

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE MONTES CLAROS

Adriana Amaral Carvalho

Avaliação da relevância clínica de fenótipos indicativos de síndromes genéticas

Montes Claros – Minas Gerais – Brasil

2022

Adriana Amaral Carvalho

Avaliação da relevância clínica de fenótipos indicativos de síndromes genéticas

Tese apresentada ao Programa de Pós-graduação em Ciências em Saúde (PPGCS) da Universidade Estadual de Montes Claros (Unimontes), como parte das exigências para a obtenção do título de Doutora em Ciências da Saúde.

Área de Concentração: Mecanismos e Aspectos clínicos das doenças

Orientador: Prof. Dr. Hercílio Martelli Júnior

Coorientadora: Profa. Dra. Daniella Reis Barbosa Martelli

Montes Claros - Minas Gerais - Brasil

2022

C331a Carvalho, Adriana Amaral.
Avaliação da relevância clínica de fenótipos indicativos de síndromes genéticas [manuscrito] / Adriana Amaral Carvalho. – Montes Claros, 2022.
132 f. : il.

Inclui Bibliografia.

Tese (Doutorado) - Universidade Estadual de Montes Claros - Unimontes,

Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde /PPGCS, 2022.

Orientador: Prof. Dr. Hercílio Martelli Júnior.

Coorientadora: Profa. Dra. Daniella Reis Barbosa Martelli.

1. Doença genética. 2. Síndromes hereditárias. 3. Manchas café-com-leite. 4. Displasia mandibuloacral. 5. Polipose adenomatosa familiar. 6. Hipertrofia congênita do epitélio pigmentar da retina. I. Martelli Júnior, Hercílio. II. Martelli, Daniella Reis Barbosa. III. Universidade Estadual de Montes Claros. IV. Título.

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE MONTES CLAROS
UNIMONTES

Reitor: Professor Antônio Alvimar Souza

Vice-reitora: Professora Ilva Ruas de Abreu

Pró-reitor de Pesquisa: Professora Clarice Diniz Alvarenga Corsato

Pró-reitor de Pós-graduação: Professor André Luiz Sena Guimarães

Coordenadoria de Acompanhamento de Projetos: Professor Virgílio Mesquita Gomes

Coordenadoria de Iniciação Científica: Professora Sônia Ribeiro Arruda

Coordenadoria de Inovação Tecnológica: Professora Sara Gonçalves Antunes de Souza

Coordenadoria de Pós-graduação *Lato Sensu*: Allysson Steve Mota Lacerda

Coordenadoria de Pós-graduação *Stricto Sensu*: Professor Marcos Flávio Silveira Vasconcelos
D'Ângelo

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS DA SAÚDE

Coordenador: Professor Alfredo Mauricio Batista de Paula

Coordenador Adjunto: Professor Renato Sobral Monteiro Júnior



UNIVERSIDADE ESTADUAL DE MONTES CLAROS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS DA SAÚDE
MESTRADO E DOUTORADO ACADÊMICO



NOME DO DISCENTE: ADRIANA AMARAL CARVALHO

- () Mestrado Acadêmico em Ciências da Saúde
(X) Doutorado Acadêmico em Ciências da Saúde

TÍTULO DO TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO (TCC):

“AVALIAÇÃO DA RELEVÂNCIA CLÍNICA DE FENÓTIPOS INDICATIVOS DE SÍNDROMES GENÉTICAS”

ÁREA DE CONCENTRAÇÃO	LINHA DE PESQUISA
(X) Mecanismos e Aspectos clínicos das doenças	() Etiopatogenia e Fisiopatologia das Doenças
	(X) Clínica, Diagnóstico e Terapêutica das Doenças
() Saúde coletiva	() Educação em Saúde, Avaliação de Programas e Serviços
	() Epidemiologia Populacional e Molecular

Data: 08/04/2022

BANCA (MEMBROS TITULARES)

Prof. Dr. Hercílio Martelli Júnior - Orientador/Presidente da Banca

Prof. Dr. Antônio Luiz Barbosa Pinheiro – UFBA

Profa. Dra. Daniella Reis Barbosa Martelli - Coorientadora

Prof. Dr. João Marcus Oliveira Andrade – PPGCS/UNIMONTES

Profa. Dra. Adriana Boeri Freire Tamburini - Centrinho/UNIFENAS

Profa. Dra. Cláudia de A. Diniz Fonseca - Medicina/UNIMONTES

ASSINATURAS

BANCA (MEMBROS SUPLENTE)

Profa Dra. Thaísa Soares Crespo - Medicina/UNIMONTES

Prof. Dr. Luciano S. Nasser - Clínica Oftalmológica Luciano Nasser

Prof. Dr. Renato Assis Machado - UNICAMP

Profa Dra. Ana Paula Venuto Moura – PPGCS

A análise realizada pelos membros examinadores da presente defesa pública de TCC teve como resultado parecer de:

[x] APROVAÇÃO

[] REPROVAÇÃO

Programa de Pós-graduação em Ciências da Saúde
Hospital Universitário Clemente de Faria – HUCF
<http://www.unimontes.br> / ppgcs@unimontes.br
Telefone: (0xx38) 3224-8372

Avenida Cula Mangabeira, 562. Bairro Santo Expedito. Montes Claros – MG, Brasil

Dedico este trabalho a todos os pesquisadores e profissionais da saúde, que em atenção ao seu “chamado” vocacional, se entregam dia a dia aos caminhos difíceis e escuros da ciência, seja este dentro dos laboratórios, seja nos corredores das clínicas e hospitais, mas que de uma forma verdadeira, inteira, humana, se doam e dedicam seu tempo (tempo que é vida) em busca do “remédio certo”, do “tratamento preciso”, da “cura para a doença”, e assim levam alívio para a dor do corpo e da alma de tantos, anônimos. E mesmo quando a cura não é mais possível, quando a ciência se cala diante da doença, com amor e respeito oferecem a mão, o ombro, ou o colo (quando ficar em pé já está difícil), a palavra que cura ou simplesmente um olhar fraterno, compaixão, um sorriso que possa compreender e assim acalmar aquele coração doente.

Dedico este trabalho a todos os meus pequenos “grandes” pacientes, com quem tenho me deparado em todos esses dias na profissão, caminhado juntos, que em sua inocência e simplicidade, se entregam, confiam, e esperam de mim... a caminhada é árdua, mas tem valido a pena, muito mais sorrisos do que lágrimas tenho visto, muito amor tenho conhecido, recebido, aprendido. Vocês enchem o meu coração de alegria e de esperança, por um mundo mais justo, mais igualitário, mais humano.

Gratidão por tudo que, com muita grandeza, vocês têm me ensinado. Cheguei aqui por vocês, e com vocês irei até o mais distante que conseguir chegar, enquanto Deus me der saúde e sabedoria para aprender mais e mais, e ajudar sempre!

AGRADECIMENTOS

Às minhas filhas, Nanda, Carol e Gabi... meus AMORES! Amor pleno, belo, forte, verdadeiro, incondicional, simples... Eterno! Amor que alegra, que faz chorar; que regozija, que sofre; que preenche, que dói... Amor que envolve, que acalma, que perdoa, que renova, que fortalece, que liberta, que protege, que encanta... Amor que impulsiona, que imobiliza; que lança, que recolhe; que empodera, que segura... Amor que CRESCE, cada dia. Amor que me faz CRESCER a cada dia!

Obrigado por experienciarem este sonho comigo!

Ao meu esposo, companheiro no caminho, César... parece que foi ontem, aquele dia, o primeiro olhar...e juntos, por estes dias completamos 25 anos de casados. Um ao outro, doamos nossos dias, dividimos nossas vidas. Hoje sou mais forte e feliz porque tenho você ao meu lado. Obrigado pela compreensão e apoio, para chegar até aqui e viver este momento.

Aos meus pais, Maria Beatriz e Antônio Carlos, esteio e guia na trajetória... que em um dia longínquo lançaram uma semente, regaram, adubaram, cuidaram... a terra era fértil, a semente vingou, brotou, cresceu, floresceu, deu belos frutos, sombra e hoje mais forte, sustenta agora uma “copa” ainda mais robusta, para servir de parada para mais e mais pessoas... Gratidão! Jamais esquecerei: vocês sempre acreditaram naquela semente e com amor e dedicação a cultivaram.

Obrigada por tudo, mamãe e papai (...saudade eterna!).

