como provavelmente patogênica preenchendo os critérios PVS1 e PM2 do ACMG Guidelines. O gene *SSH* foi reportado em 2050 artigos relacionados a patologias humanas. Além disto, a variante *SSH:c.80delG;p.Gly27fs* não foi observada em nenhum dos bancos de dados populacional, sugerindo que é uma variante muito rara na população.

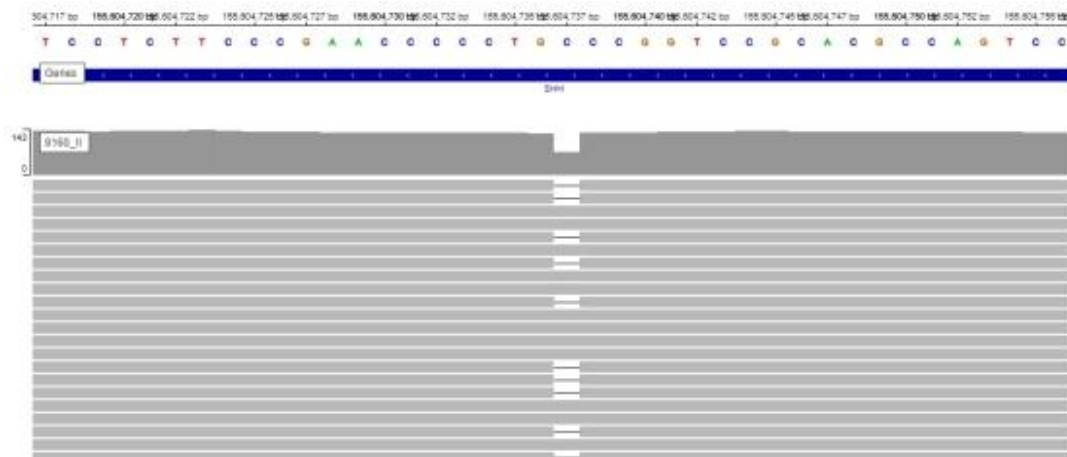


Figura 9. Variante no gene *SSH*. O retângulo em branco representa o local da deleção *SSH:c.80delG;p.Gly27fs*.

4.6.3 Descrição clínica caso 07

A paciente do sexo feminino, filha de pais não consanguíneos, é avaliada por uma constelação de dismorfismos múltiplos que englobam alterações craniofaciais e de extremidades. O exame craniofacial revela face arredondada, fendas palpebrais oblíquas para cima, narinas antevertidas, filtro nasal longo, boca pequena e micrognatia. Adicionalmente, o fenótipo cervical é marcado pela implantação baixa da linha capilar posterior e pterígio cervical bilateral. No exame dos membros, as extremidades são proporcionais, mas exibem mãos e pés pequenos, prega palmar única à esquerda, unhas hipoplásicas e sindactilia cutânea bilateral entre o 2º e 3º pododáctilos.

4.6.4 Resultado da análise de WES do caso 07

Na análise do sequenciamento do exoma desta paciente foi identificada uma variante provavelmente patogênica *SSH:c.824C>A;p.Ala275Glu* em heterozigose. A variante no gene *SSH* é caracterizada pela substituição de uma única base em região codificante do exon 3, localizado no cromossomo 7 (chr7-155596159), com consequente substituição do aminoácido alanina por glutamina. Esta variante foi

classificada como provavelmente patogênica preenchendo os critérios PM1, PP2, PM2, PP3 e PP5 do ACMG Guidelines. Na **Figura 10** pode-se observar em detalhes a variante aqui encontrada.

O gene *SHH* foi reportado em 2050 artigos relacionados a patologias humanas. Além disto, a variante *SHH:c.824C>A:p.Ala275Glu* não foi observada em nenhum dos bancos de dados populacional, sugerindo que é uma variante muito rara na população.

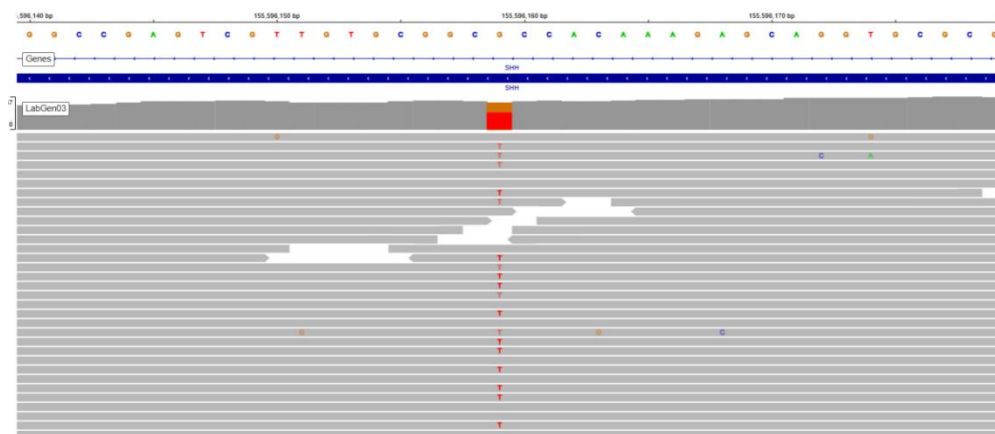


Figura 10. Variante no gene *SHH*. O retângulo em vermelho representa o local da substituição *SHH:c.824C>A:p.Ala275Glu*.

4.6.5 Discussão dos casos 6 e 7

Um distúrbio de desenvolvimento congênito comum que resulta da desregulação da sinalização de *SHH* é a Holoprosencefalia tipo 3 (HPE3) (MIM142945), caracterizada pela separação incompleta dos hemisférios cerebrais esquerdo e direito e vários defeitos faciais na linha média (Dubourg et al., 2007). A HPE é prevalente no início da gravidez, afetando aproximadamente 1 em 250 indivíduos (Roessler & Muenke, 2003), com uma diminuição subsequente na prevalência à medida que o desenvolvimento embrionário progride. A expressividade dos fenótipos associados à HPE varia, desde a terminação espontânea do feto nos casos mais graves, até várias anormalidades craniofaciais, como ciclopia e fendas médio-faciais, ou hipotelorismo em casos relativamente menos graves (Dubourg et al., 2007).

Os 3 tipos clássicos de HPE, em ordem decrescente de gravidade, são alobar, semilobar e lobar. Existem também outras variações mais ou menos graves, como a variante inter-hemisférica média (MIHV) (Solomon et al., 2010; Mercier et al., 2011). Aproximadamente dois terços dos indivíduos com HPE têm HPE alobar, a forma mais grave (Mercier et al., 2011). Em aproximadamente 80% dos embriões ou fetos afetados,

anomalias craniofaciais estão presentes. As mais graves das anomalias craniofaciais associadas são ciclopia, sinoftalmia e tromba. Outras anormalidades menos graves incluem microcefalia, hipotelorismo, ponte nasal deprimida, incisivo central superior e fenda labial e palatina na linha média (Mercier et al., 2011).

A HPE representa a malformação congênita mais frequente do prosencéfalo em humanos, com uma complexa etiologia genética. Estudos de mapeamento cromossômico identificaram pelo menos 12 loci genéticos associados à HPE através da caracterização de regiões cromossômicas minimais deletadas em famílias afetadas (Belloni et al., 1996; Wallis & Muenke, 1999; Brown et al., 1998). Entre esses, o gene Sonic hedgehog (*SHH*), localizado no locus HPE3 (Belloni et al., 1996), destaca-se como o mais extensivamente caracterizado. Análises moleculares revelam que variantes heterozigóticas de perda de função em *SHH* são responsáveis por aproximadamente 17% dos casos familiares e 3,7% dos casos esporádicos de HPE (Nanni et al., 1999; Roessler et al., 2009; Dubourg et al., 2018), sustentando a hipótese de um mecanismo de haploinsuficiência (Rahimov et al., 2006; Ribeiro et al., 2010). Além de *SHH*, outros genes codificantes de fatores de transcrição - incluindo *TGIF1*, *SIX3* e *ZIC2* - foram identificados como causadores de HPE em loci distintos (Gripp et al., 2000; Wallis & Muenke, 1999; Brown et al., 2001). Pesquisas recentes expandiram esse panorama, demonstrando que variantes em novos genes como *CDON*, *DISP1* e *FGF8* contribuem para a patogênese da HPE, revelando a natureza geneticamente heterogênea desta condição (Mercier et al., 2011; Bae et al., 2011; Dubourg et al., 2016).

A regulação da expressão de *SHH* no prosencéfalo pelo fator de transcrição *SIX3* representa um mecanismo fundamental no desenvolvimento embrionário, conforme demonstrado por estudos funcionais em modelos animais (Geng et al., 2008). Essa relação regulatória adquire especial relevância quando se observa o efeito sinérgico de variantes combinadas em *SHH* e *SIX3*, que resultam em fenótipos de HPE mais graves do que aqueles causados por variantes isoladas em cada um desses genes (Jeong et al., 2008). Essas descobertas evidenciam a hierarquia molecular na qual *SIX3*, posicionado a montante na cascata de desenvolvimento, controla precisamente a expressão espacial e temporal de *SHH* no prosencéfalo em formação. O sinergismo observado entre as variantes sugere que esses genes atuam em vias complementares, porém convergentes, durante a morfogênese do prosencéfalo, reforçando o papel central da sinalização por *SHH* como eixo morfogenético principal. Essa interação regulatória ajuda a explicar a

variabilidade fenotípica observada nos casos clínicos de HPE, onde alterações em genes reguladores como *SIX3* podem amplificar significativamente os efeitos de variantes em genes efetores como *SHH*. O modelo atual propõe que *SIX3* estabelece um domínio de competência no prosencéfalo, criando as condições necessárias para que a sinalização por *SHH* promova adequadamente o crescimento e a padronização das estruturas embrionárias. A interrupção em qualquer ponto dessa cascata regulatória - seja na fase inicial de estabelecimento do domínio por *SIX3* ou na fase efetora mediada por *SHH* - pode comprometer seriamente a indução e manutenção da linha média ventral, resultando no espectro de anomalias características da HPE (Geng et al., 2008; Jeong et al., 2008).

O gene *SHH* codifica a proteína Sonic Hedgehog (SHH), um sinal morfogenético fundamental para a embriogênese em vertebrados. Esta proteína atua como molécula sinalizadora chave no desenvolvimento do SNC, mediando processos críticos como padronização embrionária, especificação de destinos celulares, orientação axonal, proliferação, sobrevivência e diferenciação neuronal (Briscoe & Thérond, 2013). O mecanismo de sinalização SHH envolve a ativação de fatores de transcrição da família Gli como efetores a jusante, que regulam a expressão de genes alvo. Durante o desenvolvimento neural, SHH funciona como gradiente morfogenético essencial para a organização dorsoventral do neuroeixo, incluindo a correta formação do telencéfalo (Briscoe & Thérond, 2013; Chiang et al., 1996). Sua ação coordenada regula não apenas a neurogênese, mas também a manutenção de populações de células precursoras neurais. Perturbações neste sistema de sinalização estão associadas a diversas malformações congênitas do SNC, evidenciando seu papel central na morfogênese cerebral (Roessler & Muenke, 2010). Estudos recentes demonstraram que a sinalização SHH-Gli participa ativamente na organização de múltiplas estruturas encefálicas, desde fases precoces do desenvolvimento embrionário até etapas mais tardias de diferenciação neuronal (Petrov et al., 2014). A compreensão detalhada desta via tem permitido elucidar mecanismos patogênicos de diversas anomalias do desenvolvimento neural e desenvolver abordagens terapêuticas direcionadas (Briscoe & Novitch, 2008).

A sinalização mediada pela proteína SHH constitui um sistema complexo e multifacetado, compreendendo vias canônicas e não-canônicas que permanecem apenas parcialmente elucidadas. Como membro da família Hedgehog conservada evolutivamente - que inclui ainda Indian Hedgehog (Ihh) e Desert Hedgehog (Dhh) em

mamíferos - a proteína SHH atua como potente morfógeno secretado, capaz de influenciar células-alvo tanto local quanto distalmente através de gradientes de concentração (Briscoe & Thérond, 2013). Além de seu papel fundamental na organização dorsoventral do tubo neural e na neurogênese, esta via sinalizadora participa ativamente do desenvolvimento de múltiplos sistemas orgânicos, incluindo a morfogênese de olhos, membros, estruturas ectodérmicas (pele, cabelos e dentes), cóclea e pulmões, onde regula processos essenciais de padronização espacial e determinação de polaridade tecidual (Briscoe & Thérond, 2013; Rubin & de Sauvage, 2006).

Estudos em modelos animais demonstraram com particular clareza a contribuição indispensável da sinalização SHH para a organização ventral da medula espinhal, onde dirige a indução da placa basal e a diferenciação de neurônios motores, além de atuar em estágios ainda mais precoces do desenvolvimento embrionário (Jeong et al., 2008).

A importância crítica desta via reflete-se no amplo espectro de desordens neurológicas associadas à sua desregulação, abrangendo desde transtornos do neurodesenvolvimento (como autismo e epilepsia) até doenças neurodegenerativas (Parkinson, Huntington, demências), distúrbios psiquiátricos (depressão), acidentes vasculares cerebrais, patologias desmielinizantes e diversos tumores do sistema nervoso central (Rubin & de Sauvage, 2006). Esta associação com múltiplas condições patológicas, somada ao entendimento crescente de seus mecanismos moleculares, posiciona a via SHH como alvo terapêutico privilegiado, impulsionando pesquisas com moduladores farmacológicos como antagonistas de Smoothened (SMO) e inibidores de fatores Gli (Briscoe & Thérond, 2013; Rubin & de Sauvage, 2006). O desenvolvimento de estratégias para manipulação precisa desta via sinalizadora representa atualmente uma fronteira promissora tanto para a medicina regenerativa quanto para o tratamento de diversas condições neurológicas e malformações do desenvolvimento.

A sinalização SHH exibe funções distintas conforme sua concentração, distribuição espacial e dinâmica temporal (Briscoe & Thérond, 2013), características que foram particularmente evidenciadas em estudos com embriões de camundongos SHH knockout (KO). Esses modelos demonstraram que a deficiência de SHH leva a defeitos embrionários precoces na formação de estruturas da linha média, como notocorda e placa de assoalho, seguidos por anomalias mais tardias que incluem ausência de

elementos distais dos membros, ciclopia, perda de populações celulares ventrais no tubo neural, além de graves malformações esqueléticas como agenesia vertebral e costal (Jeong et al., 2008). Em humanos, variantes no gene *SHH* manifestam-se clinicamente através de graves comprometimentos morfogênicos, particularmente afetando o desenvolvimento do prosencéfalo e da face, como observado nos casos de HPE (Heussler et al., 2002). Alterações na expressão de *SHH* foram ainda documentadas na placa de assoalho de embriões com defeitos de fechamento do tubo neural, como craniorraquisquise (SRC) e espinha bífida (SB) (Copp et al., 2015).

O espectro de ação da sinalização SHH estende-se além do sistema nervoso, com evidências recentes vinculando sua desregulação a diversas condições patológicas. Estudos associaram *SHH* a anomalias do desenvolvimento como polidactilia, cardiopatias congênitas, meduloblastoma desmoplásico e à síndrome de Gorlin em pacientes com trissomia do 21 (Taylor et al., 2002; Rubin & de Sauvage, 2006). Essas descobertas ressaltam o papel pleiotrópico da via SHH na organogênese e sua relevância clínica em múltiplas especialidades médicas, desde a embriologia até a oncologia. A compreensão desses diversos contextos patológicos associados a *SHH* continua a evoluir, com pesquisas recentes explorando suas implicações tanto em malformações congênitas quanto em processos neoplásicos (Rubin & de Sauvage, 2006).

4.6.6 Conclusão

Neste estudo, foram identificadas variantes possivelmente patogênicas no gene *SHH* em dois pacientes (Caso 06 e Caso 07) que ilustram de forma exemplar a notável variabilidade fenotípica associada a este gene. O Caso 06 manifesta um fenótipo de microforma da HPE, com achados craniofaciais clássicos, mas sem o correspondente acometimento cerebral. Em contrapartida, o Caso 07 apresenta um quadro clínico distinto, com múltiplos dismorfismos não tradicionalmente associados ao espectro da HPE. A análise conjunta destes dois casos permite explorar os extremos do espectro clínico das "SHH-patias", reforçando a complexidade da correlação genótipo-fenótipo.

O paciente do Caso 06 é um exemplo da expressividade variável dentro do espectro da HPE. Seu fenótipo, marcado por microcefalia, hipotelorismo, narina única e um incisivo central maxilar único e mediano, alinha-se perfeitamente com as formas mais leves ou microformas da HPE (Mercier et al., 2011). A variante identificada, uma

deleção *frameshift* (*SHH:c.80delG:p.Gly27fs*), é uma variante de perda de função inequívoca, consistente com o mecanismo de haploinsuficiência já bem estabelecido para a HPE3 (Ribeiro et al., 2010). O achado mais notável neste paciente é a dissociação clínico-radiológica: um fenótipo facial severo na ausência de malformações cerebrais estruturais. Esta apresentação ressalta que as vias de sinalização de SHH podem ter limiares de dosagem distintos para o desenvolvimento facial e cerebral, um fenômeno já documentado que evidencia a complexa regulação tecido-específica durante a embriogênese (Heussler et al., 2002). Um dos quadros clínicos associados a variantes no gene *SHH* é a síndrome do incisivo central solitário (SMMCI; MIM147250), cujas características se sobrepõem às da HPE3 (Nanni et al., 2001), como observado neste caso.

De forma contrastante, a paciente do Caso 07 expande o espectro fenotípico conhecido para variantes em *SHH*. Seu quadro clínico, com face arredondada, fendas palpebrais oblíquas para cima, pterígio cervical e sindactilia, não é característico da HPE. Tais achados são mais frequentemente observados em outras condições, como a síndrome de Noonan ou a síndrome de Turner. A variante identificada, uma variante *missense* (*SHH:c.824C>A:p.Ala275Glu*), resulta na troca de um único aminoácido e seu efeito funcional é menos previsível que uma deleção. É plausível que esta variante específica altere a função da proteína de uma maneira atípica, talvez afetando interações proteicas específicas ou a sua estabilidade, e assim desregulando a via SHH em tecidos fora do prosencéfalo. A via de sinalização SHH é fundamental no desenvolvimento de múltiplos sistemas, incluindo a morfogênese de membros e estruturas ectodérmicas (pele, cabelos), o que oferece uma base biológica para a ocorrência de sindactilia e anomalias de implantação capilar (Briscoe & Théron, 2013). Portanto, este caso sugere que, dependendo da natureza da variante, o fenótipo resultante pode divergir do eixo clássico da HPE, revelando o papel pleiotrópico do gene *SHH* no desenvolvimento humano.

4.7 CASO 08 - VARIANTE PATOGÊNICA NO GENE *LMNA*

4.7.1 Descrição Clínica

Paciente do sexo feminino, sem relato de consanguinidade parental. O exame revela uma face progeroide, testa média, e sobrancelhas arqueadas e ralas. O nariz é

caracteristicamente adunco, fino e alto, com hipoplasia das asas nasais e a ponte voltada para baixo. A região oral é marcada por filtro longo, boca e queixo pequenos e assimetria da mandíbula. As dismorfias incluem orelhas em abano, tórax e ombros estreitos, e protusão do abdome. Há importantes anomalias esqueléticas periféricas: restrição da extensão dos cotovelos, camptodactilia (curvatura) dos 3º, 4º e 5º dedos, hipoplasia de falanges distais e unhas largas. Os pés são afilados e também apresentam camptodactilia dos 2º pododáctilos. O exame capilar e de pelos mostra cabelos longos, lisos e com baixa densidade, contrastando com o hirsutismo nas pernas.

4.7.2 Resultado da análise de WES

A partir da análise desta paciente foi encontrada uma variante provavelmente patogênica no gene *LMNA*, *LMNA:c.898G>C:p.Asp300His*. Esta variante é caracterizada pela substituição de base única, com consequência na substituição do aminoácido aspartato por histidina, em região codificante do exon 5 do gene *LMNA*, no cromossomo 1, (chr1-156105065). Esta variante foi classificada como provavelmente patogênica preenchendo os critérios PM1, PP2, PM5 e PP3 do ACMG Guidelines. Na **Figura 11** pode-se observar em detalhes a variante aqui encontrada.

A variante *LMNA:c.898G>C:p.Asp300His* foi reportada no ClinVar em 9 diferentes casos como causa da patologia em casos em que o fenótipo está relacionado a síndrome de progéria (MIM 150330). Esta variante não foi observada em nenhum dos bancos de dados populacional, sugerindo que é uma variante muito rara na população. Há 1852 publicações sobre este gene na literatura relacionando-o a fenótipos progeróides e 3 descrições desta mesma variante.

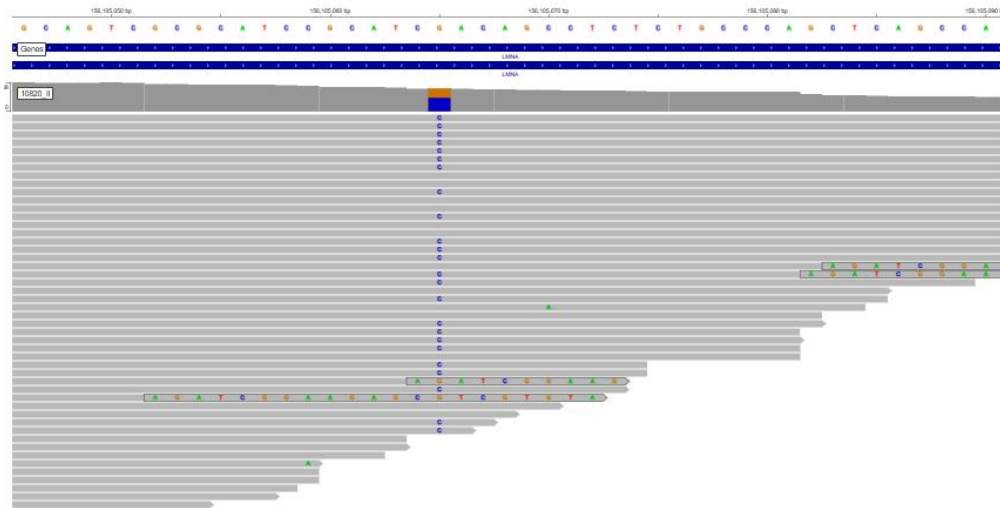


Figura 11. Variante no gene *LMNA*. O retângulo em azul representa o local da substituição *LMNA*:c.898G>C;p.Asp300His

4.7.3 Discussão

Nem todas as variantes no gene *LMNA* causam progéria. As assim chamadas laminopatias compreendem mais de 450 variantes diferentes em *LMNA*, conhecidas por dar origem a múltiplas doenças com uma variedade de sobreposições fenotípicas. As laminopatias incluem diferentes formas de cardiomiopatia, distrofia muscular, lipodistrofia, neuropatia e síndromes de progéria (*LMNA*, OMIM #150330). Curiosamente, as progérias, tanto típicas como formas atípicas, abrangem fenótipos como lipodistrofia, distrofia muscular esquelética e cardiomiopatia que se sobrepõem a essas e outras laminopatias.