Aos meus orientadores, Hercílio e Daniella... o começo de todo sonho, é ter um “modelo” em quem se espelhar, um “norte” onde se deseja chegar. O momento seguinte, é segurar na mão estendida, que chama, que possibilita, que conduz e ir... vocês são exemplos para mim. Muito orgulho em ter caminhado lado a lado com vocês, e gratidão por terem confiado (e dedicado tempo) em meu trabalho.

Obrigada pela oportunidade e confiança!

Aos colegas de profissão, de missão, Thaísa Crespo, Luciano Nasser, Christine Mendes, Célia Maia, Renato Machado, Luís Antônio Nogueira, Cláudia Diniz, Juliana Bastos e Fernando Linhares, que por amor ao ofício da pesquisa e ao próximo, sem nenhum outro interesse, doaram o seu tempo e conhecimento, abriram as portas do seu local de trabalho, contribuíram de maneira essencial para que fosse possível chegarmos até aqui, hoje.... estes resultados são frutos do trabalho e competência de todas estas mãos.

Meu sincero muito obrigada!

À Diretoria das Instituições Hospital Universitário, Unimontes e Santa Casa de Montes Claros, que abriram as portas destas entidades para que pudéssemos desenvolver a pesquisa, frente a toda a complexidade e dificuldades que perduram no campo da pesquisa... vosso olhar e abertura foram determinantes para que pudéssemos desenvolver os trabalhos.

Muito obrigada pelo apoio!

Aos pacientes com quem me deparei nesta caminhada da pesquisa (e tive a alegria de conhecer)... vocês, que na dor pungente (e contida) de conviver com uma doença genética grave, ou tão somente com a possibilidade de tê-la, que sem recurso algum, nem tampouco apoio para lutarem e enfrentarem o seu grave problema de saúde, abriram os seus corações, confiaram, permitiram, atenderam às solicitações, se entregaram de corpo e alma... muito aprendi com a simplicidade de vocês, e “chorei” (vezes por dentro, vezes para fora), pela indiferença da sociedade, dos gestores, deste país, ao problema de tantos, e necessidade de tão pouco valor, mas um pouco que salva vidas, que transforma mundos, de quem nada e ninguém tem por ELES... carentes de amor, de recurso, de cuidado...

Muita gratidão! Não os esquecerei. Continuarei lutando, lado a lado com vocês, para que tenham assistência e cuidado digno, que é de direito, pertencimento... Serei voz forte a gritar por vocês!

*Os livros não mudam o mundo.
Os livros mudam as pessoas,
as pessoas mudam o mundo.*

*Eu não tenho paredes,
Só tenho horizontes.*

Mário Quintana¹

¹Mário de Miranda Quintana - poeta, tradutor e jornalista brasileiro.

RESUMO

Estima-se que no Brasil 13 milhões de pessoas são afetadas por alguma doença rara. Doenças genéticas correspondem a 80% das doenças raras, e desde 2015 representam, associado aos defeitos congênitos, a segunda causa de mortalidade infantil até cinco anos de idade, no Brasil. Não obstante, indivíduos portadores de doenças genéticas ainda enfrentam muitos desafios, tanto em relação ao acesso à assistência especializada, quanto à disponibilidade de exames para diagnóstico e tratamento específico. Tendo como foco os profissionais de saúde, observa-se uma expressão reduzida de pesquisas científicas sobre o tema e formação acadêmica ainda limitada para assistência desses pacientes por profissionais com formação generalista, considerando a complexidade e amplitude de conhecimento específico exigido. Diagnóstico precoce e preciso da síndrome genética é essencial para o paciente. O objetivo deste estudo foi avaliar a presença de fenótipos como “manchas café-com-leite”, “características progeróides” e “hipertrofia congênita do epitélio pigmentar da retina” para o possível diagnóstico de síndromes genéticas relacionadas. Foram desenvolvidos quatro estudos. No primeiro estudo foi realizada uma revisão narrativa da literatura visando identificar as síndromes genéticas que podem se associar com manchas café-com-leite e avaliar sua relevância como sinal indicativo destas síndromes. Um total de 60 síndromes foram identificadas a partir de investigação conduzida na base de dados OMIM. A caracterização clínica e molecular de cada uma delas foi resumida e apresentada. No segundo estudo, dentre as 60 síndromes relatadas no trabalho anterior, aquelas que apresentam alterações craniofaciais associadas foram identificadas e descritas em relação ao quadro clínico geral e específico. Em um terceiro estudo foi realizado o relato de caso de uma criança com uma laminopatia progeróide identificada como displasia mandibuloacral com lipodistrofia tipo A após análise molecular. O fenótipo severo observado estava associado a uma mutação incomum encontrada no gene *LMNA*. No quarto estudo, uma família numerosa de 95 pessoas composta por indivíduos afetados ou em risco da doença genética polipose adenomatosa familiar foi avaliada quanto à presença da alteração fenotípica hipertrofia congênita do epitélio pigmentado da retina. Avaliação oftalmológica foi realizada em 45 membros da família. Os estudos realizados evidenciaram que fenótipos como “manchas café-com-leite”, “características progeróides” e “hipertrofia congênita do epitélio pigmentar da retina” são relevantes como indicadores de condições genéticas.

Palavras-chave: Doença genética. Síndromes hereditárias. Manchas café-com-leite. Relato de caso. Displasia mandibuloacral. Polipose adenomatosa familiar. Hipertrofia congênita do epitélio pigmentar da retina.

ABSTRACT

It is estimated that in Brazil 13 million people are affected by some rare disease. Genetic diseases account for 80% of rare diseases and since 2015 they represent, associated with birth defects, the second cause of under-five mortality in Brazil. Nevertheless, individuals with genetic diseases still face many challenges, both in terms of access to specialized care and the availability of diagnostic tests and specific treatment. Focusing on health professionals, there is a reduced production of scientific research and insufficient academic formation for the care of these patients by general practitioners, considering the complexity and breadth of specific knowledge required. Early and accurate diagnosis of the genetic syndrome is essential for the patient. The aim of this study was to evaluate the presence of phenotypes such as “cafe-au-lait spots”, “progeroid features” and “congenital hypertrophy of the retinal pigment epithelium” for the possible diagnosis of related genetic syndromes. Four studies were developed. In the first study, a narrative review of the literature was carried out in order to identify the genetic syndromes that may be associated with cafe-au-lait spots and to assess their relevance as an indicative sign of these syndromes. A total of 60 syndromes were identified from research conducted in the OMIM database. The clinical and molecular characterization of each one was summarized and presented. In the second study, among the 60 syndromes reported in the previous study those with associated craniofacial alterations were identified and described regarding to the general and specific clinical features. In a third study, a case report of a child with a progeroid laminopathy identified as mandibuloacral dysplasia with type A lipodystrophy by molecular analysis was performed. The severe phenotype observed was associated with an unusual mutation found in the LMNA gene. In the fourth study, a large family of 95 people composed of individuals affected by or at risk for the genetic disease familial adenomatous polyposis was evaluated for the presence of the phenotypic alteration congenital hypertrophy of the retinal pigment epithelium. Ophthalmological evaluation was performed on 45 family members. The studies carried out showed that phenotypes such as “cafe-au-lait spots”, “progeroid features” and “congenital hypertrophy of the retinal pigment epithelium” are relevant as indicators of genetic conditions.

Keywords: Genetic disease. Hereditary syndromes. Cafe-au-lait spots. Case report. Mandibuloacral dysplasia. Familial adenomatous polyposis. Congenital hypertrophy of the retinal pigment epithelium.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 - Descodificando os elementos do código genético	19
Figura 2 - Avanços tecnológicos dos últimos anos permitiram o surgimento de uma nova era nas pesquisas: A Era das Ômicas	20
Figura 3 - Reino Unido dá os primeiros passos para implantar a medicina personalizada no seu sistema público de saúde	21
Figura 4 - Manchas café-com-leite em um paciente com neurofibromatose tipo 1.....	25
Figura 5 - Imagem de melanócitos na epiderme	27
Figura 6 - Representação esquemática dos principais mecanismos de amarração da cromatina à lâmina nuclear	31
Figura 7 - Representação esquemática de diferentes tipos de arquitetura cromossômica geradas após perda da lâmina nuclear/armação da cromatina	32
Figura 8 – Hipertrofia congênita do epitélio pigmentar da retina (<i>bear tracks</i>)	34

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

Seção: INTRODUÇÃO

aCGH	<i>Array Comparative Genomic Hybridization</i> (Hibridização Genômica Comparativa em array)
CRISPR/Cas9	<i>Clustered Regularly Interspaced Short Palindromic Repeats</i>
DNA	<i>Deoxyribonucleic acid</i> (Ácido Desoxirribonucleico)
FISH	<i>Fluorescent in Situ Hybridization</i> (Hibridização Fluorescente in situ)
MLPA	<i>Multiplex Ligation-dependent Probe Amplification</i> (Amplificação Multiplex de Sondas Dependente de Ligação)
PCR	<i>Polymerase Chain Reaction</i> (Reação em cadeia da polimerase)
PGH	Projeto Genoma Humano

Seção: REVISÃO DE LITERATURA

Tópico 1: Manchas café-com-leite e seu significado clínico

<i>c-Kit</i>	<i>KIT gene - KIT proto-oncogene receptor tyrosine kinase</i> (Gene <i>KIT</i> - proto-oncogene que codifica o receptor tirosina-quinase)
<i>H-RAS</i>	<i>Neuroblastoma RAS Viral Oncogene Homolog</i> (Oncogene homólogo de neuroblastoma RAS viral)
<i>KITLG</i>	<i>KITLG gene - Gene that encodes the ligand of the tyrosine-kinase receptor</i> (Gene <i>KITLG</i> - gene que codifica o ligante do receptor tirosina-quinase)
<i>KITLG/c-KIT</i>	<i>Kit receptor signaling pathway</i> (Via de sinalização KIT)
<i>K-RAS</i>	<i>Kirsten Rat Sarcoma Viral Oncogene</i> (Gene homólogo do oncogene viral do sarcoma de rato Kirsten)
<i>MCL</i>	Manchas café-com-leite
<i>N-RAS</i>	<i>Neuroblastoma RAS viral oncogene homolog</i> (Gene homólogo do oncogene de neuroblastoma viral RAS)
Proteína c-KIT	<i>Receptor tyrosine kinase</i> (Receptor tirosina-quinase)
Ras/MAPK	<i>Ras/Mitogen Activated Protein Kinase</i> (Via de sinalização Ras/Proteino-quinases ativadas por mitógenos)
UEM	Unidade epidérmico-melânica

Tópico 2: Alterações progeróides na infância e síndromes genéticas associadas

<i>BANF1</i>	<i>Gene that encodes the BAF Nuclear Assembly Factor 1</i>
HGPS	<i>Hutchinson-Gilford Progeria Syndrome</i> (Síndrome progeróide de Hutchinson-Gilford)
LADs	<i>Lamina-associated chromatin domains</i> (domínios de cromatina associados à lâmina)
LDDDB	<i>London Dysmorphology Database</i>
<i>LMNA</i>	<i>Gene encoding two proteins of the nuclear lamina, lamins A and C</i> (Gene que codifica as lâminas nucleares A/C)
<i>LMNB1</i>	<i>Gene that encodes a B type nuclear lamin</i> (Gene que codifica a lâmina B nuclear, subtipo B1)
<i>LMNB2</i>	<i>Gene that encodes a B type nuclear lamin</i> (Gene que codifica a lâmina B nuclear, subtipo B2)
MADA	<i>Mandibuloacral Dysplasia type A</i> (Displasia mandibuloacral tipo A)
MADB	<i>Mandibuloacral Dysplasia type B</i> (Displasia mandibuloacral tipo B)
NGPS	<i>Nestor-Guillermo progeria syndrome</i> (Síndrome progeróide de Nestor Guillermo)
OMIM	<i>Online Mendelian Inheritance in Man</i>
<i>ZMPSTE24</i>	<i>Zinc Metallopeptidase STE24 gene</i> (Gene STE24 de metalopeptidase de Zinco)

Tópico 3: Hipertrofia congênita do epitélio pigmentar da retina como marcador fenotípico da PAF

<i>APC</i>	<i>Gene Adenomatous polyposis coli</i>
CCR	Câncer colorretal
CHRPE	<i>Congenital hypertrophy of the retinal pigment epithelium</i> (Hipertrofia congênita do epitélio pigmentar da retina)
EB1	<i>End binding protein-1</i> (Proteína de ligação final EB1)
GSK3	<i>Glycogen synthase kinase-3</i> (Glicogênio sintase quinase-3)

hDLG	<i>Human homologue of Drosophila disc large tumor suppressor protein</i> (Homólogo humano da proteína supressora de tumor dos discos de Drosophila)
MAP	<i>MYH-associated polyposis</i> (Polipose associada ao gene <i>MYH</i>)
MUTYH	<i>MUTYH-associated polyposis – Familial Adenomatous Polyposis 2</i> (Polipose associada ao <i>MUTYH</i>)
NAP	Polipose associada ao gene <i>NTHL1</i>
<i>NTHL1</i>	<i>Gene that encodes a human homolog of E. coli endonuclease 1</i>
PAF	<i>Familial Adenomatous Polyposis - FAP</i> (Polipose Adenomatosa Familiar – PAF)
PAFA	<i>Attenuated Familial Adenomatous Polyposis–AFAP</i> (Polipose Adenomatosa Familiar Atenuada – PAFA)
<i>POLE</i>	<i>Gene that encodes the catalytic subunit of DNA polymerase epsilon</i> (gene que codifica a subunidade catalítica da DNA polymerase épsilon)
<i>POLD1</i>	<i>Gene that encodes the catalytic subunit of DNA polymerase delta</i> (Gene que codifica a subunidade catalítica da DNA polimerase delta)
PPAP	<i>Polymerase proofreading-associated Polyposis</i> (Polipose associada à revisão de polimerase)

SUMÁRIO

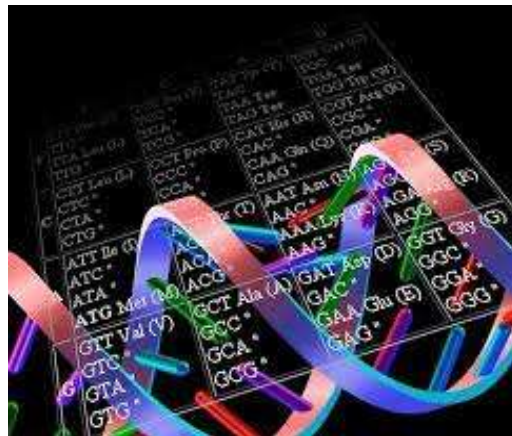
1 INTRODUÇÃO	19
2 OBJETIVOS	24
2.1 Objetivo Geral	24
2.2 Objetivos Específicos	24
3 REVISÃO DE LITERATURA	25
3.1 Manchas café-com-leite e seu significado clínico	25
3.2 Alterações progeróides na infância e síndromes genéticas associadas.....	29
3.3 CHRPE como marcador fenotípico da PAF	33
4 METODOLOGIA.....	40
4.1 Delineamento do estudo	40
4.2 Coleta de dados e aspectos éticos	41
5 PRODUTOS TÉCNICOS-CIENTÍFICOS GERADOS	42
5.1 Artigo 1: Cafe-au-lait spots as a clinical sign of syndromes.....	43
5.2 Artigo 2: Craniofacial findings in syndromes associated with café-au-lait spots: a literature review.....	59
5.3 Artigo 3: A rare LMNA missense mutation causing a severe phenotype of mandibuloacral dysplasia type A – a case report.....	76
5.4 Artigo 4: Congenital hypertrophy of the retinal pigment epithelium as a diagnostic marker for Familial Adenomatous Polyposis	93
6 CONCLUSÕES.....	115
7 CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	116
REFERÊNCIAS	117
APÊNDICES	122
APÊNDICE A	122
APÊNDICE B	124
ANEXOS	126
ANEXO A	126
ANEXO B	130

1 INTRODUÇÃO

No artigo intitulado “*Projeto Genoma Humano: Uma Leitura Atenta do Livro da Vida?*” Porcionatto (2007) (1) faz uma reflexão sobre o alcance do Projeto Genoma Humano (PGH), que levou à descodificação do nosso código genético, com grande contribuição para as ciências biológicas, do ponto de vista tecnológico e científico.

Sobre o nome o “livro da vida” atribuído ao conjunto de genes do ser humano, a autora discorre sobre o tema como sendo esta “uma metáfora enganosa”, considerando que todas as expectativas de que a decifração do código genético poderia trazer respostas importantes às questões fundamentais da existência humana foram frustradas. Lembra que o código genético nada mais representa que um polímero composto de nucleotídeos onde estão codificadas informações importantes para o funcionamento de um determinado organismo vivo (Figura 1). Neste contexto, ressalta a perspectiva do biólogo François Jacob*, em 1983, de que uma leitura atenta do “livro da vida” deve considerar não só os aspectos biológicos e genéticos, como também ambientais, sociais e culturais (1).