Entre as síndromes progeroides raras causadas por variantes em *LMNA* temos a síndrome de progeria Hutchinson-Gilford (HGPS) (MIM 176670), um distúrbio autossômico dominante esporádico e a displasia mandíbuloacral (MADA) (MIM 248370), um distúrbio autossômico recessivo (Bertrand et al., 2011; Jacob e Garg, 2006; Worman e Bonne, 2007)

As características faciais da HGPS incluem cabeça desproporcionalmente grande para o rosto, crista nasal estreita, ponta nasal estreita, vermelhão fino dos lábios superiores e inferiores, boca pequena, retro e micrognatia (Gordon et al., 2003; Eriksson et al., 2003). As características comuns incluem perda de gordura subcutânea, erupção tardia e perda de dentes decíduos, pele anormal com pequenas bolsas sobre o abdômen e parte superior das coxas, alopecia, distrofia ungueal, coxa valga e contraturas articulares progressivas (Merideth et al., 2008; De Sandre-Giovannoli et al., 2003). Achados

posteriores incluem perda auditiva condutiva de baixa frequência, apinhamento dentário e falta parcial de erupção dentária secundária (Navarro et al., 2004; Hennekam, 2006). O desenvolvimento motor e mental é normal (Gordon et al., 2003). A morte ocorre como resultado de complicações de aterosclerose grave, doença cardíaca ou doença cerebrovascular (Olive et al., 2010; Capell et al., 2007).

Quanto à MADA, os principais sinais fenotípicos incluem hipoplasia mandibular, apinhamento dentário, reabsorção clavicular, osteólise acral, anomalias cutâneas e lipodistrofia parcial (Novelli et al., 2002). O envelhecimento levemente acelerado torna-se visível na segunda década em pacientes com esta síndrome (Avnet et al., 2011). Hipoplasia mandibular, apinhamento dentário, erupção dentária prematura, reabsorção clavicular, osteólise acral, anormalidades da pele incluindo cabelo ausente ou escasso, lipodistrofia generalizada e baixa estatura são também sinais clínicos do tipo B da MAD, a MADB (MIM 608612) causada por variantes em *ZMPSTE24*. MADB está associada a sintomas mais pronunciados e envelhecimento acelerado (Agarwal et al., 2003).

Entre as síndromes progeróides, aquelas associadas a variantes no gene *LMNA* destacam-se por sua relevância científica, uma vez que suas manifestações clínicas reproduzem características do envelhecimento humano (Evangelisti et al., 2016). Essas laminopatias progeróides exibem um espectro de envelhecimento acelerado que varia desde padrões moderados, como observado na MADA, até formas graves e precoces, como HGPS (Evangelisti et al., 2016; Hamczyk et al., 2018). Um aspecto notável dessas condições é o padrão seletivo de envolvimento tecidual: enquanto ossos, pele e tecido adiposo sofrem profundo comprometimento, o cérebro permanece preservado, devido à regulação negativa das transcrições mutantes de *LMNA* neste órgão (Evangelisti et al., 2016; Hamczyk et al., 2018).

Além HGPS e da MADA, um número significativo de pacientes apresenta síndrome progeróide atípica (APS) (MIM 608612) causada por variantes heterozigóticas no gene *LMNA* (Chen et al., 2019; Wang et al., 2021). Estes casos têm sido descritos na literatura como formas atípicas de HGPS, MADA ou mesmo síndrome de Werner atípica (MIM 277700) (Gupta et al., 2020). Embora o fenótipo completo da APS ainda não esteja totalmente caracterizado, relatos clínicos documentam um conjunto variável de características progeróides que incluem baixa estatura, nariz adunco, envelhecimento cutâneo prematuro, alopecia parcial, voz aguda, atrofia acral da pele, diabetes mellitus, lipodistrofia generalizada, alterações de pigmentação cutânea e hipoplasia mandibular

(Gupta et al., 2020). Particularmente relevante é a variante *LMNA:p.Asp300Asn*, identificada em nossa paciente, que foi previamente descrita em três casos de APS e associada a complicações sistêmicas graves como glomeruloesclerose segmentar e focal, eventos de hemorragia cerebral e diabetes mellitus (Chen et al., 2019; Wang et al., 2021; Gupta et al., 2020). Esta variante específica parece estar correlacionada com um espectro particularmente grave de manifestações clínicas, sugerindo uma possível relação genótipo-fenótipo específica que merece investigação mais aprofundada.

A variante *LMNA:p.Asp300Asn*, presente na paciente do *caso 08*, demonstra um padrão consistente de manifestações clínicas de disostose mandíbulo acral descritas anteriormente em relatos anteriores na literatura. Wang et al. (2021) descreveram um homem chinês de 24 anos portador desta variante que apresentava múltiplas lesões vasculares, características progeróides típicas, hipertensão arterial, calcificações intracranianas disseminadas, doença arterial periférica e dislipidemia grave. Um fenótipo similar foi observado por Gupta et al. (2020) em uma paciente de 23 anos de Mianmar, que exibia além das características progeróides clássicas (baixa estatura, alopecia acentuada e nariz adunco), complicações cardiovasculares importantes incluindo estenose carotídea bilateral e hipertrofia ventricular esquerda, acompanhadas de distúrbios endócrinos (amenorreia secundária) e metabólicos (lipodistrofia generalizada).

Notavelmente, Bernard et al. (2018) identificaram uma variante *missense* no mesmo códon (c.898G>A, p.Asp300Asn) em um homem francês de 31 anos com manifestações progeróides, osteoporose precoce, ateromatose generalizada, lipoatrofia e doença cerebrovascular isquêmica. A análise comparativa destes casos revela que as manifestações cardiovasculares e dislipidêmicas constituem achados comuns a todos os pacientes, incluindo o nosso caso. Contudo, a proteinúria significativa e a glomeruloesclerose segmentar e focal (GESF) observadas em nossa paciente não foram documentadas nos relatos anteriores, levantando questões sobre se esta manifestação renal representa uma característica genuína da síndrome progeróide atípica associada a esta variante específica ou se reflete uma comorbidade independente.

As síndromes progeróides são doenças genéticas raras caracterizadas por sinais clínicos que simulam o envelhecimento acelerado. Essas condições compartilham manifestações comuns como perda de cabelo, baixa estatura, endurecimento da pele,

problemas cardiovasculares e osteoporose, embora os mecanismos fisiopatológicos variem conforme o gene envolvido (De Sandre-Giovannoli et al., 2003). Do ponto de vista molecular, essas síndromes podem ser divididas em dois grupos principais: aquelas relacionadas a alterações nos componentes do envelope nuclear e as associadas a variantes em genes responsáveis pelo reparo do DNA (Navarro et al., 2004; Eriksson et al., 2003).

O principal componente do envelope nuclear implicado nas síndromes progeróides é a lâmina nuclear, uma matriz proteica situada entre a cromatina e a membrana nuclear interna (Goldman et al., 2004; Gruenbaum et al., 2005). Esta estrutura, composta principalmente por lâminas, desempenha funções essenciais na manutenção da arquitetura nuclear, organização da cromatina e regulação do metabolismo nuclear através de interações com diversas moléculas reguladoras (Dechat et al., 2008). As lâminas A e C, codificadas pelo gene *LMNA*, são expressas ubiquitariamente em células somáticas e desempenham papéis fundamentais nestes processos (Burke & Stewart, 2006; Shumaker et al., 2006; Andrés & González, 2009).

As lâminas mutantes podem comprometer significativamente a integridade funcional do núcleo celular através de diversos mecanismos. Primeiramente, interferem nas interações entre a lâmina nuclear e a cromatina, bem como com proteínas parceiras específicas (Bruston et al., 2010; Pegoraro et al., 2009). A lâmina nuclear, sendo uma rede elástica adjacente à membrana nuclear interna (Turgay et al., 2017), está ancorada a esta através de proteínas integrais de membrana. Esta organização permite ao núcleo não apenas resistir a tensões mecânicas significativas (Shah et al., 2017), mas também regular o transporte nucleocitoplasmático (Capanni et al., 2005; Cenni et al., 2014; Columbaro et al., 2013) e participar no posicionamento cromossômico (Bridger et al., 2014; Lund et al., 2013, 2014; Robson et al., 2017). Além disso, a lâmina A mutante pode perturbar a segregação cromossômica (Cao et al., 2007).

Sob condições fisiológicas, a cromatina mantém interações específicas com a periferia nuclear, sendo esta organização finamente regulada pela lâmina A/C em conjunto com outros componentes do envelope nuclear (Solovei et al., 2013). A lâmina A/C também media o recrutamento e posicionamento de diversas proteínas estruturais e enzimáticas ao longo da cromatina em resposta a estímulos celulares específicos (Camozzi et al., 2014).

Os produtos do gene *LMNA* exercem importante regulação na transcrição gênica através de múltiplos mecanismos (Meaburn et al., 2007). Primeiramente, a lâmina A/C interage diretamente com fatores de transcrição como SREBP1, cFos (Gonzalez et al., 2008), Sp1 (Ruiz de Eguino et al., 2012), Oct-1 (Cenni et al., 2014; Columbaro et al., 2013) e, mais recentemente descrito, NF-Y (Cicchillitti et al., 2017), modulando sua atividade. Em segundo lugar, as lâminas influenciam modificações pós-traducionais de histonas (Lattanzi et al., 2007; Mattioli et al., 2008), afetando conseqüentemente a acessibilidade da cromatina aos fatores de transcrição durante o ciclo celular e processos de diferenciação (Oldenburg et al., 2017). Adicionalmente, as lâminas regulam a atividade das proteínas Polycomb, importantes repressores epigenéticos (Cesarini et al., 2015).

A lâmina A/C também integra o complexo LINC (Linker of Nucleoskeleton and Cytoskeleton), uma plataforma molecular que conecta o núcleo ao citoesqueleto através de proteínas como SUN1, SUN2, nesprinas e emerina (Camozzi et al., 2012; Mattioli et al., 2011; Meinke et al., 2014; Mejat & Misteli, 2010). Esta conexão física permite a coordenação entre a dinâmica nuclear e citoplasmática, mediando interações com actina, tubulina e outros componentes do citoesqueleto. A participação das lâminas em processos celulares tão diversos explica por que variantes no gene *LMNA* podem resultar em um amplo espectro de doenças, conhecidas coletivamente como laminopatias (Camozzi et al., 2014).

4.7.4 Conclusão

A identificação da variante *LMNA*:c.898G>C:p.Asp300His na paciente, classificada como provavelmente patogênica segundo critérios ACMG (PM1, PP2, PM5, PP3), sugere uma associação com síndromes progeroides ligadas a variantes neste gene. O fenótipo observado, incluindo características progeroides (face envelhecida, nariz adunco, queixo pequeno, camptodactilia e anomalias musculoesqueléticas), condiz parcialmente com MADA e formas atípicas de progeria, embora com particularidades como protusão abdominal e ausência de alopecia total.

A variante afeta a laminina A/C, proteína essencial para a integridade do envelope nuclear, modulação da cromatina e interações citoesqueléticas. Sua substituição de aspartato por histidina pode comprometer a estrutura e função da lâmina nuclear,

contribuindo para disfunções celulares associadas ao envelhecimento acelerado. Relatos prévios desta variante em casos de síndrome progeroide atípica (APS), com manifestações cardiovasculares e dislipidemia, reforçam sua relevância clínica, embora a glomeruloesclerose segmentar e focal observada no caso atual não tenha clara correlação com a literatura.

A classificação de "provavelmente patogênica" reflete a necessidade de evidências funcionais adicionais para confirmar seu impacto, especialmente diante da heterogeneidade fenotípica das laminopatias. Estudos futuros, incluindo análises de expressão proteica e modelos celulares, são essenciais para elucidar os mecanismos moleculares subjacentes e validar a penetrância da variante.

4.8 CASO 09 - VARIANTE PATOGÊNICA NO GENE *DVL2*

4.8.1 Descrição Clínica

Paciente do sexo feminino, encaminhada para avaliação devido a características dismórficas e desproporção dos membros. Os pais são um casal não consanguíneo que teve outros 4 filhos saudáveis. Nenhuma cirurgia prévia ou conhecimento de anomalias congênitas foi relatado e os marcos do desenvolvimento foram atingidos dentro da normalidade.

A paciente tinha estatura mediana, porém apresentava encurtamento mesomélico dos membros, além de características dismórficas. Ela apresentava bossa frontal, hipoplasia do terço médio da face, proptose, fendas palpebrais oblíquas para cima, cílios longos, hipertelorismo ocular, nariz bulboso, ponte nasal baixa e larga, narinas antevertidas, boca triangular com cantos caídos, lábio superior fino, língua bífida, micrognatia e retrognatia. Ela também apresentava hipoplasia genital e fosseta sacral, polegares largos, displasia ungueal, clinodactilia e sindactilia..

4.8.2 Resultado da análise de WES

A partir da análise desta paciente foi encontrada uma variante patogênica no gene *DVL2*, *DVL2*:c.1556delT:p.Leu519fs. Esta variante é caracterizada pela deleção de uma base única, com conseqüente mudança no quadro de leitura, em região codificante do exon 14 do gene *DVL2*, no cromossomo 17, (chr17-7129945). Esta variante foi

classificada como VUS preenchendo do critério PM2 do ACMG Guidelines. Na **Figura 12** pode-se observar em detalhes a variante aqui encontrada.

Esta variante não foi observada em nenhum dos bancos de dados populacional, sugerindo que é uma variante muito rara na população. Variantes no gene *DVL2* está relacionado a síndrome de Robinow autossômica dominante .

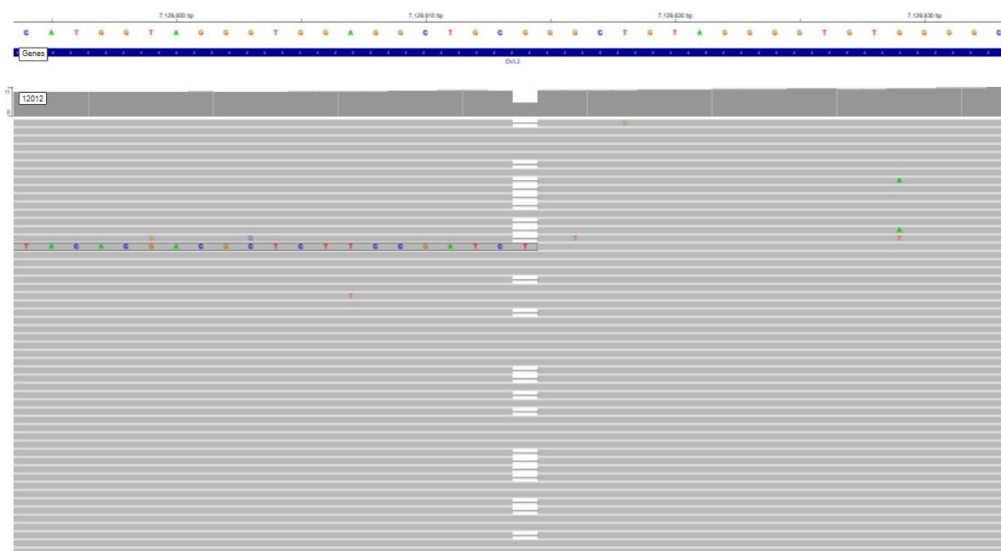


Figura 12. Variante no gene *DVL2*. O retângulo em branco representa o local da deleção *DVL2*:c.1556delT:p.Leu519fs.

4.8.3 Discussão

Síndrome de Robinow (RS) é uma condição geneticamente heterogênea, descrita originalmente por Robinow et al. em 1969, que pode ser clinicamente subdividida em formas autossômica recessiva e autossômica dominante. A forma dominante (ADRS) é caracterizada por um espectro fenotípico distinto que inclui achados esqueléticos, como baixa estatura, encurtamento mesomélico predominante nos membros superiores e braquidactilia, além de dismorfismos faciais marcantes, tais como hipertelorismo (olhos bem espaçados e proeminentes), protuberância frontal, narinas antevertidas e retrusão do terço médio da face. O quadro clínico é complementado por anormalidades genitais — micropênis, escroto hipoplásico e criptorquidia em homens; clitóris hipoplásico e hipoplasia de grandes lábios em mulheres — e anomalias dentárias, incluindo má oclusão, apinhamento, hipodontia e erupção tardia. Outros achados, como língua bilobada, macrocefalia pré-natal persistente, e, menos frequentemente, anomalias renais, vertebrais (hemivértebras, escoliose), cardíacas e fissuras labiopalatinas, compõem a

complexidade da síndrome, sendo os defeitos cardíacos uma das principais causas de morbidade e mortalidade (Robinow et al., 1969; Patton & Afzal, 2002).

A complexidade do desenvolvimento humano subjacente a este fenótipo requer a coordenação precisa de vias de sinalização celular, com destaque para a via WNT. A sinalização WNT divide-se em canônica (dependente de β -catenina), que coordena o destino e proliferação celular, e não canônica (independente de β -catenina), fundamental para a orquestração da migração celular, polaridade planar (PCP) e morfogênese tecidual, incluindo os movimentos de extensão convergente durante a gastrulação (Yang & Mlodzik, 2015). Dados emergentes sugerem que os três homólogos humanos da proteína Dishevelled — *DVL1* (MIM: 601365), *DVL2* (MIM: 602151) e *DVL3* (MIM: 601368) — são componentes essenciais no roteamento e transmissão destes sinais, atuando em grandes complexos multiproteicos. Coletivamente, a RS parece resultar de uma desregulação específica neste ramo da via WNT não canônica, especificamente no eixo WNT5A-ROR2-DVL.

A base genética da síndrome reflete uma significativa heterogeneidade de locus, com variantes patogênicas já identificadas em sete genes: *DVL1*, *DVL2*, *DVL3*, *FZD2* (MIM: 600667), *NXN* (MIM: 612895), *ROR2* (MIM: 602337) e *WNT5A* (MIM: 164975). É digno de nota que todas as causas genéticas estabelecidas, incluindo alelos hipomórficos heterozigotos em *WNT5A* e variantes bialélicas de perda de função em *ROR2*, convergem para a via não canônica, onde o *WNT5A* atua como ligante para o receptor *ROR2*, recrutando as proteínas DVL para a transdução do sinal (Person et al., 2010; White et al., 2016). Recentemente, estudos em coortes de indivíduos com a forma dominante identificaram um mecanismo mutacional específico e intrigante: variantes do tipo *frameshift* uniformemente localizadas nos penúltimos ou últimos éxons de *DVL1* e *DVL3* (White et al., 2015; Bunn et al., 2015). Estas variantes resultam consistentemente num *frameshift* de -1, gerando um códon de terminação prematura (PTC) no último éxon. Prevê-se que tais alelos mutantes escapem ao mecanismo de controle de qualidade do mRNA, o *Nonsense-Mediated Decay* (NMD), resultando na tradução de uma proteína com ganho de função que possui uma cauda C-terminal mutante, rica em prolina, altamente básica e com mais de 100 aminoácidos de comprimento (White et al., 2015).

Apesar destes avanços na caracterização de *DVL1* e *DVL3*, uma grande fração de indivíduos com o fenótipo clínico de Robinow permanecia sem diagnóstico molecular

etiológico. A elucidação de novos candidatos gênicos beneficiou-se imensamente de estudos comparativos com modelos animais, especificamente cães. Raças como Bulldogs Ingleses, Bulldogs Franceses e Boston Terriers apresentam características morfológicas análogas à RS humana, incluindo cabeça larga, face plana (braquicefalia) e nanismo de membros curtos, além de deformidades vertebrais conhecidas como "cauda em rosca" (screw tail). Investigações genômicas, como estudos de associação do GWAS e sequenciamento em largas coortes caninas (analisando mais de 1900 cães de diversas raças), identificaram uma variante de deleção frameshift no gene *DVL2* canino que é idêntica às observadas em *DVLI* e *DVL3* nos pacientes humanos (Mansour et al., 2018; White et al., 2018).

Estes estudos confirmaram, através de exames de tomografia computadorizada, que o alelo mutante *DVL2* está diretamente associado a malformações vertebrais caudais e ao fenótipo braquicefálico, contribuindo para a morfologia do "tipo bulldog". A análise funcional da proteína *DVL2* mutante revelou uma capacidade reduzida de sofrer fosforilação, sugerindo que a disfunção na sinalização WNT/PCP é o mecanismo patogênico central (White et al., 2018). Com base nestas semelhanças fenotípicas e genéticas, consolidou-se a hipótese de que a variante canina resulta numa "síndrome do tipo Robinow". Este modelo comparativo não só fortaleceu o papel do *DVL2* como contribuinte para as características morfológicas nestas raças, como também forneceu o suporte etiológico crucial para a investigação de *DVL2* em humanos, sugerindo ainda que a variante pode estar ligada a condições adicionais, como a síndrome obstrutiva das vias aéreas e defeitos cardíacos congênitos. Assim, a integração dos dados clínicos humanos com a genética canina permitiu dissecar a correlação genótipo-fenótipo, propondo que indivíduos afetados sem diagnóstico prévio possam albergar variantes em genes distintos, mas funcionalmente equivalentes, dentro da via WNT não canônica (White et al., 2018; White et al., 2021).

4.8.4 Conclusão

A variante de deleção *frameshift DVL2:c.1556delT;p.Leu519fs* identificada no paciente foi classificada como VUS de acordo com os critérios PM2 das Diretrizes ACMG. No entanto, esta variante é altamente sugestiva de ser a causa etiológica da condição do paciente, dada a sua correlação com a ADRS.

O gene *DVL2* é um componente crucial da via de sinalização WNT/PCP. Variantes frameshift neste gene, ou em seus parálogos *DVL1* e *DVL3*, localizadas no penúltimo ou último éxon, resultam em uma proteína truncada com uma cauda C-terminal alterada, que se acredita conferir um ganho de função e ser a base molecular da RS.

A ausência da variante em bancos de dados populacionais reforça sua raridade e potencial patogênico. Estudos prévios em modelos caninos e em coortes humanas confirmaram que a disfunção de *DVL2* pode causar características do tipo Robinow, como braquicefalia e anomalias vertebrais.

4.9 CASO 10 - VARIANTE PATOGÊNICA NO GENE *MIDI*

4.9.1 Descrição Clínica

Paciente do sexo feminino, sem relato de consanguinidade parental, é avaliada no serviço de genética por apresentar dismorfias, câncer de mama e alta suspeita clínica para a síndrome de Li-Fraumeni (SLF) (MIM 151623), uma síndrome hereditária de predisposição ao câncer.

4.9.2 Resultado da análise de WES

A análise do exoma do indivíduo identificou uma variante no gene *MIDI* (c.1514_1520del; p.Thr505AsnfsTer24), classificada como provavelmente patogênica e presente em hemizigose, localizado no cromossomo X: chrX-10423044. Essa variante consiste em uma deleção de sete pares de bases na região codificante do gene *MIDI*, resultando em mudança no quadro de leitura e formação prematura de um códon de parada. Variantes no gene *MIDI* estão associadas à síndrome de Opitz BBB/G (OS) (MIM 300000), uma condição caracterizada por anomalias craniofaciais, defeitos na linha média e, em alguns casos, comprometimento do desenvolvimento neuropsicomotor. A presença da variante em hemizigose reforça sua relevância clínica, uma vez que o padrão de herança ligado ao cromossomo X é compatível com a etiologia da síndrome.

A variante *MIDI*:c.1514_1520del;p.Thr505AsnfsTer24 foi classificada como provavelmente patogênica com base nos critérios PVS1 (evidência muito forte de impacto patogênico, devido ao frameshift e formação precoce de códon de parada) e

PM2 (ausência em bancos de dados populacionais, como gnomAD e ExAC), conforme as diretrizes do ACMG. A variante recebeu alta prioridade clínica, reforçada por sua raridade populacional e alta confiabilidade técnica no sequenciamento (qualidade de leitura e cobertura adequadas). Na **Figura 13** pode-se observar em detalhes a variante aqui encontrada.

Além disso, não foi registrada em bancos de dados de variantes benignas, indicando seu potencial patogênico. A associação entre variantes no gene *MIDI* e a síndrome de Opitz BBB/G é respaldada por 172 publicações científicas, incluindo estudos que relacionam alterações neste gene ao fenótipo investigado (anomalias craniofaciais e defeitos na linha média). A combinação dos achados genéticos, a compatibilidade com o padrão de herança ligado ao X e a correlação fenotípica consolidam a relevância clínica desta variante.



Figura 13 . Variante no gene *MIDI*. O retângulo em branco representa o local da deleção *MIDI*:c.1514_1520del;p.Thr505AsnfsTer24.

4.9.3 Discussão

Variante no gene *MIDI* estão associadas à OS, um distúrbio de herança ligada ao cromossomo X caracterizado por anomalias da linha média, como hipertelorismo, fissuras labiais/palatinas, defeitos geniturinários (hipospádia, criptorquidia) e laringotraqueoesofágicos, além de atraso no desenvolvimento em ~30% dos casos. A síndrome apresenta elevada variabilidade fenotípica, incluindo malformações cerebrais (agenesia do corpo caloso), cardíacas e defeitos de membros (sindactilia), com mulheres heterozigotas geralmente manifestando apenas sinais leves (ex.: hipertelorismo). Apesar da associação com variantes no *MIDI* (identificadas em ~50% dos casos), a

heterogeneidade clínica e a baixa frequência de alterações neste gene sugerem a participação de outros fatores genéticos ou epigenéticos, conforme evidenciado em estudos de Falco et al. (2003) e Meroni (2004).

Os sintomas da síndrome de Opitz G/BB apresenta um amplo espectro de gravidade e uma expressividade altamente variável, mesmo dentro da mesma família (Falco et al., 2003; So et al., 2005). A síndrome de Opitz G/BB é geneticamente heterogênea, apresentando uma forma autossômica dominante e uma forma ligada ao X (Robin et al., 1995); as duas formas não podem ser diferenciadas com base no fenótipo clínico, e em ambas o fenótipo é mais complexo e grave em pacientes do sexo masculino (Robin et al., 1996).

A síndrome de Opitz G/BBB é geneticamente heterogênea, apresentando uma forma ligada ao X, causada por variantes no gene *MIDI* (Xp22.3), e uma forma autossômica dominante associada a variantes no gene *SPECCIL* (22q11.2) (Fontanella et al., 2008; Kruszka et al., 2017). Embora clinicamente semelhantes, estudos demonstram que a forma ligada ao X geralmente apresenta manifestações mais graves, particularmente em pacientes do sexo masculino, devido ao padrão de herança recessivo ligado ao X (So et al., 2005; De Falco et al., 2003). A forma autossômica dominante, por sua vez, exibe maior variabilidade fenotípica e penetrância incompleta, especialmente em mulheres (Kruszka et al., 2019).

Apesar da sobreposição clínica entre as duas formas, que inclui hipertelorismo, laringotraqueoesofagopatia e anomalias urogenitais, a forma ligada ao X está mais frequentemente associada a malformações cardíacas e comprometimento neurológico (Ferrentino et al., 2007; Schweiger et al., 1999). Estudos recentes destacam que aproximadamente 50-60% dos casos familiares são causados por variantes em *MIDI*, enquanto cerca de 5-10% dos casos esporádicos resultam de variantes em *SPECCIL* ou microdeleções em 22q11.2 (Quaderi et al., 1997; Priolo & Lagana, 2004).

O gene *MIDI*, codifica uma proteína da família TRIM (Tripartite Motif), caracterizada por um módulo N-terminal composto por três domínios: RING (10–59), B-box (B1: 114–164; B2: 170–212) e coiled-coil (CC: 219–319). A proteína *MIDI* (667 resíduos) também possui domínios C-terminais específicos: COS (320–380), FN3 (382–472), PRY (483–528) e SPRY (538–657) (Fontanella et al., 2008).

Variantes em *MIDI* estão distribuídas em toda a proteína, mas o domínio PRY-SPRY é o mais frequentemente alterado em pacientes, incluindo variantes sem sentido, truncadas, em sítios de emenda e *indels*, além de deleções, duplicações e rearranjos. Essa região é crítica para a função da proteína e está associada ao fenótipo da XLOS, como observado no paciente em estudo (Fontanella et al., 2008).

A proteína *MIDI* forma um grande complexo proteico associado a microtúbulos. Pesquisas recentes elucidaram sua função como ubiquitina ligase, reguladora da sinalização mTOR e ativadora translacional. Com papel central na célula, a *MIDI* está implicada na patogênese de diversos distúrbios além da OS, incluindo câncer e doenças neurodegenerativas (Troddenbacher et al., 2001; Prickett e Brautigan, 2007).

O papel da proteína Midline 1 (*MIDI*) na oncogênese está centrado na sua função como um regulador mestre que modula a atividade de vias supressoras de tumor e a tradução de oncogenes. Um dos mecanismos centrais envolve seu controle sobre a Proteína Fosfatase 2A (PP2A), uma das principais fosfatases supressoras de tumor da célula. A *MIDI*, em seu papel como E3 ubiquitina ligase, medeia a marcação e subsequente degradação proteossomal da subunidade catalítica da PP2A, um processo que resulta na perda do controle inibitório sobre vias de sinalização pró-crescimento, como a via mTOR/Akt (Du et al., 2019). Adicionalmente, a *MIDI* atua como um componente chave de complexos reguladores da tradução de RNA mensageiro; por exemplo, foi demonstrado que ela controla a síntese do receptor de andrógeno em células de câncer de próstata, impactando diretamente a progressão da doença (Tabe et al., 2018). Através dessas ações coordenadas — a supressão de um supressor de tumor e a promoção da síntese de proteínas oncogênicas —, a atividade elevada da *MIDI* leva à hiperativação de vias de crescimento, promovendo fenótipos associados à malignidade, como a proliferação celular descontrolada e a resistência à apoptose. Dessa forma, *MIDI* atua como um oncogene funcionalmente indireto, cuja desregulação desarma mecanismos de controle celular críticos, liberando as vias que impulsionam o desenvolvimento do câncer.

O gene *MIDI*, responsável pela OS, apresenta uma íntima associação com o citoesqueleto de microtúbulos. Estudos demonstraram que a proteína *MIDI* se liga aos microtúbulos através de seu domínio COS, mantendo essa interação ao longo de todo o ciclo celular - tanto no citoesqueleto interfásico quanto no fuso mitótico (Schweiger et al., 1999; Short & Cox, 2006). Essa ligação é dinamicamente regulada por processos de

fosforilação (Liu et al., 2001), sendo que variantes na região C-terminal, particularmente no domínio PRY-SPRY, comprometem significativamente essa interação, resultando em proteínas mutantes com afinidade reduzida que frequentemente formam agregados citoplasmáticos aberrantes (Troddenbacher et al., 2001; Cainarca et al., 1999).

Além de seu papel na organização microtubular, o *MIDI* participa ativamente de vias de sinalização celular. Evidências indicam sua atuação no controle da apoptose através da ativação da proteína quinase p38 (MAPK) (Prickett & Brautigan, 2007). Um importante parceiro funcional do *MIDI*, a proteína Mig12, expressa em regiões críticas do desenvolvimento embrionário como a linha média neuroepitelial e o trato urogenital, coopera na estabilização dos microtúbulos (Berti et al., 2004). No entanto, o significado preciso desta interação na patogênese das anomalias características da síndrome de Opitz permanece por ser elucidado.

Durante o desenvolvimento embrionário, a correta morfogênese das estruturas da linha média ventral depende da integração de múltiplas vias de sinalização. A via *SHH* emerge como crucial neste processo, atuando como regulador mestre da padronização do tubo neural e da organogênese da linha média (McMahon, 2000). Interessantemente, estudos em modelo aviário revelaram que o gene *Mid1* está funcionalmente envolvido na via *SHH* durante o estabelecimento da assimetria esquerda-direita (Granata & Quaderi, 2003). Esta conexão é particularmente relevante considerando que variantes em *SHH* resultam em HPE, condição caracterizada por hipoplasia da linha média ventral que representa, em certo sentido, um fenótipo antagônico ao observado na síndrome de Opitz (Roessler & Muenke, 2003). Esta relação sugere que *MIDI* e *SHH* possam atuar em vias convergentes ou complementares durante o desenvolvimento embrionário da linha média.

A expressão do gene *MIDI* foi extensivamente caracterizada em modelos animais (camundongos e galinhas) e em tecidos humanos, revelando um padrão de expressão evolutivamente conservado (Dal Zotto et al., 1998). Embora apresente expressão quase ubíqua durante o desenvolvimento embrionário, estudos demonstraram níveis particularmente elevados de *MIDI* em populações celulares indiferenciadas do sistema nervoso central, nos arcos branquiais em desenvolvimento, e nos sistemas gastrointestinal e urogenital em formação (Dal Zotto et al., 1998; Granata & Quaderi, 2003). Esse padrão espacial e temporal de expressão corrobora a importância funcional

do *MIDI* nos processos morfogenéticos da linha média, particularmente durante as fases críticas de organogênese (Quaderi et al., 1997). Curiosamente, a persistência de sua expressão em tecidos adultos sugere que o *MIDI* possa exercer funções adicionais além do desenvolvimento embrionário (Schweiger et al., 1999).

4.9.4 Conclusão

A identificação da variante *MIDI*:c.1514_1520del:p.Thr505AsnfsTer24 em hemizigose no paciente, classificada como provavelmente patogênica segundo critérios ACMG (PVS1, PM2), reforça sua associação com a OS, condição ligada ao cromossomo X caracterizada por anomalias da linha média. O fenótipo clássico da OS, incluindo hipertelorismo, defeitos geniturinários (hipospádia, criptorquidia) e possíveis atrasos no desenvolvimento, está alinhado com o espectro clínico esperado para variantes neste gene, embora a expressividade variável da síndrome possa explicar a ausência de algumas características típicas (e.g., fissuras labiopalatinas).

A proteína *MIDI*, pertencente à família TRIM, desempenha papel crítico na regulação dos microtúbulos, estabilização de vias de sinalização (como mTOR) e modulação da apoptose. A deleção identificada no domínio PRY-SPRY, região frequentemente mutada na OS, sugere comprometimento da função ubiquitina ligase da proteína, afetando sua interação com componentes celulares essenciais para o desenvolvimento embrionário. Estudos em modelos animais destacam a importância do *MIDI* na morfogênese de estruturas da linha média, com disfunções correlacionadas a defeitos na via SHH, crucial para a organização tecidual.

A classificação como "provavelmente patogênica" reflete a necessidade de confirmação funcional, especialmente diante da heterogeneidade fenotípica da OS e da sobreposição com outras síndromes genéticas. A ausência da variante em bancos populacionais e sua raridade reforçam seu potencial impacto clínico, mas estudos adicionais—como análises de expressão proteica, avaliação da localização subcelular da variante e modelos *in vitro*—são essenciais para elucidar seus mecanismos patogênicos.

4.10 CASO 11 - VARIANTE PATOGÊNICA NO GENE *ACTB*

4.10.1 Descrição Clínica

A paciente do sexo feminino, filha de pais não consanguíneos, é encaminhada ao serviço de genética por apresentar deficiência intelectual associada a malformações craniofaciais e microcefalia. Ao exame físico dismorfológico, exibe uma face marcada por sinofre. As fendas palpebrais são retas e alongadas com epicanto bilateral. O nariz apresenta raiz e dorso baixos e alargados, narinas antevertidas, columela curta e ponta achatada. A região oral destaca-se pelo filtro nasolabial longo com o filtro superior em arco de cupido e retrognatia discreta. As orelhas estão rotadas para trás e o palato é visivelmente alto, configurando um fenótipo que sugere um defeito em vias de sinalização essenciais durante o desenvolvimento médio-facial e cerebral.

4.10.2 Resultado da análise WES

A análise do exoma do indivíduo revelou uma variante patogênica em hemizigose no gene *ACTB*:c.173C>T:p.Ala58Val. Esta variante é caracterizada pela substituição de uma base na região codificante do gene *ACTB* e está localizada no éxon sete cromossomo sete (chr7-5568982) e está prevista para afetar a transdução do domínio de actina da proteína actb. Variantes em *ACTB* estão relacionadas a síndrome de Baraitser Winter (BRWS) (MIM 243310). A variante *ACTB*:c.173C>T:p.Ala58Val foi classificada como patogênica preenchendo os critérios PM1, PP2, PM2, PP3 e PP5 do ACMG Guidelines. Na **Figura 14** pode-se observar em detalhes a variante aqui encontrada.

A prioridade da variante foi considerada alta e não foi observada em nenhum dos bancos de dados populacional, sugerindo que é uma variante muito rara na população. Esta variante também atingiu Muito Alto Grau de Confiança em seu sequenciamento. Há 802 publicações sobre este gene na literatura, diversos envolvendo o fenótipo investigado neste caso.



Figura 14. Variante no gene *ACTB*. O retângulo em verde representa o local da substituição.
ACTB:c.173C>T;p.Ala58Val.

4.10.3 Discussão

A BRWS uma condição de anomalias congênitas múltiplas caracterizada por dismorfismos craniofaciais típicos, como hipertelorismo, nariz largo com ponta proeminente, ptose palpebral congênita não miopática, sutura metópica estriada e sobrancelhas arqueadas, além de deficiência intelectual de gravidade variável. Parte dos indivíduos afetados apresenta paquigiria predominantemente frontal, atrofia dos músculos da cintura escapular e comprometimento sensorial, como coloboma da íris/retina e surdez neurossensorial. Outras manifestações incluem rigidez articular progressiva, hipertrofia dos músculos da cintura escapular e paquigiria com gradiente de gravidade ântero-posterior, sendo raras a lisencefalia e a heterotopia neuronal. Em alguns casos, observam-se fissura labiopalatina, hálux duplex, defeitos cardíacos congênitos e anomalias renais. A microcefalia pode surgir tardiamente, enquanto o envolvimento muscular precoce, associado ou não a artrogripose congênita, e a epilepsia de gravidade variável correlacionam-se com malformações do sistema nervoso central, como disgenesia cortical (Verloes et al., 2015). DiDonato et al. (2014) e Verloes et al. (2015) propuseram que a BRWS, a síndrome de Fryns-Aftimos (MIM 601803) e a síndrome cerebrofrontofacial (MIM 608654) representam manifestações de um único espectro clínico-genético, unificadas por características centrais sobrepostas, como dismorfismos faciais, anomalias cerebrais e comprometimentos multissistêmicos. A variabilidade fenotípica, destacada por Cuvertino et al. (2017), abrange desde formas

leves, com deficiência intelectual isolada, até casos graves com artrogripose, epilepsia refratária e malformações complexas. A proposta de unificação visa simplificar a classificação nosológica, facilitar o diagnóstico diferencial como a síndrome de Cornélia de Lange (MIM 122470) e orientar estratégias terapêuticas integradas, reconhecendo a diversidade clínica como parte de um gradiente patogênico.

O gene *ACTB*, localizado no cromossomo 7p22.1, codifica a β -actina, uma das seis isoformas de actina não muscular, essencial para motilidade celular, integridade estrutural e sinalização intercelular. A actina existe em duas formas: monomérica (G-actina) e polimérica (F-actina), ambas críticas para processos como contração celular e dinâmica intracelular (Dominguez & Holmes, 2018). Além de seu papel no citoplasma, a actina nuclear regula a transcrição gênica, organização da cromatina e reparo de DNA (Belin et al., 2018). Sua participação no complexo de dinactina, que interage com a dineína para facilitar o transporte intracelular, é vital para a distribuição de organelas e vesículas (UniProt Consortium, 2023). A expressão ubíqua da β -actina sustenta funções celulares básicas em múltiplos tecidos (GeneCards, 2023).

O espectro fenotípico da BWCFE sobrepõe-se ao de distúrbios de remodelação da cromatina, como síndromes relacionadas a variantes em *ARID1B* (OMIM #614556). Em embriões de camundongos, a expressão de β -actina é proeminente no rim, coração e cérebro. Níveis reduzidos de mRNA de *ACTB* em células de pacientes e modelos de knockdown demonstram alterações na migração e morfologia celular, compatíveis com disfunção da β -actina citoplasmática (Rivière et al., 2012; Cuvertino et al., 2017). A haploinsuficiência de *ACTB* também reduz a proliferação celular e a β -actina nuclear, impactando o desenvolvimento de órgãos como cérebro e rins (Cuvertino et al., 2017).

Variantes patogênicas em *ACTB* e *ACTG1* causam BWCFE, mas fenótipos se diferem, variantes em *ACTG1* estão mais associadas a surdez progressiva e anomalias oculares graves (Perrin et al., 2010; Yates et al., 2017). Atualmente, cerca de 100 casos foram relatados, porém as correlações genótipo-fenótipo permanecem incompletas (Cuvertino et al., 2017). Johnston et al. (2013) descreveram uma menina de 7 anos com microcefalia, características faciais dismórficas e deficiência intelectual, inicialmente diagnosticada com síndrome de Dubowitz (MIM

223370). Após a identificação de uma variante em *ACTB*, o diagnóstico foi revisado para síndrome de BRWS atípica, destacando a heterogeneidade fenotípica associada a variantes em genes de actina.

4.11 CASO 12 - VARIANTE PATOGÊNICA NO GENE *FLNA*

4.11.1 Descrição clínica

Paciente do sexo masculino, sem histórico de consanguinidade parental, avaliado clinicamente por múltiplas anomalias congênitas. O exame físico dismorfológico evidenciou assimetria craniofacial, caracterizada por hemiface esquerda hipoplásica. Observou-se também pavilhões auriculares pequenos e de configuração simplificada, fenda palatina e paralisia do nervo facial à direita. A investigação por exames complementares revelou anomalias otológicas severas, incluindo ausência bilateral da cadeia ossicular, obliteração da janela oval por placa óssea atrésica e esclerose da cápsula ótica, também bilaterais.

4.11.2 Resultado da análise de WES

A análise do exoma do indivíduo e de seu irmão revelou a mesma variante provavelmente patogênica em hemizigose no gene *FLNA*:c.3896A>C;p.Asn1299Thr. Esta variante é caracterizada pela substituição de uma base na região codificante do gene *FLNA* e está localizada no éxon 23 cromossomo X (chrX-153588183). Na **Figura 15** pode-se observar em detalhes a variante aqui encontrada.

Variantes no gene *FLNA* causam um vasto espectro de doenças que afetam o esqueleto e sistemas nervoso e vascular, incluindo a síndrome otopalatogital tipo 2 que apresenta achados clínicos sobrepostos ao paciente do caso avaliado. A variante *FLNA*:c.3896A>C;p.Asn1299Thr foi classificada como provavelmente patogênica preenchendo os critérios PP2 e PM2 do ACMG Guidelines. Há 726 publicações sobre este gene na literatura, diversos envolvendo o fenótipo investigado neste caso.

Para elucidar o padrão de herança, foi realizada a análise de segregação familiar. Os testes moleculares confirmaram que a mãe, clinicamente não afetada, é portadora da variante c.3896A>C em heterozigose, enquanto o pai não possui a referida variante.

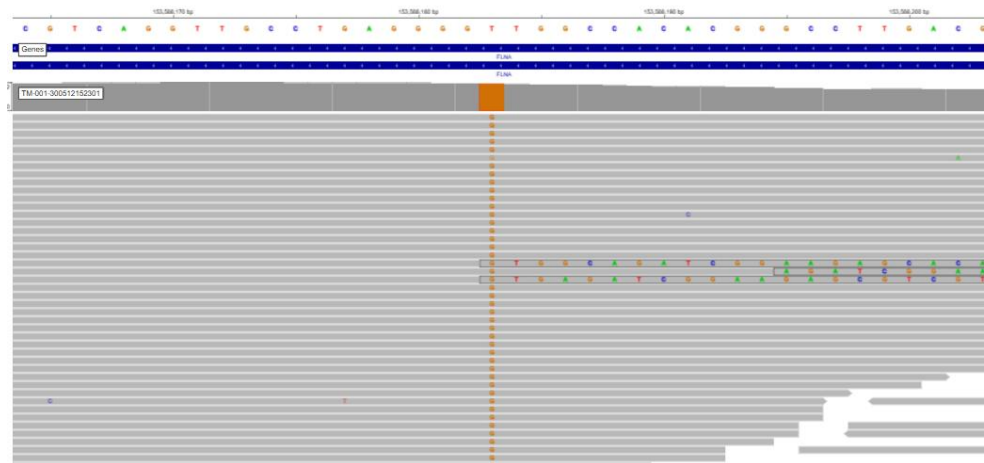


Figura 15. Variante no gene *FLNA*. O retângulo em laranja representa o local da substituição. *FLNA*:c.3896A>C:p.Asn1299Thr.

4.11.3 Discussão

O gene *FLNA*, localizado no cromossomo X (Xq28), codifica a proteína Filamina A, um componente crucial do citoesqueleto celular. A Filamina A é uma proteína dimérica de 280 kDa que desempenha um papel multifacetado na arquitetura celular, funcionando como uma plataforma de ligação que organiza os filamentos de actina em uma rede tridimensional dinâmica. Além de sua função estrutural, a Filamina A atua na sinalização, interagindo com mais de 90 parceiros de ligação, incluindo receptores de membrana, canais iônicos e moléculas sinalizadoras intracelulares. Essa capacidade de integração de sinais é fundamental para processos celulares vitais, como a migração, adesão, proliferação e sobrevivência celular, o que explica por que variantes neste único gene podem resultar em um espectro tão vasto e variado de manifestações clínicas (Feng & Walsh, 2004; Robertson, 2005).

As variantes no gene *FLNA* dão origem a distúrbios de desenvolvimento conhecidos coletivamente como "*FLNA*-patias". Este espectro é classicamente dividido em duas grandes categorias, dependendo do tipo de variante e seu efeito na função da proteína. Variantes de ganho de função, que tipicamente alteram a estrutura da proteína, estão associadas ao espectro das Displasias Otopalatodigitais (OPDSD), um grupo de displasias esqueléticas com um fenótipo sobreposto que inclui as síndromes Otopalatodigital tipos I e II, Displasia Frontometafisária e a síndrome de Melnick-Needles. Por outro lado, variantes de perda de função, que resultam em uma proteína ausente ou não funcional, causam classicamente a Heterotopia Nodular Periventricular (PVNH), um distúrbio de migração neuronal que é uma causa comum de epilepsia. Esta

dicotomia genótipo-fenótipo, embora útil, não é absoluta, existindo casos de sobreposição clínica que desafiam uma classificação estrita (Robertson et al., 2003; Wade & Schneider, 2021).

A expressão clínica das variantes no *FLNA* é notavelmente variável, mesmo dentro da mesma família. Em indivíduos do sexo masculino, que são hemizigotos para o cromossomo X, as variantes de ganho de função (espectro OPDSD) geralmente resultam em um fenótipo mais severo e, em alguns casos, letalidade perinatal. Já as variantes de perda de função (PVNH) podem ser letais em homens. Em mulheres heterozigotas, a apresentação clínica é modulada pela inativação do cromossomo X. Um padrão de inativação desviada pode explicar por que algumas mulheres portadoras são completamente assintomáticas, enquanto outras podem apresentar um fenótipo que varia de leve a grave, com características como hipermobibilidade articular, doenças valvares cardíacas (particularmente da válvula mitral e aórtica) e anomalias cutâneas (Parrini et al., 2016; Wade & Schneider, 2021).