Figura 1 – Descodificando os elementos do código genético



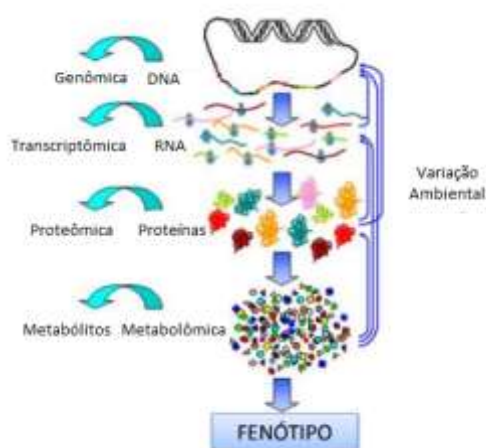
Fonte: Disponível em Greelane.com

O poder transformacional da genômica na medicina é inquestionável, porém de uma forma e em uma escala de tempo diferentes do originalmente projetado ou imaginado (2). O deciframento do código genético impôs uma concepção inicial de determinismo genético, cujo

*Jacob F. A lógica da vida: uma história da hereditariedade. 2ª ed. Rio de Janeiro: Graal; 1983 apud (1)

eixo principal era a ideia de programação genética, de que “somos uma repetição da memória genética” (3). Mas ainda na primeira década do século XXI esse determinismo anteriormente cultuado não se sustentou mais diante das novas descobertas advindas das investigações biomédicas, e começou a ser rompido. Na era pós-genômica, a tônica das pesquisas recai sobre como os genes funcionam, e não mais como eles estão “desenhados” ou “ordenados”. Avança-se na genômica funcional, na proteômica, transcriptômica e metabolômica (4) (Figura 2). Neste novo campo de estudos, o sentimento que impera é a crítica ao determinismo genético. Surge uma das vertentes de aplicação médica do conhecimento sobre o genoma, a estimativa de patologias prováveis, ou seja, cujo “risco” de desenvolvimento está assinalado geneticamente. Em se tratando de risco, a prática médica deve estar moldada na intercessão de dois conjuntos: o biológico, consequente a defeitos genéticos, e os fatores ambientais, capazes de desencadear processos que conduzem à doença (3).

Figura 2 – Avanços tecnológicos dos últimos anos permitiram o surgimento de uma nova era nas pesquisas: a Era das Ômicas



Fonte: Disponível em edisciplinas.usp.br

A medicina teve que se reinventar no decorrer das descobertas científicas e avanços da biomedicina deste século. De uma medicina cartesiana, mecanicista, focada no biológico, para uma “nova” medicina, com uma visão mais ampla, holística. Não é mais possível negligenciar os aspectos psicológicos, sociais e ambientais da doença. É consenso que a genética, associada a fatores ambientais e o estilo de vida, influenciam a constituição e saúde do indivíduo. Quando se observa a doença em um indivíduo, dificilmente encontramos uma causa isolada; ao

contrário, o adoecimento é o resultado da somatória de vários fatores, como hábitos de vida, contexto social, ambiente geográfico, herança genética, dentre outros (5).

Evoluiu-se com a “medicina personalizada”, ou “de precisão” (Figura 3). No entanto, para nos transformarmos é preciso conhecer nossa identidade genética, para a partir deste conhecimento construir e indicar tratamentos personalizados. “Sabendo o que somos, podemos ser outro, divergir de nós mesmos” (3). Assim, para explorar todo o potencial do genoma humano e contribuir para o avanço da medicina e do seu fim maior, a condição humana, foi preciso girar o campo “de volta ao básico”, e compreender que entender a totalidade da equação do genótipo para o fenótipo é um pré-requisito provável (2).

Figura 3 - Reino Unido dá os primeiros passos para implantar a medicina personalizada no seu sistema público de saúde



Fonte: Disponível em: <https://chromosome.com.br/reino-unido-da-os-primeiros-passos-para-implantar-medicina-personalizada-no-seu-sistema-publico-de-saude/>

Avanços ocorreram nas técnicas para diagnóstico de doenças genéticas. Dos testes voltados para uma região específica do DNA (“diagnóstico com alvo” ou “*targeted*”), como *Southern blot*, Hibridização *in situ* Fluorescente (FISH), Reação em Cadeia da Polimerase (PCR) e Amplificação Multiplex de Sondas Dependente de Ligação (MLPA), àqueles de “diagnóstico amplo”, direcionados a todo o genoma, que incluem o cariótipo, o sequenciamento e a Hibridização Genômica Comparativa em *array* (aCGH) (6). Entretanto, apesar dos inúmeros benefícios dos métodos de “diagnóstico amplo”, é importante ressaltar limitações deste tipo de investigação, como a dificuldade na interpretação dos resultados e/ou no estabelecimento de uma correlação genótipo-fenótipo observada em alguns casos. Além disso, é relevante

considerar que métodos como o sequenciamento do exoma não constituem uma ferramenta custo-efetiva viável na realidade brasileira, no que tange ao seu uso na prática clínica do serviço público.

Como alternativa, partir do fenótipo para direcionar uma investigação genética voltada para uma região específica do DNA é mais procedente e viável em nossa realidade. Ainda que sua avaliação não seja fácil, e este possa ser bastante variável, considerando possíveis diferenças na expressividade e penetrância dos genes, partir do fenótipo para conduzir uma suspeita diagnóstica e direcionar a investigação genética é um recurso atraente (6).

O fenótipo é o visível, é o concreto, e como tal deve ser o ponto de partida, na maioria das vezes, na busca por um diagnóstico. Em um ambiente de exposição, o ambiente pode atuar ou interagir e desencadear doenças, ou fenótipos. A partir de uma observação clínica criteriosa e embasada dos dados fornecidos pelo fenótipo podemos proceder um raciocínio clínico inverso frente ao processo de adoecimento e, assim, direcionar a investigação genética. Neste movimento, o cerne da investigação diagnóstica volta-se para o profissional de saúde. O diagnóstico depende do conhecimento e raciocínio médico bem estabelecidos (6). E neste propósito, a ciência e busca fundamentada por sinais clínicos, potenciais marcadores fenotípicos de algumas síndromes genéticas, preenche um espaço importante como balizadores do raciocínio clínico, relevantes para conduzir uma suspeita diagnóstica de condições genéticas específicas.

Anomalias congênitas, muitas das quais são doenças genéticas raras, tem grande impacto na morbidade e mortalidade de crianças, representando a segunda maior causa de mortalidade infantil até os cinco anos de idade, no Brasil, desde 2015 (7). Diagnóstico preciso tem relevância para pacientes e familiares, permitindo conectá-los a redes de apoio específicas, conhecer sobre o prognóstico e comorbidades associadas, acessar tratamento específico, além de facilitar o planejamento familiar e a adoção de medidas de suporte para o paciente (2). Ainda que até o momento os avanços da ciência não proporcionaram soluções efetivas de tratamento para a maioria destas doenças genéticas, com o aprofundamento dos estudos na proteômica, transcriptômica e metabolômica e os progressos na terapia gênica que ganhou grande impulso desde o desenvolvimento do sistema CRISPR/Cas9 (*Clustered Regularly Interspaced Short Palindromic Repeats*) em 2012 (8), espera-se que medidas terapêuticas eficazes venham a estar disponíveis para estes pacientes e, quem sabe, a cura para muitas dessas doenças.

Avanços na biomedicina devem ter como foco a melhoria da condição humana. Partindo das necessidades do paciente, e com o olhar para o paciente, observou-se transformação do contexto clínico em uma “medicina personalizada”. Mas é preciso cautela ao seguir nesta direção (8). As tecnologias biomédicas não são neutras, mas estão inseridas em contextos morais. Assim, a incorporação de uma nova tecnologia na medicina deve sempre ser precedida por uma avaliação custo-benefício em uma perspectiva ética, que seja inclusiva, e não exclusiva, de maneira a aumentar as desigualdades em saúde, descreveu a antropologista Margaret Lock* em seu livro, em 2010 (8). Deve-se usar toda a tecnologia e evolução para alcançar os melhores resultados, como prevenção e tratamento de doenças complexas, e construir um mundo mais saudável. É preciso olhar o DNA em todas as perspectivas. É fundamental preservar a perícia em interpretar fenótipos. É importante ter um olhar mais amplo quando na tomada de decisão das ações em saúde, que devem estar sempre voltadas para os “sujeitos”, inseridos em seus contextos socioculturais, políticos e econômicos. É possível utilizar todas as possibilidades do conhecimento científico adquirido de maneira extraordinária nas últimas décadas, para a melhoria de vida de milhares de pessoas, e salvar inúmeras vidas. Depende do que será feito com todo este conhecimento transformador adquirido nos últimos 30 anos.