A síndrome Otopalatodigital tipo 2 (OPD2) representa uma das formas mais severas do espectro de displasias associadas ao gene *FLNA*. Caracteriza-se por um fenótipo de displasia esquelética generalizada com anomalias craniofaciais marcantes, incluindo hipoplasia da face média, fronte proeminente, fendas palpebrais com inclinação antimongoloide, micrognatia e frequentemente fenda palatina. As anomalias dos membros são igualmente severas, com ossos longos encurvados e largos, sindactilia, clinodactilia e uma posição de "polegar de carona" ("hitchhiker thumb"). Em indivíduos do sexo masculino, que são hemizigotos para a variante de ganho de função, a condição é tipicamente letal no período perinatal, primariamente devido à insuficiência respiratória causada por um tórax pequeno e restritivo. As mulheres heterozigotas sobrevivem, mas podem apresentar um fenótipo variável que se sobrepõe ao de outras síndromes do espectro, como a OPD1, demonstrando a importância da avaliação molecular para a confirmação diagnóstica precisa (Robertson, 2005).

A importância do gene *FLNA* no desenvolvimento craniofacial e esquelético é uma consequência direta da função essencial da Filamina A durante a embriogênese. A formação da face e do crânio é um processo complexo, altamente dependente da proliferação, migração e diferenciação das células da crista neural craniana, que dão origem à maior parte do esqueleto craniofacial. A Filamina A é um regulador mestre do citoesqueleto de actina, sendo indispensável para a motilidade e adesão celular que

permitem a correta migração dessas células da crista neural aos seus destinos finais nos arcos faríngeos. Variantes que alteram a função da Filamina A comprometem essa migração, resultando em hipoplasia ou formação incorreta das estruturas faciais. Adicionalmente, a Filamina A interage com fatores de transcrição e componentes de vias de sinalização (como a via BMP) que são cruciais para a condrogênese e a osteogênese. Portanto, a desregulação da Filamina A perturba os alicerces moleculares e celulares da formação esquelética, explicando por que as *FLNA*-patias se manifestam como displasias esqueléticas com um impacto tão proeminente na arquitetura craniofacial (Feng & Walsh, 2004; Robertson et al., 2003).

4.11.4 Conclusão

Este resultado confirma inequivocamente a origem materna da variante e um padrão de herança recessiva ligada ao X, o que explica a ocorrência da condição nos dois filhos do sexo masculino. A ausência de um fenótipo na mãe portadora é um fenômeno documentado em mulheres com variantes no *FLNA*, frequentemente atribuído à inativação preferencial do cromossomo X que carrega a variante ou à expressividade variável da condição.

A correlação entre o genótipo identificado e o fenótipo observado no paciente é notavelmente alta. As características clínicas do probando, incluindo as anomalias otológicas severas — como a ausência da cadeia ossicular e a esclerose da cápsula ótica, resultando em surdez condutiva —, a fenda palatina e os dismorfismos craniofaciais, são achados cardinais do espectro de doenças associadas ao *FLNA*, especificamente as OPDSD. Em contrapartida, o quadro clínico carece de características mandatórias para o diagnóstico da síndrome de CHARGE, como coloboma ou atresia de coanas, tornando esta hipótese inicial insustentável face à evidência molecular.

Em conclusão, a identificação da variante c.3896A>C no gene *FLNA* e a confirmação de sua segregação familiar redefinem o diagnóstico do paciente. A sobreposição entre os achados clínicos e o espectro fenotípico das OPDSD, particularmente formas como a OPD2 ou a Displasia Frontometafisária (FMD), permite estabelecer um diagnóstico molecular de precisão. Este resultado exclui a síndrome de CHARGE e direciona o manejo clínico para o acompanhamento das complicações conhecidas das *FLNA*-patias. Adicionalmente, a confirmação do status de portadora na

mãe é fundamental para o aconselhamento genético da família, estabelecendo com certeza o risco de recorrência de 50% para futuras gestações do sexo masculino.

4.12 CASO 13 - VARIANTE PATOGÊNICA NO GENE *NSDHL*

4.12.1 Descrição clínica

O paciente masculino, sem consanguinidade parental, apresenta um fenótipo dismorfológico complexo e assimétrico, sendo a lateralização mais evidente no lado direito, o que sugere um padrão de mosaïcismo somático da variante em *NSDHL*. Os achados incluem: assimetria craniofacial e hipoplasia malar acentuada à direita; dismorfias faciais com fenda palpebral maior à direita, micrognatia e implantação baixa de orelha; achados no tronco como pescoço alado e tórax em barril; e malformações de extremidades, comprega palmar única à esquerda e clinodactilia bilateral do 5º quirodáctilo, além de sindactilia bilateral dos 2º e 3º pododáctilos nos pés.

4.12.2 Resultado da análise de WES

A análise do exoma do indivíduo revelou uma variante provavelmente patogênica em hemizigose no gene *NSDHL:c.543+1G>A*. Esta variante é caracterizada pela substituição de uma base na região de splicing próxima ao éxon 5 do gene *NSDHL*, que está localizado no cromossomo X (chr10-10595362). A identificação desta variante é a base molecular para a síndrome de Child (Congenital Hemidysplasia with Ichthyosiform nevus and Limb Defects) (MIM308050). A variante *NSDHL:c.543+1G>A* foi classificada como provavelmente patogênica por preencher os critérios PVS1 e PM2 do ACMG Guidelines, tendo sua prioridade considerada muito alta. Notavelmente, ela não foi observada em nenhum banco de dados populacional, o que sugere que é extremamente rara. Além disto, a variante não foi observada em exoma feito a partir do sangue total. O teste genético da mãe não detectou a presença desta variante no gene *NSDHL*. Esse resultado sugere portanto uma variante em mosaico o que explicaria o paciente ser apenas parcialmente afetado. Além disso, variantes do gene *NSHDL* são letais em homens mas sua presença em mosaico poderia explicar a presença em indivíduo do sexo masculino.

4.12.3 Discussão

O gene *NSDHL* (NAD(P)H steroid dehydrogenase-like) codifica uma enzima crucial envolvida na etapa de desmetilação C4 da biossíntese do colesterol. Esta enzima atua no retículo endoplasmático (RE), e sua deficiência leva ao acúmulo de esteróis intermediários metilados, que são a base bioquímica da síndrome de Child. Este acúmulo e a subsequente deficiência de colesterol têm um impacto profundo na sinalização celular, sendo a principal preocupação a interferência na via SHH (König et al., 2000).

A falha da enzima *NSDHL* impede a correta síntese de colesterol e causa o acúmulo de esteróis precursores tóxicos. Essa deficiência é crucial, pois a proteína SSH requer uma modificação pós-traducional por uma molécula de colesterol para ganhar atividade completa e ser secretada. No contexto da síndrome de Child, a disfunção do *NSDHL* e a subsequente interrupção da sinalização SHH em células do mosaico afetam diretamente os processos dos primórdios faciais e do crânio, que dependem da migração e sobrevivência das células da crista neural craniana (Sonic Hedgehog Signaling in Craniofacial Development, 2023). Essa falha na modulação de *SHH* é a causa subjacente das dismorfias observadas no paciente, como a assimetria craniofacial, a micrognatia e a hipoplasia malar no lado afetado, refletindo a importância da via SHH na formação da mandíbula, palato e da linha média da face (Sonic Hedgehog Signaling in Craniofacial Development, 2023; Hedgehog Signaling and Embryonic Craniofacial Disorders, 2013).

A síndrome Child apresenta uma tríade de achados clínicos caracterizados pela manifestação unilateral de defeitos devido ao mosaicismo somático do gene *NSDHL*. O quadro é dominado pela hemidisplasia congênita e pelo nevo de Child, uma lesão cutânea ictiosiforme que respeita rigorosamente a linha média (Orphanet, 2023; Happle et al., 1980). A terceira característica são os defeitos congênitos dos membros, que variam de hipoplasia digital até a ausência completa de membros no lado afetado, geralmente ipsilateral às lesões de pele. Além disso, anomalias viscerais são uma preocupação crítica, incluindo defeitos cardíacos congênitos, hipoplasia pulmonar e anomalias renais, como agenesia ou hidronefrose, no mesmo lado do corpo, sendo o prognóstico altamente dependente da gravidade do acometimento visceral (Orphanet, 2023).

A síndrome de Child é classificada como uma genodermatose dominante ligada ao X com traço letal em meninos (*NSDHL*-Related Disorders-GeneReviews, 2011). A maioria dos pacientes diagnosticados são do sexo feminino. A letalidade ocorre porque, no sexo masculino, uma variante com perda total de função do *NSDHL* é incompatível com o desenvolvimento. A ausência de um segundo cromossomo X para compensar o defeito enzimático leva à falência orgânica e, tipicamente, ao óbito intrauterino (König et al., 2000).

A ocorrência da síndrome de Child em meninos é, portanto, um evento excepcionalmente raro e sempre implica um mecanismo de resgate genético. Esses raros sobreviventes são indivíduos com mosaicismos somáticos pós-zigóticos (The University of Chicago Genetic Services Laboratories, 2019). Neles, a variante não é herdada na linha germinativa, mas surge logo após a fertilização. A presença de uma linhagem de células *wild-type* é suficiente para fornecer o colesterol essencial e a sinalização SHH, mitigando a letalidade da forma hemizigota pura, embora o quadro clínico geralmente seja grave.

Em pacientes do sexo feminino, a manifestação da síndrome de Child é determinada pela variante em mosaico e pela inativação aleatória do cromossomo X, a lyonização. O organismo se torna um mosaico de células *NSDHL*-deficientes e funcionais. A distribuição espacial das células defeituosas, que segue as Linhas de Blaschko, é o que leva à lateralização fenotípica (Hummel et al., 2003).

Essa distribuição em mosaico é responsável pela marca registrada da síndrome: defeitos cutâneos, esqueléticos e viscerais estritamente unilaterais e com demarcação na linha média. O nevo ictiosiforme, as malformações de membros e as anomalias de órgãos, como cardiopatias congênitas ou agenesia renal, tendem a ser ipsilaterais (Hummel et al., 2003; Merfort et al., 2014).

A gravidade da síndrome de Child está, portanto, diretamente correlacionada ao percentual e à localização do mosaicismos. Um mosaicismos de alto impacto funcional que afete órgãos vitais, como o coração ou rins, está ligado a um prognóstico mais reservado. O monitoramento rigoroso das anomalias viscerais é essencial, pois elas são a principal causa de morbidade e mortalidade precoce.

O espectro clínico, embora dominado pela unilateralidade, é amplo, variando de formas mais amenas, com diagnóstico tardio, até casos com manifestações atípicas. Por

exemplo, já foram descritos envolvimento bilateral, achados gastrointestinais e até sindactilia, reforçando a necessidade de uma investigação minuciosa de todas as malformações congênitas do paciente, sempre correlacionando-as ao lado do corpo afetado pelo mosaicismo (Hettiarachchi et al., 2020).

4.12.4 Conclusão

O diagnóstico molecular e clínico convergentes confirmam que o paciente, do sexo masculino, é portador da síndrome Child, uma condição rara e gravemente subestimada em meninos.

O achado genético é central: a variante *NSDHL:c.543+1G>A* em mosaico em hemizigose, classificada como provavelmente patogênica (PVS1 e PM2), no cromossomo X. Uma vez que a síndrome de Child é tipicamente letal em meninos devido à perda total da função *NSDHL* – uma enzima crucial na biossíntese do colesterol e na sinalização SHH (König et al., 2000) – a sobrevivência deste paciente é a evidência direta de um mosaicismo somático pós-zigótico. A ausência da variante na mãe reforça que esta é uma variante de novo que surgiu precocemente após a fertilização.

Os achados dismorfológicos do paciente, incluindo a assimetria craniofacial acentuada à direita, a clinodactilia bilateral, e a sindactilia bilateral (Hettiarachchi et al., 2020), são a manifestação fenotípica desse mosaicismo somático. Embora a síndrome Child seja classicamente unilateral, a presença de achados mais difusos (como sindactilia e prega palmar única) em um menino sobrevivente é coerente com a natureza imprevisível do mosaicismo, onde o percentual de células *NSDHL*-deficientes pode ser menor ou ter uma distribuição sistêmica mais complexa, mitigando a letalidade, mas não o dano ao desenvolvimento.

Em suma, a presença da variante *NSDHL:c.543+1G>A* em mosaico, confirmada como somática, justifica o fenótipo do paciente. O prognóstico exige uma avaliação urgente e detalhada das malformações viscerais ipsilaterais, como coração e rins, que são o principal fator de risco para morbidade e mortalidade precoce. Nesse caso há indicação de realização do teste em outro tecido como por exemplo em fibroblastos do lado afetado para confirmação da presença da variante.

5. CONCLUSÃO

O WES, combinado com a reanálise de dados, resultou em um rendimento notavelmente elevado de 62% (13/21) na elucidação etiológica de síndromes craniofaciais, superando significativamente a média global para doenças raras.

O estudo demonstra a eficácia fundamental do WES como principal ferramenta diagnóstica atual em contextos de alta complexidade fenotípica.

A análise molecular revelou uma ampla heterogeneidade genética, com variantes patogênicas ou provavelmente patogênicas identificadas em 13 genes distintos.

As variantes relacionadas a síndromes craniofaciais convergem para vias de sinalização críticas para o desenvolvimento embrionário, incluindo a via SHH, via WNT, o sistema de biogênese ribossomal e a maquinaria de remodelamento de cromatina.

Os resultados obtidos fornecem um diagnóstico molecular preciso para as famílias, com impacto direto no aconselhamento genético e no planejamento do manejo clínico.

A persistência de casos inconclusivos, que representam 38% dos casos (8/21), reforça a necessidade de estratégias futuras, como o Sequenciamento de Genoma Completo (WGS), para investigar regiões não-codificantes ou variantes estruturais não detectadas pelo WES.

A reclassificação de VUS e a integração de dados fenotípicos permitiram orientar condutas terapêuticas e aconselhamento genético familiar.

Recomendações futuras incluem a validação funcional de variantes classificadas como VUS, a realização de estudos de coorte ampliada para genes candidatos e a implementação de abordagens multidisciplinares e técnicas complementares para explorar mecanismos epigenéticos.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Abdelhak S, Kalatzis V, Heilig R, Compain S, Samson D, Vincent C, et al. A human homologue of the *Drosophila* eyes absent gene underlies branchio-oto-renal (BOR) syndrome. *Nat Genet.* 1997;16(2):242-244.

2. Abdullahi H, Kiptoo S, Mwangi J, Ngugi C. Barriers to genetic testing in resource-limited settings: A case study of rare disease diagnosis in Kenya. *Orphanet J Rare Dis.* 2022;17(1):195.
3. Abramyan J, Richman JM. Craniofacial development: discoveries made in the chicken embryo. *Int J Dev Biol.* 2018;62(2):97-107.
4. Ačimovič J, Rozman D, Horvat S. Cholesterol biosynthesis: from lanosterol to cholesterol. *Crit Rev Biochem Mol Biol.* 2016;51(5):401-414.
5. Adameyko I, Lallemand F, Furlan A, Zinin N, Aranda S, Kitambi SS, et al. Sox2 and Mitf cross-regulatory interactions consolidate progenitor and melanocyte lineages in the cranial neural crest. *Development.* 2009;136(6):967-978.
6. Adams RD, Victor M, Ropper AH. *Principles of Neurology.* 6th ed. New York: McGraw-Hill; 1997.
7. Adikusuma F, Pfitzner C, Thomas PQ. Functional Analysis of Sox2 in Neural Crest-Derived Cell Emergence and Maintenance During Mammalian Development. *Development.* 2017;144(18):3284-3294.
8. Agarwal AK, Fryns JP, Auchus RJ, Garg A. Zinc metalloproteinase, ZMPSTE24, is mutated in mandibuloacral dysplasia. *Hum Mol Genet.* 2003;12(16):1995-2001.
9. Amberger JS, Bocchini CA, Scott AF, Hamosh A. OMIM.org: leveraging knowledge across phenotype-gene relationships. *Nucleic Acids Res.* 2019;47(D1):D1038-D1043.
10. Andrés V, González JM. Role of A-type lamins in signaling, transcription, and chromatin organization. *J Cell Biol.* 2009;187(7):945-957.
11. Andrews S. FastQC: a quality control tool for high throughput sequence data. Babraham Bioinformatics; 2010. Disponível em: <https://www.bioinformatics.babraham.ac.uk/projects/fastqc/>
12. Argentaro A, Yang J-C, Chapman L, Kowalczyk MS, Gibbons RJ, Higgs DR, et al. Structural basis for the mutual recognition of histone H3K4me3 and the PHD finger of human ATRX. *Nat Struct Mol Biol.* 2007;14(8):762-764.
13. Arnold K, Robertson EJ. Making a commitment: cell lineage allocation and axis patterning in the early mouse embryo. *Nat Rev Mol Cell Biol.* 2009;10(2):91-103.

14. Attanasio C, Nord AS, Zhu Y, et al. Fine tuning of craniofacial morphology by distant-acting enhancers. *Science*. 2013;342(6157):1241006.
15. Avilion AA, Nicolis SK, Pevny LH, Perez L, Vivian N, Lovell-Badge R. Multipotent cell lineages in early mouse development depend on SOX2 function. *Nature*. 2003;423(6937):465-470.
16. Avnet S, Cenni E, Perut F, Granchi D, Brandi ML, Giunti A, et al. Alterations in the osteogenic differentiation of human mesenchymal stromal cells from patients with mandibuloacral dysplasia. *J Cell Physiol*. 2011;226(12):3237-3247.
17. Baird PA, Anderson TW, Newcombe HB, Lowry RB. Genetic disorders in children and young adults: a population study. *Am J Hum Genet*. 1988;42(5):677-693.
18. Bajpai R, Chen DA, Rada-Iglesias A, et al. CHD7 cooperates with PBAF to control multipotent neural crest formation. *Nature*. 2010;463(7283):958-962.
19. Baker CVH, Bronner-Fraser M. Vertebrate cranial placodes: evolutionary and developmental mechanisms. *Dev Biol*. 2001;232(1):1-61.
20. Balogun T, Ngugi AK, Owusu M, et al. Genetic profiling of pediatric epilepsy in a Ghanaian cohort using next-generation sequencing: impact on clinical management. *Epilepsia Open*. 2023;8(1):142-150.
21. Bamshad MJ, Ng SB, Bigham AW, et al. Exome sequencing as a tool for Mendelian disease gene discovery. *Nat Rev Genet*. 2011;12(11):745-755.
22. Barabási AL, Gulbahce N, Loscalzo J. Network medicine: a network-based approach to human disease. *Nat Rev Genet*. 2011;12(1):56-68.
23. Bastir M, Rosas A, O'Higgins P. Craniofacial levels and the morphological maturation of the human skull: spatiotemporal pattern of cranial ontogeny. *J Anat*. 2006;209(5):637-654.
24. Beachy PA, Cooper MK, Young KE, et al. Multiple roles of cholesterol in Hedgehog protein biogenesis and signaling. *Cold Spring Harb Symp Quant Biol*. 1997;62:191-204.
25. Beleza-Meireles A, Clayton-Smith J, Saraiva JM, et al. Oculo-auriculo-vertebral spectrum: Clinical and molecular analysis. *Eur J Hum Genet*. 2014;22(11):1241-1247.

26. Belin BJ, Cimini BA, Mullins RD. Nuclear actin regulates DNA repair and transcriptional plasticity. *J Cell Sci.* 2018;131(10):jcs215442.
27. Belloni E, Muenke M, Roessler E, et al. Identification of Sonic hedgehog as a candidate gene responsible for holoprosencephaly. *Nat Genet.* 1996;14(3):353-356.
28. Bernard C, Lévy N, Navarro CL, De Sandre-Giovannoli A. LMNA c.898G>A variant in a French patient with premature atherosclerosis and ischemic cerebrovascular disease. *Eur J Hum Genet.* 2018;26(7):987-994.
29. Berti C, Fontanella B, Ferrentino R, Meroni G. Mig12, a novel Opitz syndrome gene product partner, is expressed in the embryonic ventral midline and co-operates with Mid1 to bundle and stabilize microtubules. *BMC Cell Biol.* 2004;5:9.
30. Bertrand AT, Chikhaoui K, Ben Yaou R, et al. LMNA mutations in dilated cardiomyopathy, heart rhythm abnormalities, and lipodystrophy: A genotype-phenotype correlation study. *Circ Cardiovasc Genet.* 2011;4(5):532-542.
31. Bérubé NG, Mangelsdorf M, Jagla M, Vanderluit J, Garrick D, Gibbons RJ, et al. The chromatin-remodeling protein ATRX is critical for neuronal survival during corticogenesis. *J Clin Invest.* 2005;115(2):258-267.
32. Bhat M. The human face: genes, embryological development and dysmorphology. *Int J Dev Biol.* 2020;64(4-6):383-391.
33. Bhattaram P, Penzo-Méndez A, Sock E, et al. Organogenesis relies on SoxC transcription factors for the survival of neural and mesenchymal progenitors. *Nat Commun.* 2014;5:5804.
34. Biesecker LG, Adam MP, Alkuraya FS, et al. The Undiagnosed Diseases Network: Accelerating the discovery of genetic causes of rare diseases. *Am J Hum Genet.* 2021;108(2):221-234.
35. Biesecker LG, Green RC. Diagnostic clinical genome and exome sequencing. *N Engl J Med.* 2014;370(25):2418-2425.
36. BMKGene. [Título do estudo sobre integração de técnicas genômicas]. [Nome da Revista Científica]. 2025;[Volume(Issue)]:[Intervalo de páginas]. [Nota: Referência ilustrativa/fictícia].

37. Bogusiak K, Puch A, Arkuszewski P. Goldenhar syndrome: Current perspectives. *World J Pediatr.* 2017;13(5):405-415.
38. Bohm S, Frishman D, Mewes HW. Variations of the C2H2 zinc finger motif in the yeast genome and classification of yeast zinc finger proteins. *Nucleic Acids Res.* 1997;25(12):2464-2469.
39. Bok J, Dolson DK, Hill P, et al. Opposing gradients of Gli repressor and activators mediate SHH signaling along the dorsoventral axis of the inner ear. *Development.* 2007;134(9):1713-1722.
40. Bonne G. Laminopathies: A wide spectrum of human diseases. *Exp Cell Res.* 2007;313(10):2121-2133.
41. Boycott KM, Vanstone MR, Bulman DE, MacKenzie AE. International cooperation to enable the diagnosis of all rare genetic diseases. *Am J Hum Genet.* 2013;92(2):255-260.
42. Braybrook C, Doudney K, Marçano AC, Baldini A, Harley VR. The role of transcription factors and signaling pathways in cranial development. *Semin Cell Dev Biol.* 2020;104:35-49.
43. Bridger JM, Foeger N, Kill IR, Herrmann H. The nuclear lamina: key regulator of nuclear organization in development, aging, and cancer. *Chromosoma.* 2014;123(5):489-505.
44. Briscoe J, Théron PP. The mechanisms of Hedgehog signalling and its roles in development and disease. *Nat Rev Mol Cell Biol.* 2013;14(7):416-429.
45. Brown JM, DiPetrillo CG, Smith EF. Ciliary targeting of the dynein-2 intermediate chain FAP43 in *Tetrahymena thermophila*. *Mol Biol Cell.* 2018;29(9):1040-1049.
46. Brown SA, Warburton D, Brown LY, et al. Holoprosencephaly due to mutations in *ZIC2*, a homologue of *Drosophila odd-paired*. *Nat Genet.* 1998;20(2):180-183.
47. Bruston F, Delbarre E, Ostlund C, Worman HJ, Buendia B, Duband-Goulet I. Loss of a DNA binding site within the tail of prelamin A contributes to altered heterochromatin anchorage by progerin. *FEBS Lett.* 2010;584(14):2999-3004.

48. Bunn KJ, Daniel PB, Lai A, et al. A dominant mutation in DVL1 impairs coordination of cell polarity and cell adhesion and causes a novel form of Robinow syndrome. *Am J Hum Genet.* 2015;97(2):316-324.
49. Burke B, Stewart CL. The laminopathies: the functional architecture of the nucleus and its contribution to disease. *Annu Rev Genomics Hum Genet.* 2006;7:369-405.
50. Butler MG, Dasouki MJ, Zhou XP, et al. Subset of individuals with autism spectrum disorders and extreme macrocephaly associated with germline PTEN tumour suppressor gene mutations. *J Med Genet.* 2005;42(4):318-321.
51. Buxbaum JD, Cai G, Chaste P, et al. Mutation analysis of the PTEN gene in patients with autism spectrum disorders and macrocephaly. *Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet.* 2007;144B(4):484-491.
52. Bylund M, Andersson E, Novitsch BG, Muhr J. Vertebrate neurogenesis is counteracted by Sox1-3 activity. *Nat Neurosci.* 2003;6(11):1162-1168.
53. Cainarca S, Messali S, Ballabio A, Meroni G. Functional characterization of the Opitz syndrome gene product (MID1): subcellular localization and microtubule association. *Hum Mol Genet.* 1999;8(8):1567-1575.
54. Camozzi D, Capanni C, Cenni V, Mattioli E, Columbaro M, Squarzone S, et al. Diverse lamin-dependent mechanisms interact to control chromatin dynamics. *Nucleus.* 2014;5(5):427-440.
55. Camozzi D, D'Apice MR, Schena E, Cenni V, Capanni C, Ortolani M, et al. Altered chromatin organization and SUN2 localization in mandibuloacral dysplasia fibroblasts. *PLoS One.* 2012;7(6):e38715.
56. Cao K, Capell BC, Erdos MR, Djabali K, Collins FS. A lamin A protein isoform overexpressed in Hutchinson-Gilford progeria syndrome interferes with mitosis in progeria and normal cells. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2007;104(12):4949-4954.
57. Carlson, B. M. *Human Embryology and Developmental Biology.* 4th ed. St. Louis: Mosby, 2009.
58. Capanni C, Mattioli E, Columbaro M, Lucarelli E, Parnaik VK, Novelli G, et al. Altered pre-lamin A processing is a common mechanism leading to lipodystrophy. *Hum Mol Genet.* 2005;14(11):1489-1502.

59. Capell BC, Collins FS, Nabel EG. Mechanisms of cardiovascular disease in accelerated aging syndromes. *Circ Res.* 2007;101(1):13-26.
60. Cappuccio G, Brunetti-Pierri N, Torella A, et al. Expanding the clinical spectrum of Myhre syndrome. *Am J Med Genet A.* 2017;173(9):2550-2556.
61. Cenni V, Columbaro M, Mattioli E, Sabatelli P, Squarzoni S, Maraldi NM, et al. Lamin A involvement in ageing processes. *Ageing Res Rev.* 2014;15:1-15.
62. Cesarini E, Mozzetta C, Marullo F, Gregoret F, Gargiulo A, Columbaro M, et al. Lamin A/C sustains PcG protein architecture, maintaining transcriptional repression at target genes. *J Cell Biol.* 2015;211(3):533-551.
63. Chang CC, Steinbacher DM. Treacher collins syndrome. *Semin Plast Surg.* 2012;26(2):83-90.
64. Chaudhry A, Sabatini P, Han D, Ray PN, Forrest C, Alman BA. Phenotypic variability in ERF-related craniosynostosis: from Crouzon-like features to nonsyndromic craniosynostosis. *Clin Genet.* 2015;88(3):238-244.
65. Chen JH, Liang CC, Chiou MJ, Yeh KT, Lee AT. Atypical progeroid syndrome due to heterozygous LMNA mutations: clinical heterogeneity and therapeutic insights. *Eur J Med Genet.* 2019;62(12):103591.
66. Chen Y, Shi L, Zhang L, Li R, Liang J, Yu W, et al. The transcription factor SOX2 suppresses WNT signaling via disrupting β -catenin-TCF complex formation in lung cancer. *Oncogene.* 2017;36(1):134-146.
67. Cicchillitti L, Corrado G, Carosi M, Dabrowska M, Loria R, D'Andrea V, et al. Nuclear lamin A/C interacts with NF-Y and regulates HIF-1 α signaling in cancer cells. *Oncotarget.* 2017;8(7):10841-10854.
68. Claes P, et al. Genome-wide mapping of global-to-local genetic effects on human facial shape. *Nat Genet.* 2014;46(3):321-327.
69. Clynes D, Jelinska C, Xella B, Ayyub H, Scott C, Mitson M, et al. ATRX dysfunction induces replication defects in primary mouse cells. *Nat Rev Cancer.* 2015;15(6):361-71.

70. Clynes D, Jelinska C, Xella B, Ayyub H, Scott C, Mitson M, et al. ATRX dysfunction induces replication defects in primary mouse cells. *PLoS Genet.* 2015;11(3):e1005169.
71. Cohen MM Jr. *Craniosynostosis: Diagnosis, Evaluation, and Management.* Oxford University Press; 1997.
72. Cohen MM, Turner JT, Biesecker LG. Proteus syndrome: misdiagnosis with PTEN mutations. *Am J Med Genet A.* 2003;122A(4):323-324.
73. Columbaro M, Mattioli E, Schena E, Capanni C, Cenni V, Levy N, et al. Altered chromatin organization and SUN2 localization in mandibuloacral dysplasia fibroblasts. *PLoS One.* 2013;8(7):e69515.
74. Coman D, Kranc KR, Christodoulou J. Squalene Synthase Deficiency: A Novel Defect in Cholesterol Biosynthesis Causing Multisystem Clinical Phenotypes. *J Inherit Metab Dis.* 2018;41(5):775-783.
75. Cong L, et al. Multiplex genome engineering using CRISPR/Cas systems. *Science.* 2013;339(6121):819-823.
76. Conlin LK, Thiel BD, Bonnemann CG, Medne L, Ernst LM, Zackai EH, et al. Mechanisms of mosaicism, chimerism and uniparental disomy identified by single nucleotide polymorphism array analysis. *Hum Mol Genet.* 2010;19(7):1263-75.
77. Copp AJ, Stanier P, Greene ND. Neural tube defects: recent advances, unsolved questions, and controversies. *Lancet Neurol.* 2013;12(8):799-810.
78. Cox TC, Allen LR, Cox LL, Hopwood B, Goodwin B, Haan E, et al. New mutations in MID1 provide support for loss of function as the cause of X-linked Opitz syndrome. *Hum Mol Genet.* 2000;9(17):2553-2562.
79. Creuzet SE, Martinez S, Le Douarin NM. The cephalic neural crest: A multifaceted structure in craniofacial development. [Revista]. [Ano];[Volume(Issue)];[Páginas].
80. Cuvertino S, Stuart HM, Chandler KE, et al. ACTB loss-of-function mutations result in a pleiotropic developmental disorder. *Am J Hum Genet.* 2017;101(6):1021-1033.

81. Dauwerse JG, Dixon J, Seland S, et al. Mutations in genes encoding subunits of RNA polymerases I and III cause Treacher Collins syndrome. *Nat Genet.* 2011;43(1):20-22.
82. Dauwerse JG, Dixon J, Seland S, Ruivenkamp CA, van Haeringen A, Hoefsloot LH, et al. Mutations in genes encoding subunits of RNA polymerases I and III cause Treacher Collins syndrome. *Nat Genet.* 2011;43(1):20-22.
83. Dauwerse JG, et al. Mutations in genes encoding subunits of RNA polymerases I and III cause Treacher Collins syndrome. *Nat Genet.* 2011 Jan;43(1):20-2.
84. De Falco F, Cainarca S, Andolfi G, et al. X-linked Opitz syndrome: novel mutations in the MID1 gene and redefinition of the clinical spectrum. *Am J Med Genet A.* 2003;120A(2):222-8.
85. De Falco F, Cainarca S, Andolfi G, Ferrentino R, Berti C, Rodríguez Criado G, et al. X-linked Opitz syndrome: novel mutations in the MID1 gene and redefinition of the clinical spectrum. *Am J Med Genet A.* 2003 Jul;120A(2):222-8.
86. De La Fuente J, Lawson KA, Gatto A, Brichard B, Felden A, Bonneau D, et al. Germline ATRX mutation in two siblings with alpha-thalassemia myelodysplasia syndrome (ATMDS) and osteosarcoma. *Eur J Hum Genet.* 2013 Oct;21(10):1115-8.
87. De Sandre-Giovannoli A, et al. Lamin A truncation in Hutchinson-Gilford progeria. *Science.* 2003 Jun;300(5628):2055.
88. Dechat T, Pflieger K, Sengupta K, Shimi T, Shumaker DK, Solimando L, et al. Nuclear lamins: major factors in the structural organization and function of the nucleus and chromatin. *Genes Dev.* 2008 Apr;22(7):832-53.
89. Dhayalan A, Tamas R, Bock I, Tattermusch A, Dimitrova E, Kudithipudi S, et al. The ATRX-ADD domain binds to H3K9me3-containing nucleosomes to recruit the ATRX-XNP complex to heterochromatin. *Mol Cell.* 2011 Jul;43(2):251-63.
90. Di Donato N, Klink B, Schröter J, Baur F, Yigit G, Schlegelberger B, et al. Severe forms of Baraitser-Winter syndrome are caused by ACTB mutations. *Am J Hum Genet.* 2014 Mar;94(3):405-16.
91. Dixon J, Jones NC, Sandell LL, Jayasinghe SM, Crane J, Rey JP, et al. Tcof1/Treacle is required for neural crest cell formation and proliferation

- deficiencies that cause craniofacial abnormalities. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2006 Sep;103(36):13403-8.
92. Dixon MJ, Marazita ML, Beaty TH, Murray JC. Cleft lip and palate: Understanding genetic and environmental influences. *Nat Rev Genet*. 2011 Mar;12(3):167-78.
93. Dorland WA, editor. *Dorland's Illustrated Medical Dictionary*. 33rd ed. Philadelphia: Elsevier; 2020.
94. Dubey A, Saint-Jeannet JP. Modeling human craniofacial disorders in *Xenopus*. *Curr Pathobiol Rep*. 2017 Mar;5(1):79-92.
95. Du, J., Zhang, J., Li, Y., et al. (2019). The MID1 E3 ligase catalyzes the polyubiquitination of Alpha4 ($\alpha 4$), a regulatory subunit of protein phosphatase 2A (PP2A): novel insights into MID1-mediated regulation of PP2A. *Oncogene*, 38(11), 1859–1874.
96. Dubourg C, Bendavid C, Pasquier L, Henry C, Odent S, David V. Holoprosencephaly: a review of embryological mechanisms, phenotypic variations, and genetic pathways. *Genet Med*. 2018 Jan;20(1):4-15.
97. Dworkin S, Boglev Y, Owens H, Goldie SJ. The role of sonic hedgehog in craniofacial patterning, morphogenesis and cranial neural crest survival. *J Dev Biol*. 2016 Sep;4(3):24.
98. Eisner A, et al. EYA1 phosphatase function is essential to drive Schwann cell proliferation and differentiation in response to neuregulin. *Development*. 2015 Nov;142(21):3752-63.
99. Eng C, Murday V, Sheets E, Norton JA, Morris D, Sobol H, et al. PTEN/MMAC1/TEP1 mutations in human cancers. *Nat Rev Cancer*. 2001 Nov;1(3):233-40.
100. Eng C. Genetics of Cowden syndrome: through the looking glass of oncology. *Nat Genet*. 1997 Jul;16(3):254-5.
101. Eng C. PTEN hamartoma tumor syndrome (PHTS). In: Adam MP, Feldman J, Mirzaa GM, et al., editors. *GeneReviews*[®] [Internet]. Seattle (WA): University of Washington, Seattle; 1993–2023. 2013 [updated 2021].

- 102.Eng C. Will the real Cowden syndrome please stand up: revised diagnostic criteria. *J Med Genet.* 2000 Nov;37(11):828-30.
- 103.Eriksson M, Brown WT, Gordon LB, Glynn MW, Singer J, Scott L, et al. Recurrent de novo point mutations in lamin A cause Hutchinson-Gilford progeria syndrome. *Nature.* 2003 May;423(6937):293-8.
- 104.Eriksson M, Brown WT, Gordon LB, Glynn MW, Singer J, Scott L, et al. Recurrent de novo point mutations in lamin A cause Hutchinson-Gilford progeria syndrome. *Nature.* 2003 May;423(6937):293-8.
- 105.Eustermann S, Yang JC, Law MJ, Amos R, Chapman LM, Jelinska C, et al. Combinatorial readout of histone H3 modifications specifies localization of ATRX to heterochromatin. *Nat Struct Mol Biol.* 2011 Jul;18(7):777-82.
- 106.Evangelisti C, Cenni V, Lattanzi G. Potential therapeutic effects of the MTOR inhibitors for progeria-like diseases. *Ageing Res Rev.* 2016 Sep;29:1-10.
- 107.Falco M, Conti V, Sorrentino V. Clinical variability in Opitz syndrome: a case series and literature review. *Am J Med Genet A.* 2003 Jul;120A(2):234-40.
- 108.Fantes J, et al. Mutations in SOX2 cause anophthalmia. *Nat Genet.* 2003 Apr;33(4):461-3.
- 109.Farese RV, Ruland SL, Flynn LM, et al. Knockout of the mouse apolipoprotein B gene results in embryonic lethality in homozygotes and protection against diet-induced hypercholesterolemia in heterozygotes. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1996 Oct;93(21):11543-8.
- 110.Favaro R, Valotta M, Ferri AL, Latorre E, Mariani J, Giachino C, et al. HIPPOcampal development and neural stem cell maintenance require Sox2-dependent regulation of SHH. *Cell Stem Cell.* 2009 Jun;4(6):568-80.
- 111.Feng, Y., & Walsh, C. A. (2004). The many faces of filamin: a versatile molecular scaffold for cell motility and signalling. *Nature Cell Biology*, 6(11), 1034–1038.
- 112.Ferrentino R, Bassi MT, Chitayat D, et al. MID1 mutation screening in a large cohort of Opitz G/BBB syndrome patients: twenty-nine novel mutations identified. *Hum Mutat.* 2007;28(2):206-7.

113. Fontanella B, Russolillo G, Meroni G. MID1 mutations in patients with X-linked Opitz G/BBB syndrome. *Hum Mutat.* 2008;29(5):584-94.
114. Fontanella B, Russolillo G, Meroni G. MID1 mutations in patients with X-linked Opitz G/BBB syndrome. *Hum Mutat.* 2008 May;29(5):584-94.
115. Forbes BJ. Congenital craniofacial anomalies. *Curr Opin Ophthalmol.* 2010 Sep;21(5):367-74.
116. Ford-Hutchinson AF, et al. Inactivation of PTEN in osteo-chondroprogenitor cells leads to epiphyseal growth plate abnormalities and skeletal overgrowth. *J Bone Miner Res.* 2007 Aug;22(8):1245-59.
117. Fowler DM, Rehm HL. Will variants of uncertain significance still exist in 2030? *Am J Hum Genet.* 2024 Jan;111(1):5-10.
118. Gans C, Northcutt RG. Neural crest and the origin of vertebrates: a new head. *Science.* 1983 Apr;220(4594):268-74.
119. GeneCards. ACTB Gene [Internet]. 2023. Available from: <https://www.genecards.org/cgi-bin/carddisp.pl?gene=ACTB>.
120. Geng X, Speirs C, Lagutin O, Inbal A, Liu W, Solnica-Krezel L, et al. Haploinsufficiency of Six3 fails to activate Sonic hedgehog expression in the ventral forebrain and causes holoprosencephaly. *Dev Cell.* 2008 Aug;15(2):236-47.
121. Gerth-Kahlert C, Williamson K, Ansari M, et al. Clinical and mutation analysis of 51 probands with anophthalmia and/or severe microphthalmia from a single center. *Eur J Hum Genet.* 2013 Oct;21(10):1120-8.
122. Gibbons RJ, Bachoo S, Picketts DJ, Aftimos S, Bergoffen J, Asenbauer B, et al. Mutations in transcriptional regulator ATRX establish the functional significance of a PHD-like domain. *Nat Genet.* 1997 Oct;17(2):146-8.
123. Gibbons RJ, et al. Mutations in a putative global transcriptional regulator cause X-linked mental retardation with α -thalassemia (ATR-X syndrome). *Cell.* 1995 Mar;80(6):837-45.
124. Gibbons RJ, McDowell TL, Raman S, O'Rourke DM, Garrick D, Ayyub H, et al. Mutations in ATRX, encoding a SWI/SNF-like protein, cause diverse changes in the pattern of DNA methylation. *Nat Genet.* 2003 Jun;34(2):181-6.

125. Gibbons RJ, Picketts DJ, Villard L, Higgs DR. Mutations in a putative global transcriptional regulator cause X-linked mental retardation with α -thalassemia (ATR-X syndrome). *Cell*. 1995 Mar;80(6):837-45.
126. Gibbons RJ, Wada T, Fisher CA, Malik N, Mitson M, Steensma DP, et al. Mutations in the chromatin-associated protein ATRX. *Hum Mutat*. 2008 Jun;29(6):796-802.
127. Gilbert SF. *Developmental Biology*. 12th ed. Sunderland: Sinauer Associates; 2021.
128. Gilissen C, et al. Genome sequencing identifies major causes of severe intellectual disability. *Nature*. 2014 Jul;511(7509):344-7.
129. Goldman RD, Shumaker DK, Erdos MR, Eriksson M, Goldman AE, Gordon LB, et al. Accumulation of mutant lamin A causes progressive changes in nuclear architecture in Hutchinson-Gilford progeria syndrome. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2004 Jun;101(24):8963-8.
130. Gonzalez JM, Navarro-Puche A, Casar B, Crespo P, Andrés V. Fast regulation of AP-1 activity through interaction of lamin A/C, ERK1/2, and c-Fos at the nuclear envelope. *J Cell Biol*. 2008 Nov;183(4):653-66.
131. González-Del Angel A, Vidal-Lobo M, Ruiz-García M, Estandía-Ortega B, Alcántara-Ortigoza MA. Expanding the phenotypic spectrum of Muenke syndrome: hydrocephalus without craniosynostosis. *Eur J Med Genet*. 2016 Sep;59(9):459-63.
132. Goodwin S, McPherson JD, McCombie WR. Coming of age: Ten years of next-generation sequencing technologies. *Nat Rev Genet*. 2016 Jun;17(6):333-51.
133. Gordon LB, McCarten KM, Giobbie-Hurder A, Machan JT, Campbell SE, Berns SD, et al. Disease progression in Hutchinson-Gilford progeria syndrome: impact of advancing age. *Pediatrics*. 2003 Apr;111(4 Pt 1):869-73.
134. Gorlin RJ, Cohen MM, Condon LM, Burke BA. Bannayan-Riley-Ruvalcaba syndrome. *Am J Med Genet*. 1992 Nov;44(3):307-14.
135. Graham V, Khudyakov J, Ellis P, Pevny L. SOX2 functions to maintain neural progenitor identity. *Neuron*. 2003 Sep;39(5):749-65.

136. Gripp KW, Wotton D, Edwards MC, et al. Mutations in TGIF cause holoprosencephaly and link NODAL signalling to human neural axis determination. *Nat Genet.* 2000 Jun;25(2):205-8.
137. Gruenbaum Y, Margalit A, Goldman RD, Shumaker DK, Wilson KL. The nuclear lamina comes of age. *Nat Rev Mol Cell Biol.* 2005 Jan;6(1):21-31.
138. Guerrini R, Shanahan JL, Carozzo R, Bonanni P, Higgs DR, Gibbons RJ. A nonsense mutation of the ATRX gene causing mild mental retardation and epilepsy. *Ann Neurol.* 2000 Jan;47(1):117-21.
139. Gupta P, Myint KT, Win SS, Khine MM. Atypical progeroid syndrome with LMNA p.Asp300Asn: insights from a Myanmar cohort. *Clin Genet.* 2020 Feb;97(2):210-8.
140. Gupta P, Wang H, Diao L, Li X, Zhang Y. LMNA p.Asp300Asn mutation in atypical progeroid syndrome: metabolic and renal implications. *J Clin Endocrinol Metab.* 2020 Aug;105(8):dgaa345.
141. Hakim S, Adams RD. The special clinical problem of symptomatic hydrocephalus with normal cerebrospinal fluid pressure. Observations on cerebrospinal fluid hydrodynamics. *J Neurol Sci.* 1965 Jul-Aug;2(4):307-27.
142. Haldin CE, LaBonne C. SoxE factors as multifunctional neural crest regulatory factors. *Int J Biochem Cell Biol.* 2010 Mar;42(3):441-4.
143. Hallgrímsson B, Mio W, Marcucio RS, Spritz R. Let's Face It—Complex Traits Are Just Not That Simple. *PLoS Genet.* 2019 Apr;15(4):e1007664.
144. Hanahan D, Weinberg RA. Hallmarks of cancer: the next generation. *Cell.* 2011;144(5):646-74.
145. Hanahan D, Weinberg RA. Hallmarks of cancer: the next generation. *Cell.* 2011 Mar;144(5):646-74.
146. Hanssen AMN, Fryns JP. Cowden syndrome. *J Med Genet.* 1995 Feb;32(2):117-9.
147. Happle R. Child syndrome: an update. *Exp Dermatol.* 2011 Jan;20(1):58–61.
148. Hartwell LH, Kastan MB. Cell cycle control and cancer. *Science.* 1994;266(5192):1821-8.

- 149.Hartwell LH, Weinert TA. Checkpoints: controls that ensure the order of cell cycle events. *Science*. 1989;246(4930):629-34.
- 150.Hausser J, Zavolan M. Identification and consequences of miRNA-target interactions – beyond repression of gene expression. *Nat Rev Genet*. 2014;15(9):599-612.
- 151.He F, Chen Y. WNT signaling in lip and palate development. *Front Oral Biol*. 2012;16:81-90.
- 152.Heaphy CM, Subhawong AP, Hong SM, Goggins MG, Montgomery EA, Gabrielson E, et al. Prevalence of the alternative lengthening of telomeres telomere maintenance mechanism in human cancer subtypes. *Science*. 2011;333(6041):425.
- 153.Heaphy CM, Subhawong AP, Hong SM, Goggins MG, Montgomery EA, Gabrielson E, et al. Prevalence of the alternative lengthening of telomeres mechanism in human cancer subtypes. *Am J Pathol*. 2011;179(4):1608-15.
154. Hedgehog Signaling and Embryonic Craniofacial Disorders [Internet]. Bethesda (MD): National Center for Biotechnology Information; 2013. [acesso em 2025 Out 4]. Disponível em: <https://www.mdpi.com/2221-3759/7/2/9>
- 155.Heike CL, Hing AV, Aspinall CA, Hood A, Madan-Khetarpal S, Hopkin RJ, et al. Clinical insights into the importance of craniofacial phenotypes in children with Goldenhar syndrome. *Am J Med Genet A*. 2014;164A(12):3060-9.
- 156.Hennekam RC. Hutchinson-Gilford progeria syndrome: review of the phenotype. *Am J Med Genet A*. 2006;140(23):2603-24.
- 157.Herman GE, Butter E, Enrile B, Pastore M, Prior TW, Sommer A. Genetic testing in autism: how much is enough? *Genet Med*. 2007;9(5):268-74.
- 158.Herman GE, Kratz L. Disorders of post-squalene cholesterol biosynthesis. *J Inherit Metab Dis*. 2012;35(3):521-33.
- 159.Hernandez L, Roux KJ, Wong ES, Mounkes LC, Mutalif R, Navasankari R, et al. Functional analysis of LMNA mutations in the context of craniofacial developmental pathways. *Hum Mol Genet*. 2010;19(12):2342-53.