A perspectiva dos trabalhos realizados foi avaliar a relevância de fenótipos como manchas café-com-leite, características progeróides e hipertrofia congênita do epitélio pigmentado da retina para o diagnóstico de síndromes genéticas relacionadas.

*Lock M, Nguyen V-K. An anthropology of biomedicine. 2ª ed. Hoboken: John Wiley & Sons; 2010 apud (8)

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo geral:

- Avaliar sinais clínicos específicos como marcadores fenotípicos de síndromes genéticas.

2.2 Objetivos específicos:

- Avaliar a presença de manchas café-com-leite como sinal clínico sugestivo de síndrome genética.
- Descrever as alterações craniofaciais esperadas em síndromes genéticas associadas à presença de manchas café-com-leite.
- Relatar as características clínicas observadas em um paciente com uma forma grave de laminopatia progeróide e a mutação incomum detectada após análise de material genético da criança e dos pais, através de um relato de caso.
- Analisar a presença da hipertrofia congênita do epitélio pigmentar da retina como marcador fenotípico da polipose adenomatosa familiar.

3 REVISÃO DE LITERATURA

3.1 Manchas café-com-leite e seu significado clínico

Manchas café-com-leite (MCL) são alterações pigmentares planas na pele, de cor castanho claro homogêneo ou castanho médio a escuro em pessoas de pele escura (9,10), que se apresentam mais frequentemente em um formato oval com bordas lisas (11), mas que podem assumir outros formatos e outras denominações, como “costa da Califórnia”, quando as margens são regulares e claramente demarcadas, e “costa do Maine”, quando apresentam uma margem mais irregular e geralmente são maiores e solitárias (10,12,13) (Figura 4). As manchas podem ser encontradas em todo o corpo exceto no couro cabeludo, nas palmas das mãos e na planta dos pés (9), e podem variar de tamanho de 0,2 cm a 30 cm de diâmetro (11). Histologicamente, elas demonstram um aumento no conteúdo de melanina em ambos, melanócitos e queratinócitos basais, e em algumas condições patológicas número aumentado de melanócitos, embora a proliferação de melanócitos não seja observada (10). MCL podem estar presentes ao nascimento ou se desenvolverem nos primeiros anos de vida, o que ocorre na maioria dos casos (9).

Figura 4 - Manchas café-com-leite em um paciente com neurofibromatose tipo 1



Fonte: Imagem de arquivo pessoal da autora

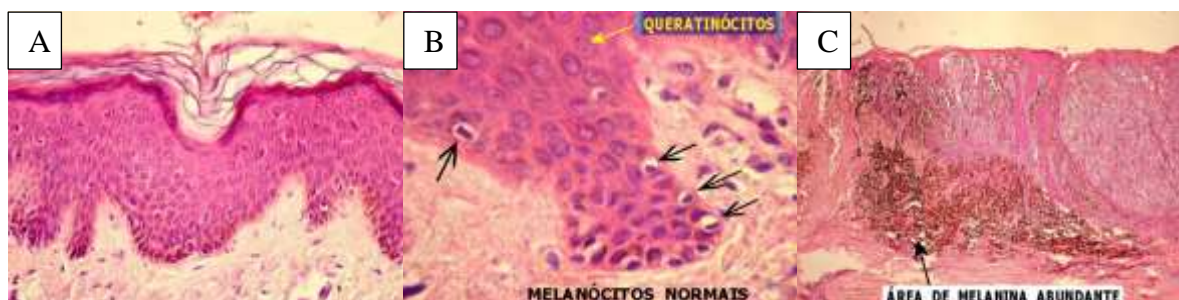
Lesões congênitas hiperpigmentadas distintas de MCL, que também podem ser encontradas na pele, são o lentigo e o nevo melanocítico congênito. No conceito de lentigo temos um pequeno ponto ou mancha pigmentada plana com bordas bem definidas, de cor marrom escuro

a preto, variando em tamanho de 2 a 20 mm de diâmetro (geralmente menor que 1 cm), que pode ocorrer em qualquer parte da pele (11). Nevo melanocítico congênito é definido como uma lesão geralmente altamente pigmentada, saliente ou não, que consiste de acúmulo anormal de melanócitos após formação do embrião, com envolvimento de áreas vasculares e outras áreas vizinhas na histologia, e tamanho que pode variar de pequeno ($< 1\text{cm}$) a extremamente grande ($> 20\text{cm}$) (14).

Várias etapas estão envolvidas na determinação genética da cor da pele. Os melanócitos derivam da crista neural e vários genes estão implicados no desenvolvimento e função dos melanócitos. O processo se inicia com a especificação de células embrionárias da crista neural originando os melanoblastos. À partir daí, segue-se a proliferação e migração do melanoblasto para a pele do embrião, diferenciação de melanoblastos em melanócitos, proliferação e sobrevivência dos melanócitos na camada basal da epiderme, biogênese dos melanossomas nos melanócitos, produção de grânulos de melanina nos melanossomas, translocação de melanossomas da região perinuclear para a região periférica dos melanócitos, transferência dos melanossomas dos melanócitos para os queratinócitos e translocação dos grânulos de melanina da região periférica para a região supranuclear dos queratinócitos (15,16).

Além disso, a epiderme humana normal possui um “arranjo celular tridimensional ordenado” cuja configuração também influencia na determinação da pigmentação da pele. Nesta estrutura, melanócitos individuais estão amplamente espaçados um dos outros, mas se comunicam com queratinócitos próximos e provavelmente com outros tipos de células, incluindo células de Langerhans, fibroblastos, células vasculares e terminações nervosas (14) (Figura 5). Este agrupamento estrutural e funcional é nominado unidade epidérmico-melânica (UEM). Embora o tamanho das UEM seja semelhante, independentemente da raça humana, as distinções raciais se manifestam no arranjo dos dendritos melanocíticos e na intensidade da melanogênese (15). Alteração da sinalização que direciona a arquitetura precisa da UEM pode levar a um supercrescimento benigno regional de melanócitos, e resultar em manchas pigmentares nitidamente demarcadas (14).

Figura 5 - Imagem de melanócitos na epiderme, em área correspondente a tumor retirado da região lombar de uma mulher com 36 anos de idade (A – Pele normal: melanócitos se localizam de forma espaçada entre os queratinócitos da camada basal da epiderme; B – Pele normal, com arranjo em geral de um melanócito para cada 10 queratinócitos, porém com variação possível nesta proporção e também na produção de melanina; C – Melanoma mostrando área pigmentada (melanótica), onde as células neoplásicas produzem melanina abundante)



Fonte: Disponível em: <http://anatpat.unicamp.br/lampele13.html>

Vários genes codificam proteínas componentes ou reguladoras das vias de sinalização que comandam o desenvolvimento e função dos melanócitos. Nessa categoria estão os genes *c-Kit* e *KITLG*, que codificam a proteína c-KIT (receptor tirosina-quinase) e o fator de célula-tronco (KIT ligante), e levam à ativação da via de sinalização Ras/MAPK (proteínas quinases ativadas por mitógenos) (16,17). Outra classe importante é a família RAS, que compreende genes expressos em vários tipos de células normais: *H-RAS*, *N-RAS* e *K-RAS*. Essa via de sinalização é ativada em resposta a vários tipos de estímulos extracelulares (como fatores de crescimento, hormônios, interação célula/célula) para modular funções como a regulação do ciclo celular, diferenciação, crescimento e senescência celular, através de vias de sinalização intracelular (18). Essas duas vias de sinalização, *KITLG/c-KIT* e *Ras/MAPK*, são consideradas pontos cruciais na determinação da pigmentação da pele.

Um amplo grupo de síndromes genéticas associadas à presença de MCL resultam de mutações na linha germinativa desses genes. Assim, temos as RASopatias, que envolvem síndromes distintas entre si, por serem causadas por mutações em diferentes pontos da via de sinalização *Ras/MAPK*, mas que compartilham muitas características sobrepostas, incluindo dismorfismo craniofacial, anormalidades cardiovasculares, anomalias musculoesqueléticas, lesões cutâneas, comprometimento neurocognitivo e aumento do risco de formação de tumor (19). Entre as síndromes associadas a alterações nos genes *c-Kit* e *KITLG*, algumas ocorrem devido a distúrbios da diferenciação e migração aberrante de melanoblastos durante a embriogênese (16), e outras estão ligadas apenas a anormalidades na melanogênese, podendo apresentar fenótipos de pigmentação sem afetar qualquer outro sistema orgânico.