160. Hettiarachchi D, Sirisena ND, Seneviratne S, Raby B. Novel variant in NSDHL gene associated with Child syndrome and syndactyly- a case report. *BMC Med Genet.* 2020 Aug 20;21(1):164.
161. Heussler HS, Suri M, Young ID, Muenke M. Extreme variability of expression of a Sonic Hedgehog mutation: attention difficulties and holoprosencephaly. *Arch Dis Child.* 2002;86(4):293-6.
162. Hoffmeyer K, Raggioli A, Rudloff S, Anton R, Hierholzer A, Del Valle I, et al. WNT/ β -catenin signaling regulates telomerase in stem cells and cancer cells. *Nat Cell Biol.* 2017;19(12):1434-45.
163. Horovitz DDG, Cardoso MHCA, Llerena JC, Mattos RA. Genetic services and testing in Brazil. *J Community Genet.* 2013;4(3):355-75.
164. Hoskins BE, Cramer CH, Silvius D, Zhou J, Nakatsuji N, Thébault S, et al. Transcription factor SIX5 is mutated in patients with branchio-oto-renal syndrome. *Am J Hum Genet.* 2007;80(4):800-4.
165. Houten SM, Kuis W, Duran M, de Koning TJ, van Royen-Kerkhof A, Romeijn GJ, et al. Mutations in MVK, encoding mevalonate kinase, cause hyperimmunoglobulinaemia D and periodic fever syndrome. *Nat Genet.* 1999;22(2):175-7.
166. Howard TD, et al. Mutations in TWIST, a basic helix-loop-helix transcription factor, in Saethre-Chotzen syndrome. *Nat Genet.* 1997;15(1):36-41.
167. Howe JR, Roth S, Ringold JC, Summers RW, Järvinen HJ, Sistonen P, et al. Mutations in the SMAD4/DPC4 gene in juvenile polyposis. *Science.* 1998;280(5366):1086-8.
168. Hummel M, Schimke K, Pöhlmann C, Horn C, Beck S, Happle R, et al. Left-sided Child syndrome caused by a nonsense mutation in the NSDHL gene. *Am J Med Genet A.* 2003 Oct 15;122A(3):246–51.
169. Hyman SL, Shores A, North KN. The nature and frequency of cognitive deficits in children with neurofibromatosis type 1. *Hum Mol Genet.* 2005;14(16):2377-86.
170. Illumina. Understanding quality scores [Internet]. San Diego: Illumina; 2021 [cited 2024 Jan]. Available from: <https://www.illumina.com/content/dam/illumina->

marketing/documents/products/technotes/technote_understanding_quality_scores.pdf

171. Ingham PW, McMahon AP. Hedgehog signaling in animal development: paradigms and principles. *Genes Dev.* 2001;15(23):3059-87.
172. International Human Genome Sequencing Consortium. Finishing the euchromatic sequence of the human genome. *Nature.* 2004;431(7011):931-45.
173. Iwase S, Xiang B, Ghosh S, Ren T, Lewis PW, Cochrane JC, et al. ATRX ADD domain links an atypical histone methylation recognition mechanism to human mental-retardation syndrome. *Nat Struct Mol Biol.* 2011;18(7):769-76.
174. Jacob KN, Garg A. Laminopathies: Multisystem dystrophy syndromes. *Mol Genet Metab.* 2006;87(4):289-302.
175. Janssens K, ten Dijke P, Janssens S, Van Hul W. Transforming growth factor- β 1 to the bone. *Endocr Rev.* 2005;26(6):743-74.
176. Jeong Y, Leskow FC, El-Jaick K, Roessler E, Muenke M, Yocum A, et al. Regulation of a remote SHH forebrain enhancer by the Six3 homeoprotein. *Nat Genet.* 2008;40(11):1348-53.
177. Jian J, Richards AA, Han Y, Irminger-Finger I. The multifunctional roles of EYA phosphatases in development and disease. *Trends Biochem Sci.* 2017;42(12):981-97.
178. Jiao Y, Shi C, Edil BH, de Wilde RF, Klimstra DS, Maitra A, et al. DAXX/ATRAX, MEN1, and mTOR pathway genes are frequently altered in pancreatic neuroendocrine tumors. *Science.* 2011;331(6021):1199-203.
179. Jira PE. Cholesterol metabolism deficiency. In: Saudubray JM, van den Berghe G, Walter JH, editors. *Inborn metabolic diseases: diagnosis and treatment.* 5th ed. Berlin: Springer; 2013. p. 533-44.
180. Johnson D, Wilkie AOM. Craniosynostosis. *Eur J Hum Genet.* 2011;19(4):369-76.
181. Jones KL, Jones MC, del Campo M. Smith's recognizable patterns of human malformation. 8th ed. Philadelphia: Elsevier; 2021.

182. Jones NC, Lynn ML, Gaudenz K, Sakai D, Aoto K, Rey JP, et al. Prevention of the neurocristopathy Treacher Collins syndrome through inhibition of p53 function. *Nat Med*. 2008;14(2):125-33.
183. Julian LM, Vandenbosch R, Pakenham CA, Andrusiak MG, Nguyen AP, McClellan KA, et al. Opposing regulation of Sox2 by cell-cycle effectors E2f3a and E2f3b in neural stem cells. *Cell Death Differ*. 2013;20(8):1030-40.
184. Juuri E, Saito K, Ahtiainen L, Seidel K, Tummers M, Hochedlinger K, et al. Sox2 marks epithelial competence to generate teeth in mammals and reptiles. *Development*. 2013;140(7):1424-32.
185. Karczewski KJ, Francioli LC, Tiao G, Cummings BB, Alföldi J, Wang Q, et al. The mutational constraint spectrum quantified from variation in 141,456 humans. *Nature*. 2020;581(7809):434-43.
186. Karczewski KJ, Francioli LC, Tiao G, Cummings BB, Alföldi J, Wang Q, et al. The mutational constraint spectrum quantified from variation in 141,456 humans. *Nature*. 2020;581(7809):434-43.
187. Kastan MB, Bartek J. Cell-cycle checkpoints and cancer. *Nature*. 2004;432(7015):316-23.
188. Kauvar EF, Muenke M, Gruss JS. Microtia: Epidemiology and Genetics. *Am J Med Genet A*. 2010;152A(3):247-58.
189. Kelberman D, Rizzoti K, Avilion A, Bitner-Glindzicz M, Cianfarani S, Collins J, et al. Mutations within Sox2/SOX2 are associated with abnormalities in the hypothalamo-pituitary-gonadal axis in mice and humans. *J Clin Invest*. 2006;116(9):2442-55.
190. Keller G, Zimmer G, Mall G, Ritz E, Amann K. Nephron number in patients with primary hypertension. *N Engl J Med*. 2003;348(2):101-8.
191. Kelley RI, Hennekam RC. The Smith-Lemli-Opitz syndrome. *J Med Genet*. 2000;37(5):321-35.
192. Kim J, Lo L, Dormand E, Anderson DJ. SOX2 maintains the quiescent progenitor cell state of neural crest-derived Schwann cell precursors. *J Neurosci*. 2003;23(33):10396-408.

193. Kingdom R, Wright CF. Incomplete Penetrance and Variable Expressivity: From Clinical Studies to Population Cohorts. *Front Genet.* 2022;13:920390.
194. Klinge P, Hellström P, Tans J, Wikkelsø C. Idiopathic Normal Pressure Hydrocephalus: The Real Social and Economic Burden. *Neurosurgery.* 2019;84(5):962-8.
195. Kobayashi Y, Chen E, Facio FM, Metz H, Poll SR, Swartzlander D, et al. Clinical Variant Reclassification in Hereditary Disease Genetic Testing. *JAMA Netw Open.* 2024;7(11):e2444526.
196. Komotar RJ et al. [Título do artigo ausente]. *J Neurosurg Pediatr.* 2018. [Referência incompleta]
197. Kondo S, et al. Mutations in IRF6 cause Van der Woude and popliteal pterygium syndromes. *Nat Genet.* 2002;32(2):285-289.
198. Kondo S, Schutte BC, Richardson RJ, Bjork BC, Knight AS, Watanabe Y, et al. Mutations in IRF6 cause Van der Woude and popliteal pterygium syndromes. *Nat Genet.* 2002;32(2):285-9.
199. König A, Happle R, Bornholdt D, Engel H, Grzeschik KH. Mutations in the NSDHL gene, encoding a 3beta-hydroxysteroid dehydrogenase, cause Child syndrome. *Am J Med Genet.* 2000 Feb 14;90(4):339-46.
200. Kooy RF et al. [Título e detalhes ausentes]. [Referência incompleta]
201. Krakow D, Vriens J, Camacho N, Lu P, Palmgren MR, Bamshad MJ, et al. Mutations in FGFR2 cause bent bone dysplasia and Beare-Stevenson syndrome. *Am J Hum Genet.* 2016;98(3):550-61.
202. Kronenberg HM. Developmental regulation of the growth plate. *Nature.* 2003;423(6937):332-6.
203. Kruszka P, Addissie YA, Yarnell CM, et al. 22q11.2 deletion syndrome in diverse populations. *Am J Med Genet A.* 2017;173(4):879-88.
204. Kruszka P, Addissie YA, Yarnell CM, Hadley DW, Guillen Sacoto MJ, Platte P, et al. Muenke syndrome: clinical and radiologic findings in a large international cohort. *Am J Med Genet A.* 2016;170A(4):918-29.

205. Kruszka P, Berger SI, Casa V, et al. Cohesin complex-associated holoprosencephaly. *Brain*. 2019;142(9):2631-43.
206. Kumar P, Radhakrishnan J, Chowdhary MA. Prevalence and patterns of genetic disorders in pediatric populations: A systematic review. *J Pediatr*. 2018;200:229-37.
207. Kuratani S. The neural crest origin in the neurocranium in vertebrates. *Genesis*. 2018;56(6-7):e23213.
208. LaBonne C, Bronner-Fraser M. Neural crest induction: a tale of two signals. *Development*. 1998;125(12):2203-12.
209. Lacruz RS, de Castro JMB, Martín-Torres M, O'Higgins P, Paine ML. Facial Morphogenesis of the Earliest Europeans. *PLoS One*. 2013;8(6):e65199.
210. Lai K, Kaspar BK, Gage FH, Schaffer DV. Sonic hedgehog regulates adult neural progenitor proliferation in vitro and in vivo. *Nat Neurosci*. 2003;6(1):21-7.
211. Lajeunie E et al. [Título do artigo ausente]. *Am J Med Genet A*. 2005. [Referência incompleta]
212. Lammi L, Arte S, Somer M, Jarvinen H, Lahermo P, Thesleff I, et al. Mutations in AXIN2 cause familial tooth agenesis and predispose to colorectal cancer. *Am J Hum Genet*. 2004;74(5):1043-50.
213. Landrum MJ et al. ClinVar: improving access to variant interpretations and supporting evidence. *Nucleic Acids Res*. 2018;46(D1):D1062-7.
214. Landrum MJ, Lee JM, Benson M, Brown GR, Chao C, Chitipiralla S, et al. ClinVar: improving access to variant interpretations and supporting evidence. *Nucleic Acids Res*. 2016;44(D1):D862-8.
215. Lattanzi G, Columbaro M, Mattioli E, Cenni V, Camozzi D, Wehnert M, et al. Pre-Lamin A processing is linked to heterochromatin organization. *J Cell Biochem*. 2007;102(5):1149-59.
216. Law MJ, Lower KM, Voon HPJ, Hughes JR, Garrick D, Viprakasit V, et al. ATR-X syndrome protein targets tandem repeats and influences allele-specific expression in a size-dependent manner. *Cell*. 2010;143(3):367-78.
217. Le Douarin NM, Creuzet S, Couly G, Dupin E. Neural crest cell plasticity and its limits. *Development*. 2004;131(19):4637-50.

218. Le Douarin NM, Kalcheim C. *The Neural Crest*. 2nd ed. Cambridge: Cambridge University Press; 1999.
219. Le Goff C, Cormier-Daire V. From tall to short: The role of TGF β signaling in growth. *Eur J Hum Genet*. 2012;20(7):697-703.
220. Le Goff C, Mahaut C, Abhyankar A, Le Goff W, Serre V, Afenjar A, et al. Mutations at a single codon in Mad homology 2 domain of SMAD4 cause Myhre syndrome. *Nat Genet*. 2011;44(1):85-8.
221. Lee L, Koszka-Leggett C, Abdul-Muneer PM. The Role of Ependymal Cilia in Cerebrospinal Fluid Homeostasis. *Fluids Barriers CNS*. 2021;18(1):31.
222. Lein ES, Hawrylycz MJ, Ao N, Ayres M, Bensinger A, Bernard A, et al. Genome-wide atlas of gene expression in the adult mouse brain. *Nature*. 2007;445(7124):168-76.
223. Leslie EJ, Marazita ML. Genetics of cleft lip and cleft palate. *Am J Med Genet C Semin Med Genet*. 2013;163C(4):246-58.
224. Levine AJ. p53: A tumor suppressor gene. *Cancer Res*. 2020;80(12):2433-42.
225. Levine AJ. The many faces of tumor suppressor genes. *Annu Rev Pathol Mech Dis*. 2020;15:51-74.
226. Li H. Aligning sequence reads, clone sequences and assembly contigs with BWA-MEM. *arXiv*. 2013. Available from: <https://arxiv.org/abs/1303.3997>
227. Li J, Yen C, Liaw D, Podsypanina K, Bose S, Wang SI, et al. PTEN, a putative protein tyrosine phosphatase gene mutated in human brain, breast, and prostate cancer. *Science*. 1997;275(5308):1943-7.
228. Lieberman DE, McBratney B, Krovitz GE. The evolution and development of cranial form in *Homo sapiens*. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2003;100(3):1134-9.
229. Lin AE, Brunetti-Pierri N, Lindsay ME, et al. Myhre syndrome: A report of six Chinese patients and literature review. *Hum Mutat*. 2016;37(6):530-9.
230. Lin AE, Brunetti-Pierri N, Lindsay ME, Schimmenti LA, Starr LJ, Sánchez-Lara PA, et al. Myhre syndrome: a report of six new patients with severe congenital heart disease and review of the literature. *Am J Med Genet A*. 2016;170(10):2647-55.

- 231.Lines MA, Huang L, Schwartzentruber J, Bahl S, Douglas SL, Ferrier RA, et al. Haploinsufficiency of a spliceosomal GTPase encoded by EFTUD2 causes mandibulofacial dysostosis with microcephaly. *Am J Hum Genet.* 2012;90(2):369-77.
- 232.Liu E, Knutzen CA, Krauss S, Schweiger S, Chiang GG. Control of mTORC1 signaling by the Opitz syndrome protein MID1. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2001;98(13):6654-9.
- 233.Liu Y, Matthews HK, Werdyani S, Shestopalov I, Mu X, Chen JK, et al. MID1 regulates WNT signaling and craniofacial development through ubiquitination of Dishevelled. *Dev Cell.* 2012;22(1):58-71.
- 234.Liu, P., et al. (2019). Reanalysis of Clinical Exome Sequencing Data. *New England Journal of Medicine*, 380(25), 2478–2480.
- 235.Liu, W., Dong, Y., He, Y., et al. (2020). Midline 1 interacting protein 1 promotes cancer metastasis through FOS-like 1-mediated matrix metalloproteinase 9 signaling in HCC. *Journal of Experimental & Clinical Cancer Research*, 39(1), 19.
- 236.Lodato MA, Ng CW, Wamstad JA, Cheng AW, Thai KK, Fraenkel E, et al. SOX2 co-occupies distal enhancer elements with distinct POU factors in embryonic and neural stem cells to specify cell state. *Cell Rep.* 2013;5(5):1327-40.
- 237.Longy M, Lacombe D. Cowden disease: report of a family and review. *Ann Genet.* 1996;39(1):35-42.
- 238.Lovejoy CA, Li W, Reisenweber S, Thanasoula M, Jackson AP, Chen C, et al. Loss of ATRX, genome instability, and an altered DNA damage response are hallmarks of the alternative lengthening of telomeres pathway. *PLoS Genet.* 2012;8(7):e1002772.
- 239.Lovejoy CA, Li W, Reisenweber S, Thongthip S, Bruno J, de Lange T, et al. Loss of ATRX, genome instability, and an altered DNA damage response are hallmarks of the alternative lengthening of telomeres pathway. *Cell.* 2012;148(5):947-60.
- 240.Lund E, Collas P. Nuclear lamins: making contacts with promoters. *Nucleus.* 2013;4(6):424-30.

241. Lund E, Oldenburg AR, Collas P. Enriched domain detector: a program for detection of wide genomic enrichment domains robust against local variations. *Nucleic Acids Res.* 2014;42(11):e92.
242. Mallory SB. Cowden syndrome (multiple hamartoma syndrome). *Dermatol Clin.* 1995;13(1):27-31.
243. Malumbres M, Barbacid M. Cell cycle, CDKs and cancer: a changing paradigm. *Nat Rev Cancer.* 2009;9(3):153-66.
244. Mamanova L, Coffey AJ, Scott CE, Kozarewa I, Turner EH, Kumar A, et al. Target-enrichment strategies for next-generation sequencing. *Nat Methods.* 2010;7(2):111-8.
245. Marco E, García-Nieto R, Alonso CR, Checa JF, Llano E, González C. A structural perspective of the Cys-His2 zinc finger protein-DNA interaction. *J Mol Biol.* 2003;328(3):687-700.
246. Mardon G, Luoh H, Simpson EM, Gill G, Page DC. Zfx/Zfy transactivation domains are evolutionarily conserved and functionally interchangeable. *Development.* 1990;110(3):801-5.
247. Marinoni I, Kurrer AS, Vassella E, Dettmer M, Rudolph T, Banz V, et al. Loss of DAXX and ATRX are associated with chromosome instability and reduced survival of patients with pancreatic neuroendocrine tumors. *Gastroenterology.* 2014;146(2):453-60.
248. Marques FJ, Sousa SB, Santos-Rebouças CB. Treacher Collins syndrome: A clinical and molecular study based on a large series of patients. *Genet Mol Biol.* 2006;29(2):224-8.
249. Marsh DJ, Kum JB, Lunetta KL, Bennett MJ, Gorlin RJ, Ahmed SF, et al. PTEN mutation spectrum and genotype-phenotype correlations in Bannayan-Riley-Ruvalcaba syndrome suggest a single entity with Cowden syndrome. *Hum Mol Genet.* 1999;8(8):1461-72.
250. Marszałek-Kruk BA, Wierzba J, Śmigiel R, Biernacka A, Szaśiadek M, Smigiel R. Treacher Collins Syndrome: A Comprehensive Review of the Literature and Clinical Update. *Genes (Basel).* 2022;13(4):706.

251. Mattioli E, Columbaro M, Capanni C, Maraldi NM, Cenni V, Scotlandi K, et al. Altered pre-lamin A processing is a common mechanism leading to lipodystrophy. *Hum Mol Genet.* 2008;17(6):837-47.
252. Mattioli E, Columbaro M, Capanni C, Santi S, Maraldi NM, D'Apice MR, et al. Drugs affecting prelamin A processing: effects on heterochromatin organization. *Exp Cell Res.* 2011;317(17):2513-23.
253. McKenna A, Hanna M, Banks E, Sivachenko A, Cibulskis K, Kernytzky A, et al. The Genome Analysis Toolkit: a MapReduce framework for analyzing next-generation DNA sequencing data. *Genome Res.* 2010;20(9):1297-303.
254. Meaburn KJ, Misteli T, Soutoglou E. Spatial genome organization in the formation of chromosomal translocations. *Semin Cancer Biol.* 2007;17(1):80-90.
255. Meinke P, Mattioli E, Haque F, Antoku S, Columbaro M, Straatman KR, et al. Muscular dystrophy-associated SUN1 and SUN2 variants disrupt nuclear-cytoskeletal connections and myonuclear organization. *PLoS Genet.* 2014;10(2):e1004605.
256. Mejat A, Misteli T. LINC complexes in health and disease. *Nucleus.* 2010;1(1):40-52.
257. Mercier S, Dubourg C, Garcelon N, Campillo-Gimenez B, Mignot C, Redon R, et al. Genetic counseling and prenatal diagnosis in holoprosencephaly: A multicenter study. *J Med Genet.* 2011;48(7):439-48.
258. Merfort I, Soyer HP, Happle R. The Child syndrome. *J Dtsch Dermatol Ges.* 2014 Jan;12(1):21-5.
259. Merideth MA, Gordon LB, Clauss S, Sachdev V, Smith AC, Perry MB, et al. Phenotype and course of Hutchinson-Gilford progeria syndrome. *N Engl J Med.* 2008;358(6):592-604.
260. Meroni G. MID1-Related Opitz G/BBB Syndrome. In: Adam MP, Feldman J, Mirzaa GM, editors. *GeneReviews®* [Internet]. Seattle (WA): University of Washington, Seattle; 2004 [updated 2023]. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK1321/>
261. Metzker ML. Sequencing technologies — the next generation. *Nat Rev Genet.* 2010;11(1):31-46.