Além dessas classificações, síndromes genéticas associadas à MCL podem pertencer ao grupo das facomatoses, ou síndromes neurocutâneas, onde estão incluídas patologias com diferentes mecanismos genéticos, mas que apresentam como característica comum anormalidades nos tecidos de origem ectodérmica, especialmente pele, olhos e sistema nervoso central (20). Ademais, hiperpigmentação melanótica localizada ou geral pode fazer parte da apresentação clínica de muitas outras doenças sistêmicas congênitas que resultam de defeitos proteicos ubíquos e/ou processos celulares basais, como as alterações que afetam o reparo do DNA na anemia de Fanconi, o que sugere que os melanócitos são um tipo de célula com alta sensibilidade a esses distúrbios (14).

De grande importância na investigação de síndromes associadas à MCL é o conhecimento de que muitas outras células do corpo compartilham uma origem celular e/ou vias regulatórias genéticas comuns aos melanócitos. Assim, temos que a crista neural também origina neurônios e células da glia do sistema nervoso periférico, células endócrinas e estruturas craniofaciais (14). Além disso, estudos realizados em pacientes com distúrbios de pigmentação da pele demonstraram semelhanças moleculares entre melanócitos e vários tipos de células/tecidos menos visíveis, com a identificação de genes pleiotrópicos envolvidos, em que um único gene é necessário para várias funções, muitas vezes em diferentes tipos de células. Relevante ainda ressaltar que melanócitos são também encontrados no ouvido, sistema nervoso, coração e outros locais (15).

Contudo, é necessário ressaltar que a presença de MCL pode ser um achado comum (10-36% das pessoas saudáveis) (9), sem significado clínico quando dissociado de outros achados. Entretanto, a presença de múltiplas manchas, MCL segmentar extensa, outras anomalias cutâneas, dismorfismo facial associado ou achados incomuns no exame físico podem sugerir a possibilidade de uma doença genética associada e devem ser imediatamente investigados (10). Além disso, a hiperpigmentação congênita anormal é normalmente definida como a apresentação de quantidade significativamente maior de hiperpigmentação do que a da população em geral, no nascimento ou logo após o nascimento (14).

3.2 Alterações progeróides na infância e síndromes genéticas associadas

Alterações progeróides são sinais clínicos de envelhecimento com aparecimento em fase precoce da vida, ainda na infância, na adolescência ou no mais tardar no início da fase adulta, que se assemelham ao envelhecimento fisiológico. Considerando que a patogênese envolvida no envelhecimento fisiológico e em um distúrbio mendeliano nem sempre é a mesma, George Martin (1978) definiu o termo “progeróide”, que significa “semelhante a progeria” ou “semelhante a um envelhecimento mais rápido”, para se referir ao envelhecimento nestas entidades genéticas, em detrimento do termo progeria, que significa “envelhecimento mais rápido” (21, 22).

Hennekam (2020a), sugere quais características definem o envelhecimento fisiológico, características estas limitadas, em seu estudo, àquelas que podem ser reconhecidas em uma avaliação física no consultório médico ou mediante estudos complementares simples, e que, portanto, exclui outras características do envelhecimento como arteriosclerose, diabetes tipo II, vulnerabilidade a infecções e maior chance de desenvolver câncer. Desta maneira, cita e define como sendo 29 os sinais externos e sintomas que caracterizam o envelhecimento humano: cabelo grisalho, queda de cabelo, cabelo fino, parte inferior da testa reta, catarata, olhos profundos, perda auditiva, malar plano à palpação, perda da cartilagem nasal, ponta nasal deprimida, prega nasolabial proeminente, bochechas flácidas, perda de dentes permanentes, cantos da boca voltados para baixo, mandíbula pequena, retrognatia, lipodistrofia, diminuição mobilidade articular, sarcopenia, aumento do enrugamento da pele, pele frágil, perda de elasticidade da pele, hiperpigmentação da pele, diminuição generalizada da pigmentação da pele, diminuição de altura, hipogonadismo, menopausa, tremor e perda de habilidades mentais (23).

Em outro artigo, Hennekam (2020b) adiciona às 29 características externas do envelhecimento, propostas em seu trabalho anterior, mais 5 outras características que envolvem os órgãos internos, quais sejam, arteriosclerose, câncer, diabetes mellitus, osteoporose e maior vulnerabilidade a infecções. Assim, um total de 34 atributos são utilizados como definindo o envelhecimento fisiológico. Entretanto, considerando que 3 deles (parte inferior da testa reta, cabelos finos e diminuição generalizada da pigmentação da pele) raramente são descritos nas publicações científicas sobre síndromes progeróides, o autor propôs que para que uma entidade seja classificada como progeróide, ao menos 40% (13 atributos) de 31 dos 34 sinais e sintomas citados como característicos do envelhecimento natural necessitam estar presentes (22).

Tendo como base essa definição, e a partir de busca no *London Dysmorphology DataBase (LDDDB)* (24) - um recurso de busca contendo virtualmente todas as síndromes relatadas que acompanham um fenótipo externo anormal, e excluídos os desequilíbrios cromossômicos, considerando que o fenótipo resultante geralmente não pode ser atribuído a um único gene, um total de 17 entidades mendelianas apresentando características de envelhecimento prematuro foram identificadas na literatura: *Hutchinson-Gilford progeria syndrome* (OMIM #176670); *Mandibuloacral dysplasia with type A lipodystrophy* (OMIM #248370); *Nestor-Guillermo progeria syndrome* (OMIM #614008); *Cockayne syndrome* (OMIM #216400); *Cutis Laxa progeroid type* (OMIM #219100); *Penttinen progeroid syndrome* (OMIM #601812); *Mandibular hypoplasia, deafness, progeroid features, and lipodystrophy syndrome* (OMIM #615381); *Fontaine progeroid syndrome* (OMIM #612289); *SHORT syndrome* (OMIM #269880); *Wiedemann-Rautenstrauch syndrome* (OMIM #264090); *Mulvihill-Smith syndrome* (OMIM #176690); *Dyskeratosis congenita* (OMIM #127550); *Marfanoid-progeroid-lipodystrophy syndrome* (OMIM #616914); *Warburg-Cinotti syndrome* (OMIM #618175); *Lessel syndrome* (OMIM #618681); e *Bloom syndrome* (OMIM #210900) (22-25).

Em relação à fisiopatogenia, as síndromes progeróides podem ser classificadas em 2 grandes grupos, relacionado ao gene mutado e via metabólica consequentemente alterada. O primeiro grupo compreende as síndromes causadas por alterações em componentes do envelope nuclear, classificado como laminopatias; o segundo grupo envolve síndromes progeróides causadas por mutações em genes envolvidos nas vias de reparo de DNA (26,27).

Como síndromes progeróides associadas a mutações em genes envolvidos nas vias de reparo de DNA, temos *Werner syndrome* (WS; OMIM #277700), *Bloom syndrome*, *Rothmund-Thomson syndrome* (RTS; OMIM #618625), *Cockayne syndrome*, *xeroderma pigmentosum* (XP; OMIM #278700), *trichothiodystrophy 1* (TTD; OMIM #601675), *Fanconi anemia* (FA; OMIM #227650), *Seckel syndrome* (SS; OMIM #210600), *ataxia-telangiectasia* (AT; OMIM #208900), *ataxia-telangiectasia-like disorder 1* (ATLD; OMIM #604391), *cerebroretinal microangiopathy with calcifications and cysts 1* (CRMCC; OMIM #612199) e *Nijmegen breakage syndrome* (NBN; OMIM #251260), além de uma subcategoria deste grupo formada pela *dyskeratosis congenita* e *dyskeratosis congenita X-linked* (OMIM #305000), ligadas a mutações em componentes do complexo da telomerase, que causam o atrito dos telômeros (25,26). Entretanto, é importante considerar que alguns desses distúrbios são marcados como progeróides baseado na semelhança da função dos genes causadores com aqueles que causam

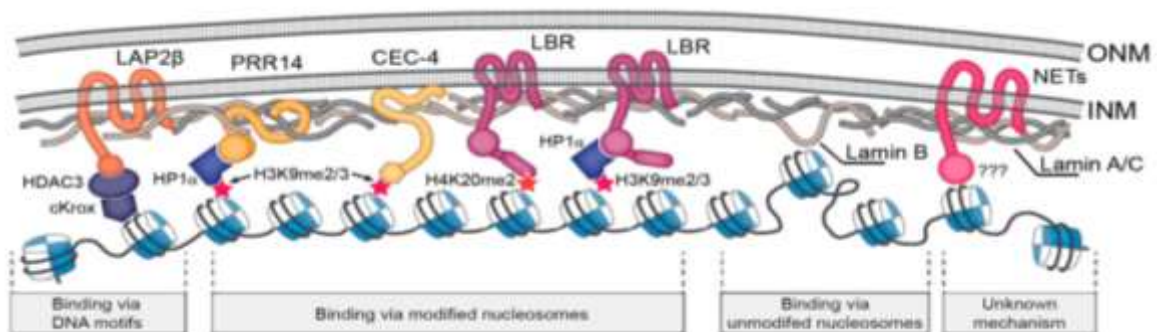
síndromes progeróides típicas, e não com base no fenótipo, e talvez não deveriam ser chamados de entidades progeróides, mas “apenas” distúrbios de reparo do DNA (22).