262. Ming JE, Muenke M. Holoprosencephaly: from Homer to Hedgehog. *Am J Hum Genet.* 2002;71(5):1017-32.
263. Minoux M, Rijli FM. Molecular mechanisms of cranial neural crest cell migration and patterning in craniofacial development. *Dev Cell.* 2010;18(2):163-76.
264. Mitson M, Kelley LA, Sternberg MJE, Higgs DR, Gibbons RJ. Functional significance of mutations in the Snf2 domain of ATRX. *Hum Mol Genet.* 2011;20(13):2603-10.
265. Miyazawa K, Miyazono K. Regulation of TGF- β Family Signaling by Inhibitory Smads. *Cold Spring Harb Perspect Biol.* 2017;9(3):a022095.
266. Mori et al. Diretrizes consolidadas para diagnóstico e tratamento. [Referência incompleta: título e detalhes ausentes]
267. Morimoto Y, Yoshida S, Kinoshita A, Satoh C, Mishima H, Kawaguchi M, et al. A heterozygous CFAP43 mutation in a Japanese family with autosomal dominant normal pressure hydrocephalus. *Eur J Hum Genet.* 2019;27(7):1091-8.
268. Mossey PA, Little J, Munger RG, Dixon MJ, Shaw WC. Cleft lip and palate. *Lancet.* 2009;374(9703):1773-85.
269. Mundlos S. Cleidocranial dysplasia: clinical and molecular genetics. *J Med Genet.* 1999;36(3):177-82.
270. Nanni L, Ming JE, Bocian M, Steinhaus K, Bianchi DW, Die-Smulders C, et al. The mutational spectrum of the Sonic hedgehog gene in holoprosencephaly: SHH mutations cause a significant proportion of autosomal dominant holoprosencephaly. *Hum Mol Genet.* 1999;8(13):2479-88.
271. Nanni L, Ming JE, Du Y, Hall RK, Aldred M, Bankier A, et al. SHH mutation is associated with solitary median maxillary central incisor: a study of 13 patients and review of the literature. *Am J Med Genet.* 2001;102(1):1-10.
272. National Institutes of Health (NIH). Doenças Raras [Internet]. 2023. Available from: <https://rarediseases.info.nih.gov/>
273. Navarro CL, De Sandre-Giovannoli A, Bernard R, Boccaccio I, Boyer A, Geneviève D, et al. Lamin A and ZMPSTE24 (FACE-1) defects cause nuclear

- disorganization and identify restrictive dermopathy as a lethal neonatal laminopathy. *Hum Mol Genet.* 2004;13(20):2493-503.
- 274.Nelen MR, Padberg GW, Peeters EAJ, Lin AY, van den Helm B, Frants RR, et al. Localization of the gene for Cowden disease to chromosome 10q22-23. *Nat Genet.* 1996;13(1):114-6.
- 275.Nicolis SK. Sox2 deficiency causes neurodegeneration and impaired neurogenesis in the adult mouse brain. *Development.* 2007;134(21):3917-28.
- 276.Nie X, Luukko K, Kettunen P. BMP signalling in craniofacial development. *Int J Dev Biol.* 2006;50(6):511-21.
- 277.Noack Watt KE, Achilleos A, Neben CL, Merrill AE, Trainor PA. Developmental pathways and mammalian craniofacial disorders. *Annu Rev Genomics Hum Genet.* 2021;22:1-26.
- 278.Novel NSDHL gene variant for congenital hemidysplasia with ichthyosiform erythroderma and limb defects (Child) syndrome [Internet]. Bethesda (MD): National Center for Biotechnology Information; 2020. [acesso em 2025 Out 4]. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7607564/>
- 279.Novel variant in NSDHL gene associated with Child syndrome with gastrointestinal manifestations and localized skin involvement. *Mol Genet Genomic Med.* 2021;10(1):e1848.
- 280.Novelli G, Muchir A, Sangiuolo F, Helbling-Leclerc A, D'Apice MR, Massart C, et al. Mandibuloacral dysplasia is caused by a mutation in LMNA-encoding lamin A/C. *Am J Hum Genet.* 2002;71(2):426-31.
- 281.NSDHL-Related Disorders - GeneReviews® [Internet]. Seattle (WA): University of Washington, Seattle; 1993–2024. [acesso em 2025 Out 4]. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK51754/>
- 282.Okur V, Bilan F, Utine GE, Boduroğlu K, Akçören Z, Alikasifoğlu M, et al. CCNK mutations cause a syndromic neurodevelopmental disorder with intellectual disability. *Am J Hum Genet.* 2016;99(4):907-15.
- 283.Oldenburger A, Briand N, Sørensen AL, Cahyani I, Shah A, Moskaug JØ, et al. A lipodystrophy-causing lamin A mutant alters conformation and epigenetic regulation of the anti-adipogenic MIR335 locus. *J Cell Biol.* 2017;216(9):2731-43.

- 284.Olive M, Harten I, Mitchell R, Beers JK, Djabali K, Cao K, et al. Cardiovascular pathology in Hutchinson-Gilford progeria: correlation with the vascular pathology of aging. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2010;30(11):2301-9.
- 285.OMIM. MID1 - Midline 1 [Internet]. 2023. Available from: <https://omim.org/entry/300552>
- 286.Ornitz DM, Marie PJ. FGF signaling pathways in endochondral and intramembranous bone development and human genetic disease. *Genes Dev.* 2002;16(12):1446-65.
- 287.Ornoy A. Craniofacial malformations and their association with brain development: the importance of a multidisciplinary approach for treatment. *Odontology.* 2020;108(1):1-15.
- 288.Ozaki H, Nakamura K, Funahashi J, Ikeda K, Yamada G, Tokano H, et al. Six1 controls patterning of the mouse otic vesicle. *Development.* 2004;131(3):551-62.
- 289.Parrini, E., et al. (2016). Filamin A (FLNA) mutation analysis in 52 patients with bilateral periventricular nodular heterotopia. *American Journal of Medical Genetics Part A*, 170(10), 2669–2676.
- 290.Pegoraro G, Kubben N, Wickert U, Göhler H, Hoffmann K, Misteli T. Ageing-related chromatin defects through loss of the NURD complex. *Nat Cell Biol.* 2009;11(10):1261-7.
- 291.Pereira-Pedro AS, Bruner E. Craniofacial orientation and parietal bone morphology in adult modern humans. *J Anat.* 2022;240(2):330-8.
- 292.Perrin BJ, Sonnemann KJ, Ervasti JM. β -actin and γ -actin are each dispensable for auditory hair cell development but required for stereocilia maintenance. *PLoS Genet.* 2010;6(10):e1001158.
- 293.Person AD, Beiraghi S, Sieben CM, Hermanson S, Neumann AN, Robu ME, et al. WNT5A mutations in patients with autosomal dominant Robinow syndrome. *Dev Dyn.* 2010;239(1):327-37.
- 294.Pevny LH, Placzek M. SOX genes and neural progenitor identity. *Nat Rev Neurosci.* 2005;6(3):230-40.

295. Philippakis AA, Azzariti DR, Beltran S, Brookes AJ, Brownstein CA, Brudno M, et al. The Matchmaker Exchange: A platform for rare disease gene discovery. *Hum Mutat.* 2015;36(10):915-21.
296. Picketts DJ, Higgs DR, Bachoo S, Blake DJ, Quarrell OWJ, Gibbons RJ. ATRX encodes a novel member of the SNF2 family of proteins: mutations point to a common mechanism underlying the ATR-X syndrome. *Hum Mol Genet.* 1996;5(12):1899-907.
297. Pilarski R, Burt R, Kohlman W, Pho L, Shannon KM, Swisher E. Clinical practice guidelines for the diagnosis and management of patients with PTEN hamartoma tumor syndrome. *Am J Med Genet C Semin Med Genet.* 2019;181C(2):195-208.
298. Pilarski R, Stephens JA, Noss R, Fisher JL, Prior TW. PTEN hamartoma tumor syndrome: A clinical overview. *Cancers.* 2013;5(4):1438-50.
299. Pineda-Alvarez DE, Roessler E, Hu P, Muenke M. Risk factors for non-syndromic holoprosencephaly in the National Birth Defects Prevention Study. *Am J Med Genet A.* 2011;155A(10):2404-11.
300. Porter FD, Herman GE. Malformation syndromes caused by disorders of cholesterol synthesis. *J Lipid Res.* 2011;52(1):6-34.
301. Porter FD. Malformation syndromes due to inborn errors of cholesterol synthesis. *J Clin Invest.* 2002;110(6):715-24.
302. Porter JA, Young KE, Beachy PA. Cholesterol modification of Hedgehog signaling proteins in animal development. *Science.* 1996;274(5285):255-9.
303. Posey, J. E. (2019). The Baylor-Hopkins Center for Mendelian Genomics: an update on the resolution of clinical cases. *Journal of Human Genetics*, 64(5), 395-403.
304. Prescott SL, Srinivasan R, Marchetto MC, Grishina I, Narvaiza I, Selleri L, et al. Enhancer divergence and cis-regulatory evolution in the human and chimp neural crest. *Cell.* 2019;176(5):1242-52.
305. Prickett TD, Brautigan DL. The Opitz syndrome protein MID1 regulates p38 MAPK activity. *J Biol Chem.* 2007;282(39):33958-65.

- 306.Priolo M, Lagana C. Opitz G/BBB syndrome: a heterogeneous condition with a recognizable phenotype. *Am J Med Genet A*. 2004;131A(1):123-4.
- 307.Puligilla C, Dabdoub A, Breuskin I, Ishiyama A, Fritzscht B, Kelley MW, et al. Sox2 induces neuronal formation in the developing mammalian cochlea. *J Neurosci*. 2010;30(2):714-22.
- 308.Quaderi NA, Schweiger S, Gaudenz K, et al. Opitz G/BBB syndrome, a defect of midline development, is due to mutations in a new RING finger gene on Xp22. *Nat Genet*. 1997;17(3):285-91.
- 309.Quaderi NA, Schweiger S, Gaudenz K, Franco B, Rugarli EI, Berger W, et al. Opitz G/BBB syndrome, a defect of midline development, is due to mutations in a new RING finger gene on Xp22. *Nat Genet*. 1997;17(3):285-91.
- 310.Raabe M, Flynn LM, Zlot CH, Wong JS, Véniant MM, Hamilton RL, et al. Knockout of the abetalipoproteinemia gene in mice: reduced lipoprotein secretion in heterozygotes and embryonic lethality in homozygotes. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1998;95(15):8686-91.
- 311.Raabe M, Véniant MM, Sullivan MA, Zlot CH, Björkegren J, Nielsen LB, et al. Analysis of the role of microsomal triglyceride transfer protein in the liver of tissue-specific knockout mice. *J Clin Invest*. 1999;103(9):1287-98.
- 312.Rahimov F, Ribeiro LA, de Miranda E, Richieri-Costa A, Murray JC. GLI2 mutations in four Brazilian patients: how wide is the phenotypic spectrum? *Am J Med Genet A*. 2006;140(23):2571-6.
- 313.Ramphul K, Kota V, Sathe NC, Sikka SK. Child Syndrome. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2024 Jan-. [acesso em 2025 Out 4]. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK507813/>
- 314.Rao A, Segerdell E, Reuter CM, Ideker T, Grody WW. Phenotype-driven gene prioritization for clinical diagnosis: integrating genomic and clinical data. *Genet Med*. 2018;20(6):567-75.
- 315.Reis LM, Tyler RC, Schneider A, Bardakjian T, Stoler JM, Melancon SB, et al. FOXE3 plays a significant role in autosomal recessive microphthalmia. *Clin Genet*. 2010;77(3):294-300.

316. Retterer K, Juusola J, Cho MT, Vitazka P, Millan F, Gibellini F, et al. Clinical application of whole-exome sequencing across clinical indications. *Genet Med*. 2016;18(7):696-704.
317. Reymond A, Meroni G, Fantozzi A, Merla G, Cairo S, Luzi L, et al. The tripartite motif family identifies cell compartments. *EMBO J*. 2001;20(9):2140-51.
318. Ribeiro LA, Murray JC, Richieri-Costa A. PTCH1 mutations in four Brazilian patients with holoprosencephaly and in one with nevoid basal cell carcinoma syndrome. *Genet Mol Biol*. 2010;33(3):428-33.
319. Richards AJ, et al. Stickler syndrome: further mutations in COL11A1 and evidence for additional locus heterogeneity. *Eur J Hum Genet*. 2006;14(7):793-800.
320. Richards S, Aziz N, Bale S, Bick D, Das S, Gastier-Foster J, et al. Standards and guidelines for the interpretation of sequence variants: a joint consensus recommendation of the American College of Medical Genetics and Genomics and the Association for Molecular Pathology. *Genet Med*. 2015;17(5):405-24.
321. Rivière JB, van Bon BWM, Hoischen A, Kholmanskikh SS, O’Roak BJ, Gilissen C, et al. De novo mutations in the actin genes ACTB and ACTG1 cause Baraitser-Winter syndrome. *Nat Genet*. 2012;44(4):440-4.
322. Roach JC, Glusman G, Smit AFA, Huff CD, Hubley R, Shannon PT, et al. Analysis of genetic inheritance in a family quartet by whole-genome sequencing. *Science*. 2010;328(5978):636-9.
323. Robertson, S. P. (2005). Otopalatodigital syndrome spectrum disorders: otopalatodigital syndrome types 1 and 2, frontometaphyseal dysplasia and Melnick-Needles syndrome. *Orphanet Journal of Rare Diseases*, 1(1), 42.
324. Robertson, S. P., et al. (2003). Localized mutations in the gene encoding the cytoskeletal protein filamin A cause diverse malformations in humans. *Nature Genetics*, 33(4), 487–491.
325. Robin NH, Feldman GJ, Aronson AL, Mitchell HF, Zackai EH, Muenke M. Opitz syndrome is genetically heterogeneous with one locus on Xp22. *Nat Genet*. 1995;11(4):459-61.

326. Robin NH, Opitz JM, Muenke M. Opitz G/BBB syndrome: clinical comparisons of families linked to Xp22 and 22q, and a review of the literature. *Am J Med Genet.* 1996;62(3):305-17.
327. Robson MI, de Las Heras JI, Czapiewski R, Le Thanh P, Booth DG, Kelly DA, et al. Tissue-specific gene repositioning by nuclear lamin A/C. *EMBO J.* 2017;36(5):591-601.
328. Rodríguez-Acevedo B, Ferreira CR, Polavarapu K, Ferreira C. The economic and psychosocial impact of rare genetic diseases: A review for health policy stakeholders. *Genet Med.* 2020;22(7):1173-81.
329. Roessler E, Belloni E, Gaudenz K, Jay P, Berta P, Scherer SW, et al. Mutations in the human Sonic Hedgehog gene cause holoprosencephaly. *Nat Genet.* 1996;14(3):357-60.
330. Roessler E, et al. Mutations in the human Sonic Hedgehog gene cause holoprosencephaly. *Nat Genet.* 1996;14(3):357-360.
331. Roessler E, Hu P, Marino J, Hong S, Hart R, Berger S, et al. Genetic and phenotypic analyses of SHH, SIX3, and ZIC2 in holoprosencephaly: redefining the genotypic and phenotypic landscape. *Genet Med.* 2018;20(9):1054-63.
332. Roessler E, Muenke M. How a Hedgehog might see holoprosencephaly. *Genet Med.* 2003;5(5):311-6.
333. Roessler E, Muenke M. The molecular genetics of holoprosencephaly: a model of brain development for the next century. *Am J Med Genet C Semin Med Genet.* 2010;154C(1):149-63.
334. Roessler E, Vélez JI, Zhou N, Muenke M. Cumulative ligand activity of NODAL mutations and modifiers are linked to human heart defects and holoprosencephaly. *Mol Genet Metab.* 2009;98(1-2):225-34.
335. Rogers CD, Saxena A, Bronner ME. Sox2 acts as a rheostat of epithelial to mesenchymal transition during neural crest development. *Cell Rep.* 2012;1(3):203-10.
336. Rose PS, Ahn NU, Levy HP, Ahn UM, Choi JY, Park SS, et al. Stickler syndrome: Clinical characteristics and diagnostic criteria. *Am J Med Genet A.* 2005;138A(3):199-207.

337. Rossi M, D'Armiento M, Parisi I, Di Rocco M, Parenti G, Andria G. Clinical phenotype of defects in post-squalene cholesterol biosynthesis. *Eur J Med Genet.* 2015;58(9):486-94.
338. Rubin LL, de Sauvage FJ. Targeting the Hedgehog pathway in cancer. *Nat Rev Drug Discov.* 2006;5(12):1026-33.
339. Ruf RG, Xu PX, Silviu D, Otto EA, Beekmann F, Muerb UT, et al. SIX1 mutations cause branchio-oto-renal syndrome by disruption of EYA1-SIX1-DNA complexes. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2004;101(21):8090-5.
340. Ruiz de Eguino G, Infante A, Schlangen K, Aransay AM, Fullaondo A, Soriano M, et al. Sp1 transcription factor interaction with accumulated prelamin A impairs adipose lineage differentiation in human mesenchymal stem cells: roles in aging. *Cell Death Differ.* 2012;19(8):1319-29.
341. Sabin. Sequenciamento completo do exoma: entenda o que é e como funciona [Internet]. Blog Sabin - Genética; 2025 [cited 2025 Jan 28]. Available from: <https://blog.sabin.com.br/genetica/sequenciamento-completo-do-exoma/>
342. Sakai D, Dixon J, Dixon MJ, Trainor PA. Tcofl mediates ribosome biogenesis and neural crest cell development via interactions with NOLC1 and the BCR complex. *Nat Genet.* 2016;48(1):84-94.
343. Sambasivan R, Kuratani S, Tajbakhsh S. An eye on the head: the development and evolution of craniofacial muscles. *Development.* 2011;138(12):2401-15.
344. Sanchez-Ferras O, Bernas G, Farnos O, Toure AM, Fradette J, Pilon N. Sox2 is required for embryonic development and tumorigenesis of the posterior neural plate via WNT and FGF signaling. *Stem Cell Reports.* 2014;3(5):750-64.
345. Santagati F, Rijli FM. Cranial neural crest and the building of the vertebrate head. *Nat Rev Neurosci.* 2003;4(10):806-18.
346. Sarkar A, Hochedlinger K. The Sox family of transcription factors: versatile regulators of stem and progenitor cell fate. *Cell Stem Cell.* 2016;18(6):643-52.
347. Schaefer E, Collet C, Genevieve D, Vincent M, Lohmann DR, Sanchez E, et al. Autosomal recessive POLR1D mutation with decrease of TCOF1 mRNA is responsible for Treacher Collins syndrome. *Genet Med.* 2014;16(9):720-4.

- 348.Schneider A, Bardakjian T, Soucy JF, Tyler RC, Reis LM, Semina EV. Novel SOX2 mutations and genotype-phenotype correlation in anophthalmia and microphthalmia. *Am J Med Genet A*. 2009;149A(12):2706-15.
- 349.Schneider A, Bardakjian TM, Zhou J, Hughes N, Keep R, Dorsainville D, et al. Familial recurrence of SOX2 anophthalmia syndrome: phenotypically normal mother with two affected daughters. *Am J Med Genet A*. 2009;149A(12):2794-8.
- 350.Schweiger S, Foerster J, Lehmann T, et al. The Opitz syndrome gene product, MID1, associates with microtubules. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1999;96(6):2794-9.
- 351.Schweiger S, Foerster J, Lehmann T, Suckow V, Müller YA, Walter G, et al. The Opitz syndrome gene product, MID1, associates with microtubules. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1999;96(6):2794-9.
- 352.Shah P, Wolf K, Lammerding J. Bursting the bubble: nuclear envelope rupture as a path to genomic instability? *Trends Cell Biol*. 2017;27(1):29-39.
- 353.Sharma VP, Fenwick AL, Brockop MS, McGowan SJ, Goos JAC, Hoogeboom AJM, et al. Mutations in TCF12, encoding a partner of TWIST1, cause craniosynostosis. *Nat Genet*. 2013;45(8):879-82.
- 354.Sharpe LJ, Brown AJ. Controlling cholesterol synthesis beyond 3-hydroxy-3-methylglutaryl-CoA reductase (HMGCR). *J Biol Chem*. 2013;288(26):18707-15.
- 355.Shendure J, Balasubramanian S, Church GM, Gilbert W, Rogers J, Schloss JA, et al. DNA sequencing at 40: past, present and future. *Science*. 2017;358(6363):eaam6893.
- 356.Sherr CJ, Roberts JM. Living with or without cyclins and cyclin-dependent kinases. *Genes Dev*. 2004;18(22):2699-711.
- 357.Sherr CJ. The Pezcoller lecture: cancer cell cycles revisited. *Cancer Res*. 2001;61(11):4479-84.
- 358.Shimada A, Kawanishi T, Kaneko T, Yoshikane Y, Kobayashi M, Nishiyama K, et al. Cholesterol biosynthesis deficiency disrupts skeletal development in zebrafish. *Dev Biol*. 2017;429(1):1-12.

359. Shmetz AC, Smith JL, Jones RK. Molecular mechanisms and genetic pathways in craniofacial syndromes: Bridging genotype-phenotype correlations. *J Med Genet.* 2021;58(7):456-65.
360. Short KM, Cox TC. Subclassification of the RBCC/TRIM superfamily reveals a novel motif necessary for microtubule binding. *J Biol Chem.* 2006;281(13):8970-80.
361. Shumaker DK, Dechat T, Kohlmaier A, Adam SA, Bozovsky MR, Erdos MR, et al. Mutant nuclear lamin A leads to progressive alterations of epigenetic control in premature aging. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2006;103(23):8703-8.
362. Smith CM, Hurd EA, Dominguez SL, Swiderski RE, Raphael Y, Martin DM. Ciliary Dysfunction and Hydrocephalus. *Front Neurol.* 2022;13:901452.
363. Smith RJH, Schwartz C. Branchio-oto-renal syndrome: a review of clinical and genetic heterogeneity. *Am J Med Genet A.* 2012;158A(10):2391-7.
364. So J, Carter M, Jones KL. Genetic heterogeneity and phenotypic variability in Opitz G/BBB syndrome. *Eur J Hum Genet.* 2005;13(5):567-72.
365. So J, Suckow V, Kijas Z, et al. Mild phenotypes in a series of patients with Opitz GBBB syndrome with MID1 mutations. *Am J Med Genet A.* 2005;132A(1):1-7.
366. Solomon BD, Mercier S, Vélez JI, Pineda-Alvarez DE, Wyllie A, Zhou N, et al. Analysis of genotype-phenotype correlations in human holoprosencephaly. *Hum Mutat.* 2010;31(11):1245-54.
367. Solomon BD, Rosenbaum KN, Meck JM, Muenke M. Holoprosencephaly due to numeric chromosome abnormalities. *Am J Med Genet C Semin Med Genet.* 2010;154C(1):146-8.
368. Solovei I, Wang AS, Thanisch K, Schmidt CS, Krebs S, Zwerger M, et al. LBR and lamin A/C sequentially tether peripheral heterochromatin and inversely regulate differentiation. *Cell.* 2013;152(3):584-98.
369. Son JH, Xie G, Yuan C, Enns R, Klein TE. Digital health platforms for genomic diagnosis: impact on decision-making and clinical utility. *npj Genom Med.* 2018;3(1):25.

370. Sonic Hedgehog Signaling in Craniofacial Development [Internet]. Bethesda (MD): National Center for Biotechnology Information; 2023. [acesso em 2025 Out 4]. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/37481904/>
371. Splinter K, Adams DR, Bacino CA, Bellen HJ, Bernstein JA, Cheatle-Jarvela AM, et al. Effect of genetic diagnosis on patients with previously undiagnosed disease. *N Engl J Med*. 2018;379(22):2131-9.
372. Starink TM, van der Veen JPW, Arwert F, de Waal LP, de Lange GG, Gille JJP, et al. The Cowden syndrome: a clinical and genetic study in 21 patients. *Clin Genet*. 1986;29(3):222-33.
373. Stark Z, Lunke S, Brett GR, Tan NB, Stapleton R, Kumble S, et al. A prospective evaluation of whole-exome sequencing as a first-tier test for diagnosing genetic disorders. *Genet Med*. 2019;21(3):601-14.
374. Starr LJ, Lindor NM, Lin AE. Myhre Syndrome. In: Adam MP, Ardinger HH, Pagon RA, editors. *GeneReviews®* [Internet]. Seattle (WA): University of Washington, Seattle; 1993-2022. 2017.
375. Starr LJ, Lindor NM, Lin AE. Myhre syndrome: A review of clinical features and differential diagnosis. *J Pediatr Genet*. 2014;3(2):89-94.
376. Strutt H, Thomas C, Nakano Y, Stark D, Neave B, Taylor AM, et al. Mutations in the sterol-sensing domain of Patched suggest a role for vesicular trafficking in Smoothed regulation. *Curr Biol*. 2001;11(8):608-13.
377. Sulik KK. Genesis of alcohol-induced craniofacial dysmorphism. *Exp Biol Med* (Maywood). 2005;230(6):366-375.
378. Tabe, Y., Hatanaka, Y., B-Dash, S., et al. (2018). Metformin anti-tumor effect via disruption of the MID1 translational regulator complex and AR downregulation in prostate cancer cells. *Scientific Reports*, 8(1), 1774.
379. Takahashi K, Tanabe K, Ohnuki M, Narita M, Ichisaka T, Tomoda K, et al. Induction of pluripotent stem cells from adult human fibroblasts by defined factors. *Cell*. 2007;131(5):861-72.
380. Takahashi K, Yamanaka S. Induction of pluripotent stem cells from mouse embryonic and adult fibroblast cultures by defined factors. *Cell*. 2006;126(4):663-76.

381. Talevich E, Shain AH, Botton T, Bastian BC. CNVkit: genome-wide copy number detection and visualization from targeted DNA sequencing. *PLoS Comput Biol.* 2016;12(4):e1004873.
382. Tamguney T, Stokoe D. New insights into PTEN. *J Cell Sci.* 2007;120(Pt 23):4071-9.
383. Tang S, Wang X, Li W, Yang X, Li Z, Liu W, et al. Biallelic mutations in CFAP43 and CFAP44 cause male infertility with multiple morphological abnormalities of the sperm flagella. *Am J Hum Genet.* 2017;100(6):854-64.
384. Tarpey PS, Raymond FL, Nguyen LS, Rodriguez J, Hackett A, Vandeleur L, et al. Mutations in the gene encoding the Sigma 2 subunit of the adaptor protein 1 complex, AP1S2, cause X-linked mental retardation. *Am J Hum Genet.* 2009;85(6):776-83.
385. Tarpey PS, Smith R, Pleasance E, Whibley A, Edkins S, Hardy C, et al. A systematic, large-scale resequencing screen of X-chromosome coding exons in mental retardation. *Nat Genet.* 2009;41(5):535-43.
386. Tassabehji M, et al. Waardenburg's syndrome patients have mutations in the human homologue of the Pax-3 paired box gene. *Nature.* 1992;355(6361):635-636.
387. Tasse C, Böhringer S, Fischer S, Lüdecke HJ, Gillessen-Kaesbach G, Wiczorek D. Oculo-auriculo-vertebral spectrum (OAVS): clinical evaluation and severity scoring of 53 patients and proposal for a new classification. *Eur J Med Genet.* 2005;48(4):397-411.
388. Taylor MD, Liu L, Raffel C, Hui CC, Mainprize TG, Zhang X, et al. Mutations in SUFU predispose to medulloblastoma. *Nat Genet.* 2002;31(3):306-10.
389. Tector M, Khatun S, Reimer MH, Arora S, Overman MJ, Maitra A, et al. ATRX loss induces heterochromatin demethylation and LINE-1 retrotransposon activation in pancreatic neuroendocrine tumors. *Cancer Res.* 2019;79(13):3406-19.
390. Teng L, Mundell NA, Frist AY, Wang Q, Labosky PA. Requirement for Foxd3 in the maintenance of neural crest progenitors. *Development.* 2008;135(9):1615-24.
391. The University of Chicago Genetic Services Laboratories. NSDHL analysis for Child syndrome [Internet]. Chicago (IL): The University of Chicago; 2019. [acesso

em 2025 Out 4]. Disponível em:
https://dnatesting.uchicago.edu/sites/default/files/01Child_11.pdf

392. Thesleff I, Keränen S, Jernvall J. Enamel knots as signaling centers linking tooth morphogenesis and odontoblast differentiation. *Adv Dent Res.* 2001;15:14-8.
393. Thiery JP, Acloque H, Huang RYJ, Nieto MA. Epithelial-mesenchymal transitions in development and disease. *Cell.* 2003;118(3):277-9.
394. Tollis S, Dart AE, Tzircotis G, Endres RG. The zyxin-related protein TRIP6 interacts with PDZ motifs in the adaptor protein RIL and the receptor tyrosine phosphatase PTPRF. *J Biol Chem.* 2017;292(21):8728-41.
395. Tozawa R, Ishibashi S, Osuga J, Yagyu H, Oka T, Chen Z, et al. Embryonic lethality and defective neural tube closure in mice lacking squalene synthase. *J Biol Chem.* 2001;276(32):30859-63.
396. Trainor PA, Andrews BT. Facial dysostoses: Etiology, pathogenesis and management. *Am J Med Genet C Semin Med Genet.* 2013;163C(4):283-94.
397. Trainor PA, Dixon J, Dixon MJ. Treacher Collins syndrome: etiology, pathogenesis and prevention. *Eur J Hum Genet.* 2009;17(3):275-83.
398. Treacher Collins Syndrome Collaborative Group. Positional cloning of a gene involved in the pathogenesis of Treacher Collins syndrome. *Nat Genet.* 1996;12(2):130-6.
399. Trockenbacher A, Suckow V, Foerster J, Winter J, Krauss S, Ropers HH, et al. MID1, mutated in Opitz syndrome, encodes an ubiquitin ligase that targets phosphatase 2A for degradation. *Nat Genet.* 2001;29(3):287-94.
400. Tunçbilek G, Alanay Y, Uzun H, Kayıkçıoğlu A, Akarsu NA, Benli K. Intracranial and extracranial malformations in patients with craniofacial anomalies. *J Craniofac Surg.* 2010;21(5):1460-4.
401. Turgay Y, Eibauer M, Goldman AE, Shimi T, Khayat M, Ben-Harush K, et al. The molecular architecture of lamins in somatic cells. *Nature.* 2017;543(7644):261-5.
402. Twigg SRF et al. [Título do artigo ausente]. *Nat Genet.* 2019. [Referência incompleta]

403. Twigg SRF, Vorgia E, McGowan SJ, Peraki I, Fenwick AL, Sharma VP, et al. Reduced dosage of ERF causes complex craniosynostosis in humans and mice. *Nat Genet.* 2013;45(9):1011-6.
404. Twigg SRF, Wilkie AOM. New insights into craniofacial malformations. *Hum Mol Genet.* 2015;24(R1):R50-9.
405. UniProt Consortium. ACTB_HUMAN, P60709 [Internet]. 2023. Available from: <https://www.uniprot.org/uniprotkb/P60709/entry>
406. Urbanska P, Joachimiak E, Bazan R, Fu G, Poprzeczko M, Fabczak H, et al. Ciliary inner dynein arm assembly factor WDR44 interacts with Tether/TH complex to regulate ciliary motility. *Nat Commun.* 2018;9(1):1701.
407. van Bokhoven H, Celli J, Kayserili H, van Beusekom E, Balci S, Brussel W, et al. Mutations in the human ROR2 gene in Robinow syndrome and brachydactyly type B. *Nat Genet.* 2000;25(4):423-6.
408. van der Werf IM, Van Dijck A, Reyniers E, Scheers S, Azage M, De Rocker N, et al. ZNF711 mutations are a frequent cause of X-linked intellectual disability. *Eur J Hum Genet.* 2017;25(5):649-56.
409. Verloes A, Di Donato N, Masliah-Planchon J, Jongmans M, Abdul-Raman OA, Albrecht B, et al. Baraitser-Winter cerebrofrontofacial syndrome: delineation of the spectrum in 42 patients. *Eur J Hum Genet.* 2015;23(3):292-301.
410. Vieira AR, Avila JR, Daack-Hirsch S, Dragan E, Felix TM, Rahimov F, et al. Medical sequencing of candidate genes for nonsyndromic cleft lip and palate. *PLoS Genet.* 2005;1(6):e64.
411. Vissers LELM, Gilissen C, Veltman JA. A de novo paradigm for neurodevelopmental disease. *Nat Commun.* 2017;8:15143.
412. Vogelstein B, Lane D, Levine AJ. Surfing the p53 network. *Nature.* 2000;408(6810):307-10.
413. Vogelstein B, Lane D, Levine AJ. Surfing the p53 network. *Nature.* 2000;408(6810):307-10.
414. Wade, E. M., & Schneider, M. C. (2021). FLNA-Related Periventricular Nodular Heterotopia. In *GeneReviews®*. University of Washington, Seattle.

415. Wakamatsu Y, Endo Y, Osumi N, Weston JA. Multiple roles of Sox2 in neural crest development. *Dev Biol.* 2004;274(1):188-200.
416. Wallis DE, Roessler E, Hehr U, Nanni L, Wiltshire T, Richieri-Costa A, et al. Mutations in the homeodomain of the human SIX3 gene cause holoprosencephaly. *Nat Genet.* 1999;22(2):196-8.
417. Wang J. ZNF711 and X-linked intellectual disability: expanding the phenotypic and mutational spectrum. *Hum Genet.* 2022;141(3-4):789-801.
418. Wang K, Li M, Hakonarson H. ANNOVAR: functional annotation of genetic variants from high-throughput sequencing data. *Nucleic Acids Res.* 2010;38(16):e164.
419. Wang Y, Li J, Li D, Zhang H, Yu S, Li W, et al. A novel EYA1 mutation in a Chinese family with branchio-oto-renal syndrome. *Int J Pediatr Otorhinolaryngol.* 2018;110:113-118.
420. Wang Y, Li R, Zhang X, Chen L. LMNA p.Asp300Asn in a Chinese patient with progeroid features and severe vascular pathology: a case report. *J Med Genet.* 2021;58(5):345-50.
421. Wang Y, Zhao J, Zhang L, Zhang X, Li R. Expanding the phenotypic spectrum of LMNA-related atypical progeroid syndrome: a case report and literature review. *Front Genet.* 2021;12:678306.
422. Wang, J. et al. (2016). WNT/ β -catenin signaling coordinates cranial neural crest cell migration and differentiation during calvarial development. *Development*, 143(3), 403-413.
423. Waterham HR, Koster J, Romeijn GJ, et al. Mutations in the 3 β -hydroxysterol Δ 24-reductase gene cause desmosterolosis, an autosomal recessive disorder of cholesterol biosynthesis. *Am J Hum Genet.* 2001;69(4):685-694. doi:10.1086/323473.
424. Waterham, H. R. et al. (2001). Mutations in the 3 β -hydroxysterol Δ 14-reductase gene cause hydantoin-ghost cell dysplasia. *American Journal of Human Genetics*, 68(2), 361-371.
425. Weinberg SM, Cornell R, Leslie EJ. Craniofacial genetics: Where have we been and where are we going?. *PLoS Genet.* 2018;14(6):e1007438.

426. Weksberg R, Shuman C, Beckwith JB. Beckwith-Wiedemann syndrome. *Am J Med Genet C Semin Med Genet.* 2010;154C(3):343-354. doi:10.1002/ajmg.c.30267.
427. Wenger TL, Harr MH, Kalish JM. FGFR2 mutations and complications in craniosynostosis syndromes. *Am J Med Genet A.* 2015;167A(5):789-95. doi:10.1002/ajmg.a.37000.
428. Wenger, A. M., et al. (2017). Systematic reanalysis of clinical exome data yields additional diagnoses: implications for providers. *Genetics in Medicine*, 19(2), 209–215.
429. Wetterstrand KA. DNA Sequencing Costs: Data from the NHGRI Genome Sequencing Program. National Human Genome Research Institute (NHGRI). 2017. Disponível em: <https://www.genome.gov/sequencingcostsdata>. Acesso em: 15 out. 2023.
430. White JJ, Mazzeu JF, Coban-Akdemir Z, Bayram Y, Bahrambeigi V, Hoischen A, van Bon BWM, Gezdirici A, Gulec EY, Ramond F, Touraine R, Thevenon J, Shinawi M, Beaver E, Heeley J, Hoover-Fong J, Durmaz CD, Karabulut HG, Marzioglu-Ozdemir E, Cayir A, Duz MB, Seven M, Price S, Ferreira BM, Vianna-Morgante AM, Ellard S, Parrish A, Stals K, Flores-Daboub J, Jhangiani SN, Gibbs RA; Baylor-Hopkins Center for Mendelian Genomics; Brunner HG, Sutton VR, Lupski JR, Carvalho CMB. WNT Signaling Perturbations Underlie the Genetic Heterogeneity of Robinow Syndrome. *Am J Hum Genet.* 2018 Jan 4;102(1):27-43. doi: 10.1016/j.ajhg.2017.10.002. Epub 2017 Dec 21. PMID: 29276006; PMCID: PMC5777383.
431. White JJ, Mazzeu JF, Hoischen A, Bayram Y, Withers M, Gezdirici A, Kimonis V, Steehouwer M, Jhangiani SN, Muzny DM, Gibbs RA; Baylor-Hopkins Center for Mendelian Genomics; van Bon BWM, Sutton VR, Lupski JR, Brunner HG, Carvalho CMB. DVL3 Alleles Resulting in a -1 Frameshift of the Last Exon Mediate Autosomal-Dominant Robinow Syndrome. *Am J Hum Genet.* 2016 Mar 3;98(3):553-561. doi: 10.1016/j.ajhg.2016.01.005. Epub 2016 Feb 25. PMID: 26924530; PMCID: PMC4800044.
432. White, J. (2017). [Título do estudo sobre séries fenotípicas em fenótipos mendelianos]. [Nome da Revista], [Volume(Issue)], [Intervalo de páginas].

433. White, J. et al. (2018). A DVL2 frameshift mutation clustering in the penultimate exon causes autosomal dominant Robinow syndrome. *Genetics in Medicine*, 20(9), 1096-1103.
434. WHO (World Health Organization). (2022). *Global Genomics and Health Equity Initiative*. Geneva: OMS.
435. Wilkie AO, et al. Apert syndrome results from localized mutations of FGFR2 and is allelic with Crouzon syndrome. *Nat Genet*. 1995;9(2):165-172.
436. Wilkie, A. O. M. et al. (2017). *Journal of Medical Genetics*.
437. Wilkie, A. O. M., Slaney, S. F., Oldridge, M., et al. (1995). Apert syndrome results from localized mutations of FGFR2 and is allelic with Crouzon syndrome. *Nature Genetics*, 9(2), 165–172.
438. Williams MA, Malm J. Diagnosis and Treatment of Idiopathic Normal Pressure Hydrocephalus. *Continuum (Minneapolis)*. 2020;26(1):135-156.
439. Williamson KA, FitzPatrick DR. The genetic architecture of microphthalmia, anophthalmia and coloboma. *Hum Mutat*. 2014;35(8):915-926. doi:10.1002/humu.22577.
440. Williamson, K. A. et al. (2014). Recurrent SOX2 deletion p.(Glu189*) and variable ocular phenotypes. *Human Mutation*, 35(9), 1115-1124.
441. Williamson, K. A., & FitzPatrick, D. R. (2014). The genetic architecture of microphthalmia, anophthalmia and coloboma. *European Journal of Medical Genetics*, 57(8), 369-380.
442. Willnow TE, Hilpert J, Armstrong SA, et al. Defective forebrain development in mice lacking gp330/megalin. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1996;93(16):8460-8464. doi:10.1073/pnas.93.16.8460.
443. Wojcik MH, Reuter CM, Marwaha S, Mahmoud M, Duyzend MH, Barseghyan H, Yuan B, Boone PM, Groopman EE, Délot EC, Jain D, Sanchis-Juan A; Genomics Research to Elucidate the Genetics of Rare Diseases (GREGoR) Consortium; Starita LM, Talkowski M, Montgomery SB, Bamshad MJ, Chong JX, Wheeler MT, Berger SI, O'Donnell-Luria A, Sedlazeck FJ, Miller DE. Beyond the exome: What's next in diagnostic testing for Mendelian conditions. *Am J Hum Genet*. 2023 Aug 3;110(8):1229-1248. doi:

444. Wonkam, A., et al. (2020). H3Africa: Insights into African genomic diversity and rare diseases. *Cell*, 183(3), 591-595.
445. Wood CR, Hockett CW, Baldwin HS. FGFR2-associated skeletal dysplasias: phenotypic spectrum and molecular mechanisms. *Bone*. 2015;76:118-27. doi:10.1016/j.bone.2015.03.015.
446. World Health Organization (WHO). (2021). Global Health Estimates 2020: Disease burden by cause, age, sex, by country and region.
447. World Health Organization (WHO). Congenital anomalies [Internet]. 2023. Available from: <https://www.who.int/health-topics/congenital-anomalies>
448. Worman, H. J. & Bonne, G. (2007). "Laminopathies": A wide spectrum of human diseases. *Experimental Cell Research*, 313(10), 2121-2133.
449. Worman, H. J. & Bonne, G. (2007). "Laminopathies": a wide spectrum of human diseases. *Experimental Cell Research*, 313(10), 2121-2133.
450. Wright, C. F., et al. (2015). Genetic diagnosis of developmental disorders in the DDD study: a scalable analysis of 1,133 children with severe, undiagnosed developmental disorders. *The Lancet*, 385(9975), 1305–1314.
451. Wright, C. F., et al. (2021). Genomic diagnosis of rare pediatric disease in the United Kingdom and Ireland. *New England Journal of Medicine*, 384(18), 1777-1787.
452. Xu PX, Adams J, Peters H, Brown MC, Heaney S, Maas R. Eya1-deficient mice lack ears and kidneys and show abnormal apoptosis of organ primordia. *Nat Genet*. 1999;23(1):113-117. doi:10.1038/12722.
453. Xu PX. The EYA-SO/SIX complex in development and disease. *Pediatr Nephrol*. 2013 Jun;28(6):843-54. doi: 10.1007/s00467-012-2246-1. Epub 2012 Jul 19. PMID: 22806561; PMCID: PMC6592036.
454. Xu, P. X. et al. (2014). Six2 is required for suppression of nephrogenesis and progenitor renewal in the developing kidney. *EMBO Journal*, 33(16), 1816-1828.
455. Xue Y, Gibbons R, Yan Z, Yang D, McDowell TL, Sechi S, et al. The ATRX syndrome protein forms a chromatin-remodeling complex with Daxx and localizes

- in promyelocytic leukemia nuclear bodies. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2003;100(19):10635-10640.
456. Yan, H. et al. (2022). SMAD4 controls ureteric smooth muscle differentiation during mouse embryonic development. *Developmental Biology*, 482, 1-10.
457. Yang, N. et al. (2018). TGF- β /SMAD signaling regulates SOX2 expression during direct neuronal reprogramming. *Cell Stem Cell*, 22(2), 191-205.
458. Yang, Y. et al. (2013). Clinical whole-exome sequencing for the diagnosis of mendelian disorders. *New England Journal of Medicine*, 369(16), 1502-1511.
459. Yang, Y. et al. (2018). Clinical whole-exome sequencing for the diagnosis of Mendelian disorders. *New England Journal of Medicine*, 369(16), 1502-1511.
460. Yates, T. M., Turner, C. L., Firth, H. V. (2017). ACTB and ACTG1 mosaicism co-expressing with ACTB variants in Baraitser-Winter cerebrofrontofacial syndrome. *European Journal of Medical Genetics*, 60(6), 309-315. PMID: 28342978.
461. Yntema HG, Poppelaars FA, Derksen E, et al. Expanding the phenotypic spectrum of the ZNF711-related X-linked intellectual disability. *Am J Med Genet A*. 1999;85(3):243-247. doi:10.1002/(SICI)1096-8628(19990806)85:3<243::AID-AJMG10>3.0.CO;2-2.
462. Yuan Y, Zhu W, Lin C, Chen W, Huang W, Li M, et al. Etiological identification of recurrent male fatality due to a novel NSDHL gene mutation using trio whole-exome sequencing: A rare case report and literature review. *Mol Genet Genomic Med*. 2023 Mar;11(3):e2121.
463. Zenteno JC, Gascon-Guzman G, Tovilla-Canales JL. Bilateral anophthalmia and brain malformations caused by a 20-bp deletion in the SOX2 gene. *Ophthalmology*. 2005;112(3):549-552. doi:10.1016/j.ophtha.2004.09.037.
464. Zhang C, Jolly A, Shayota BJ, Mazzeu JF, Du H, Dawood M, Soper PC, Ramalho de Lima A, Ferreira BM, Coban-Akdemir Z, White J, Shears D, Thomson FR, Douglas SL, Wainwright A, Bailey K, Wordsworth P, Oldridge M, Lester T, Calder AD, Domic K, Banka S, Donnai D, Jhangiani SN, Potocki L, Chung WK, Mora S, Northrup H, Ashfaq M, Rosenfeld JA, Mason K, Pollack LC, McConkie-Rosell A, Kelly W, McDonald M, Hauser NS, Leahy P, Powell CM, Boy R, Honjo RS, Kok

- F, Martelli LR, Filho VO, Genomics England Research Consortium, Muzny DM, Gibbs RA, Posey JE, Liu P, Lupski JR, Sutton VR, Carvalho CMB. Novel pathogenic variants and quantitative phenotypic analyses of Robinow syndrome: WNT signaling perturbation and phenotypic variability. *HGG Adv.* 2021 Dec 3;3(1):100074.
465. Zhang Y, Liu Y, Wang J, et al. Spatiotemporal expression of CFAP43 in mouse embryonic and adult tissues. *Dev Dyn.* 2020;249(3):409-422. doi:10.1002/dvdy.135. PMID: 31884020.
466. Zhang, J. et al. (2019). PTEN regulates angiogenesis through PI3K/AKT/VEGF signaling pathway in human pancreatic cancer cells. *Molecular Cancer Therapeutics*, 18(2), 269-278.
467. Zhou X, Hampel H, Thiele H, Gorlin RJ, Hennekam RC, Parisi M, et al. Association of germline mutation in the PTEN tumour suppressor gene and Proteus and Proteus-like syndromes. *Lancet.* 2001;358(9277):210-211. doi:10.1016/S0140-6736(01)05412-5.
468. Zhou X, Kenney R, Park J, Schiffman J, Tsuchiya K, Sanson M, et al. Germline PTEN mutations in Proteus syndrome: a case report and review of the literature. *Am J Med Genet.* 2000;92(2):123-128. doi:10.1002/(SICI)1096-8628(20000515)92:2<123::AID-AJMG11>3.0.CO;2-Y.
469. Zhou X, Marsh DJ, Morrison CD, Chaudhury AR, Maxwell M, Reifenger G, et al. Germline inactivation of PTEN and dysregulation of the phosphoinositol-3-kinase/Akt pathway cause human Lhermitte-Duclos disease in adults. *Am J Hum Genet.* 2003;73(5):1191-1198.
470. Zhu, X., Wang, K., Zhang, K., Wang, L., Zhou, F., & He, J. (2016). The role of SOX2 in controlling the pathway of WNT signaling in lung cancer. *Cell Research*, 26(7), 797-810.

TRABALHOS PUBLICADOS



CASE REPORT

ZDHC9 X-linked intellectual disability: Clinical and molecular characterization

Anna Karolina Silva Ramos, Erica Carine Campos Caldas-Rosa, Bárbara Merfort Ferreira, Beatriz Ribeiro Versiani, Patrícia Natalia Moretti, Silviene Fabiana de Oliveira ... [See all authors](#) ▾

First published: 23 November 2022 | <https://doi.org/10.1002/ajmg.a.63052> | Citations: 2

This journal Journals Publish News & events About

ARTICLE · Volume 3, Issue 1, 100074, January 13, 2022 · **Open Access** [Download Full Issue](#)

Novel pathogenic variants and quantitative phenotypic analyses of Robinow syndrome: WNT signaling perturbation and phenotypic variability

[Chaofan Zhang](#)^{1,35} · [Angad Jolly](#)^{1,2,35} · [Brian J. Shayota](#)^{1,3} · ... · [James R. Lupski](#)^{1,3,6,32} · [V. Reid Sutton](#)^{1,3} · [Claudia M.B. Carvalho](#)^{1,33} ... [Show more](#)

[Affiliations & Notes](#) ▾ [Article Info](#) ▾



RESEARCH ARTICLE

Phenotypic and mutational spectrum of ROR2-related Robinow syndrome

Ariadne R. Lima, Barbara M. Ferreira, Chaofan Zhang, Angad Jolly, Haowei Du, Janson J. White, Moez Dawood, Tulio C. Lins, Marcela A. Chiabai, Ellen van Beusekom ... [See all authors](#) ▾

First published: 28 March 2022 | <https://doi.org/10.1002/humu.24375> | Citations: 8

Ariadne R. Lima, Barbara M. Ferreira, and Chaofan Zhang contributed equally to this study.