No grupo das laminopatias progeróides encontram-se *Hutchinson-Gilford progeria syndrome*, *Nestor-Guillermo progeria syndrome* (NGPS; OMIM #614008), Síndrome de Werner atípico (APSs; ORPHA 79474), *restrictive dermopathy* (RD; OMIM #275210) e *mandibuloacral dysplasia with type A lipodystrophy* (MADA; OMIM #248370) e *type B* (MADB; OMIM #608612) (26).

Laminopatias compreende um grupo heterogêneo de desordens que resultam de alterações na lâmina nuclear e incluem três classes principais de doenças: as distrofias musculares (que podem afetar o músculo esquelético e/ou cardíaco), as lipodistrofias e as síndromes progeróides (28,29). Mais de 15 entidades clínicas diferentes são definidas como laminopatias (28).

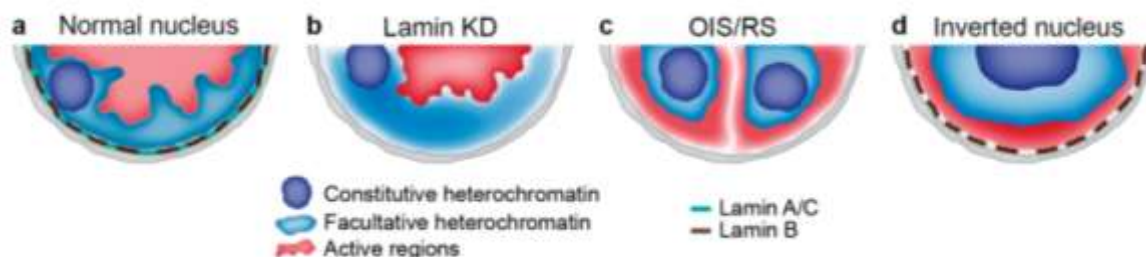
Lâmina nuclear é uma estrutura localizada em posição adjacente à membrana interna do núcleo celular, formada por uma rede de filamentos protéicos intermediários (lâminas), que formam uma ponte entre o envelope nuclear e a cromatina (28,30). Constitui uma malha tridimensional de três tipos de lâminas: A, B e C, que apesar de formarem redes separadas, interagem entre si (31,32). Dentre essas, as lâminas tipo A e C são os maiores constituintes, além das isoformas menores C2 e A delta (28,33). A lâmina nuclear desempenha importante função na célula, como prover estabilidade estrutural ao núcleo, organização da cromatina, replicação do DNA e transcrição/expressão gênica (30). Além disso, afeta a maioria dos processos genéticos que ocorrem na célula através da ligação da cromatina à periferia nuclear, através dos domínios de cromatina associados à lâmina (LADs) (32) (Figuras 6 e 7).

Figura 6 - Representação esquemática dos principais mecanismos de amarração da cromatina à lâmina nuclear



Fonte: Shevelyov & Ulianov (2019) (34)

Figura 7 - Representação esquemática de diferentes tipos de arquitetura cromossômica geradas após perda da lâmina nuclear/amarração da cromatina. (a) Arquitetura nuclear convencional na maioria dos tipos de células de mamíferos. (b) Arquitetura nuclear em células de *Drosophila* S2 sem lâminas do tipo A e B. (c) arquitetura nuclear em senescência induzida por oncogene ou senescência replicativa. (d) arquitetura nuclear invertida em fotorreceptores de bastonetes.



Fonte: Shevelyov e Ulianov (2019) (34)

As lâminas nucleares tipo A são codificadas pelo gene *LMNA*, localizado no cromossoma 1, e representam um produto de *splicing* alternativo (31). No processo de formação da lâmina A, inicialmente é formada a pré-lâmina A, precursora da lâmina A madura. Em uma fase seguinte a pré-lâmina A sofre uma modificação pós-translacional em lâmina A, etapa esta em que está envolvido o gene *ZMPSTE24 metalloproteinase*, responsável por este processo (28,31). Já a lâmina B é codificada pelo gene *LMNB1* (cromossoma 5), que codifica a lâmina B1, expressa em todas ou na maioria das células somáticas (35,36) e o gene *LMNB2* (cromossomo 19) que codifica a lâmina B2, também expressa em todas ou na maioria das células somáticas, e a lâmina B3, uma isoforma específica da célula germinativa por *splicing* alternativo de RNA (35).

As laminopatias progeróides podem apresentar, como parte do fenótipo, perda parcial ou generalizada da gordura subcutânea e anormalidades de pele, sendo que todas as formas mostram osteoporose generalizada e osteólise das clavículas, mandíbula e falanges, em graus diferentes entre as síndromes do grupo, e algumas com características sobrepostas. Dentre as doenças do grupo, HGPS e MADA estão ligadas a mutações no gene *LMNA*, enquanto MADB e dermatopatia restritiva associadas a mutações no gene *ZMPSTE24*. Em NGPS o gene mutado é o *BANF1*, um gene responsável pela patogênese desta condição, que apresenta um início precoce dos sinais e sintomas mas um curso clínico lento, o que conduz a uma sobrevivência relativamente longa (37).

HGPS é o tipo clássico de laminopatia progeróide. Enquanto tecidos ósseos, pele e tecido adiposo estão gravemente afetados em todas as formas de laminopatias progeróides, o sistema

cardiovascular está seletivamente envolvido na patologia da HGPS. Pronunciada acro-osteólise é um sintoma característico de MAD. MADB está associada a um fenótipo mais agressivo do que MADA.

Importante salientar que os efeitos patogênicos envolvidos nas laminopatias estão ligados não apenas à presença de lâminas mutadas, mas também aos seus níveis de expressão alterados e processamento defeituoso de proteínas. A possibilidade de que fatores sistêmicos desencadeados pelas lâminas mutadas, como aumento da expressão de citocinas em células portadoras de mutações observada em algumas dessas síndromes progeróides, possam causar ou piorar defeitos na cromatina, também tem sido considerada e merece uma investigação mais aprofundada (29).

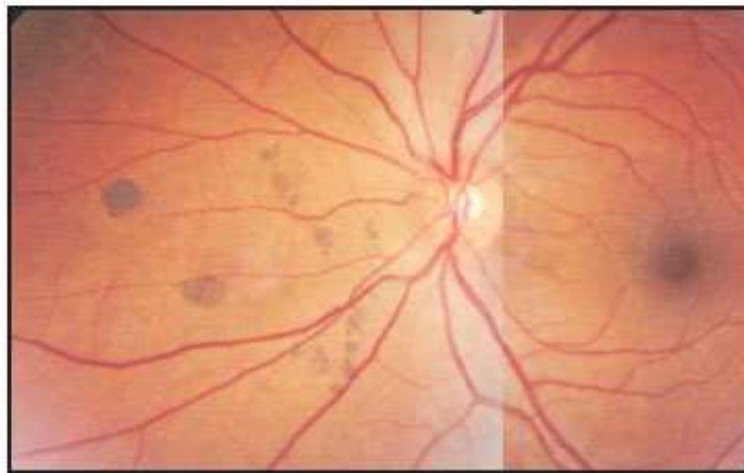
Várias drogas tem sido testadas em ensaios clínicos para tratamento de algumas dessas síndromes progeróides. Assim, temos em estudo medicamentos que interferem em vias de sinalização envolvidas na farnesilação de proteínas que compõem as lâminas nucleares (e em outras vias relacionadas a outras proteínas integrantes da membrana nuclear), drogas que sejam eficazes em restaurar o posicionamento cromossômico específico em direção à periferia nuclear e amarrar telômeros ao nucleoesqueleto, com conseqüente organização do genoma e da expressão gênica, medicamentos capazes de induzir o reparo de danos ao DNA, dentre outras linhas de tratamento em investigação (35,38). Importante ressaltar a relevância do diagnóstico síndrome específico em idade precoce, fase em que estes medicamentos podem ter algum efeito potencial em amenizar a intensidade e/ou evolução dos sintomas, ao melhorar o fenótipo celular (29).

3.3 Hipertrofia congênita do epitélio pigmentar da retina como marcador fenotípico da PAF

A hipertrofia congênita do epitélio pigmentar da retina (CHRPE) típica é uma lesão benigna não progressiva da retina (39), que se apresenta caracteristicamente como lesão única plana e redonda, com margens bem demarcadas (lisas ou recortadas) (40), ou como pigmentações agrupadas no fundo de olho lembrando uma pata ou pegada de animal, referidas como “*bear tracks*” (41,42) (Figura 8), podendo variar em cor de marrom claro ou cinza a preto, sendo unilateral em quase 100% dos casos (41). Foi descrita pela primeira vez com a terminologia CHRPE por Buettner em 1975, e pode ocorrer na população em geral com uma prevalência

entre 1,2 a 4,4%, sem valor preditivo de patologia grave (43,44). Estas lesões compreendem células altas do epitélio pigmentar da retina preenchidas com melanosomos hipertróficos e podem apresentar associadas áreas de defeito do epitélio da retina, chamadas de “lacunas”, estas últimas podendo representar um processo involucional (41).

Figura 8 - Hipertrofia congênita do epitélio pigmentar da retina (“bear tracks”)



Fonte: Pereira e Camarota (2011) (Ref. 45)

O gene adenomatous polyposis coli (*APC*) é o responsável pela diferenciação celular e melanogênese do epitélio pigmentar da retina (46). *APC* é um gene supressor de tumor localizado no cromossomo 5q21-22 (47). Possui uma região codificadora de 8535 pb (2843 códons) que inclui 18 exons, sendo 15 destes exons codificantes, associado a regiões promotoras não-codificantes (48). Mais de 3.000 diferentes mutações germinativas patogênicas são descritas nesse gene (49,50), a maioria das quais resulta na produção de uma proteína truncada (51). O gene *APC* provê instruções para a produção da proteína APC, de fundamental importância em vários processos celulares, evitando que a célula cresça ou divida muito rápido ou de forma incontrolada. Função adicional desta proteína é ajudar a garantir o número correto de cromossomas após a divisão celular (52). A proteína APC é multifuncional, com vários domínios e conhecida por interagir com várias outras proteínas, incluindo a β -catenina, γ -catenina, glicogênio sintase quinase-3 (Gsk3), axina, tubulina, EB1 (*end binding protein-1*) e hDLG (proteína codificada pelo gene homólogo humano de *Drosophila discs large*) (53). A associação da proteína APC com a β -catenina sinaliza para que a β -catenina seja quebrada quando esta não for mais necessária. Assim, a perda da função da proteína APC resulta em

aumento do nível de β -catenina no núcleo e consequentemente ativação de genes promotores de crescimento por meio dos complexos de transcrição β -catenina/Tcf-4 aumentados, levando à progressão do ciclo celular (51).

Mutações germinativas no gene *APC* são responsáveis por uma síndrome hereditária grave de predisposição ao câncer colorretal (CCR), a polipose adenomatosa familiar (OMIM #175100) (PAF). A PAF é caracterizada pelo desenvolvimento de centenas a milhares de pólipos adenomatosos no cólon e reto, já no início da adolescência (54), sendo o risco de um destes adenomas tornarem-se malignos ao longo da vida de praticamente 100%, se a colectomia não for realizada (48). O papel mais bem estabelecido do gene *APC* no processo do câncer é a capacidade da proteína APC de regular os níveis intracelulares de β -catenina, proteína que tem a função de controlar a expressão de genes específicos que desempenham papel importante na transformação neoplásica (55). Trata-se de uma condição autossômica dominante, de penetrância completa, com uma incidência de 1/8300 nascimentos (46). O diagnóstico precoce, mediante rastreamento de familiares de indivíduos com PAF, associado à vigilância rigorosa dos indivíduos identificados como em risco, com a realização de exames de endoscopia e colonoscopia periódicos iniciando aos 10-12 anos de idade, remoção de lesões polipóides suspeitas, e intervenção cirúrgica profilática com colectomia total no início da vida adulta, constituem a recomendação para evitar o desenvolvimento do CCR (55).

Outras variantes clínicas do fenótipo PAF também têm sido descritas, com base no número de pólipos colorretais e idade de início dos mesmos. Assim, o fenótipo PAF foi categorizado em PAF profuso ou agressivo, caracterizada pela presença de centenas a milhares de pólipos adenomatosos em todo o cólon e reto, com o CCR ocorrendo inevitavelmente em uma idade precoce; PAF intermediária, com a presença de centenas de pólipos que se desenvolvem por volta da segunda ou terceira década de vida e o câncer ocorrendo aproximadamente aos 40 anos; PAF atenuada, com um curso de doença leve, caracterizado por um número reduzido de pólipos (<100) e menor risco de CRC. Muitos estudos correlacionam a localização da mutação no gene *APC* com a quantidade de pólipos/manifestação clínica da doença. Neste contexto, PAF profusa ou agressiva foi relacionada a mutações nos códons 1250-1464 (principalmente o códon 1309, cujos pacientes tendem a desenvolver adenomas mais frequentemente e em idade ainda mais precoce que os demais do grupo), PAF intermediário a mutações localizadas no intervalo entre os códons 157-1595 (excluindo o códon 1309) e PAF atenuado foi associado a mutações que ocorrem fora do intervalo 157-1595 e na região de *splicing* alternativo do exon 9 (49).

Neste espectro de variantes clínicas, tem-se a polipose adenomatosa familiar atenuada (OMIM #175100) (PAFA), uma forma mais branda da doença caracterizada pela ocorrência de pólipos em menor quantidade (<100) e aparecimento do pólipo e câncer em uma idade maior (48). Associa-se a mutações no gene *APC* que ocorrem principalmente em três secções deste gene (nos primeiros 5 exons, no exon 9 e na extremidade distal 3' do gene *APC*) (56).

Síndromes anteriormente bem estabelecidas como a Síndrome de Gardner, que associa a PAF a tumores de partes moles, osteomas, adenomas do trato digestivo alto, carcinoma da tireoide e hepatoblastoma, e a Síndrome de Turcot, que descreve a associação de polipose com tumores do sistema nervoso central, hoje são reconhecidas e descritas como representando variações fenotípicas da PAF clássica (57).

Embora mutações no gene *APC* sejam responsáveis pela maioria dos casos de PAF (51), outras síndromes polipóides adenomatosas não associadas ao gene *APC* ocorrem e devem ser consideradas no diagnóstico diferencial. A maioria dos pacientes diagnosticados com uma forma menos agressiva de PAF e que são negativos para mutações no gene *APC*, apresentam mutação no gene *MUTYH*. A Polipose associada ao *MUTYH* (OMIM #608456) (MAP) é causada por mutação no gene de reparo por excisão de bases *MUTYH*, localizado no cromossoma 1, com padrão de herança recessiva. Os pacientes acometidos geralmente apresentam <100 pólipos colorretais e o diagnóstico costuma ocorrer em torno da quinta década de vida, porém com um alto risco de CCR. A MAP está também associada a neoplasias malignas do duodeno, ovário, bexiga e pele, sendo que alguns tipos de mutação se associam a risco de câncer gástrico, hepatobiliar, endometrial e de mama (48).

Outra doença associada é a Polipose associada à revisão de polimerase (PPAP; OMIM #615083 e 612591), uma doença de herança autossômica dominante, com predisposição ao CCR, associada a mutações nos genes *POLE* e *POLD1*, ambos sendo genes que codificam enzimas de reparo do DNA. O gene *POLE* codifica a subunidade de revisão (exonuclease) da DNA polimerase epsilon (*POLE*). As variantes de *POLE* e *POLD1* do gene estão envolvidas no aumento da taxa de mutação somática, aumentando o risco de desenvolvimento de tumores. Também ocorre a Polipose associada ao gene *NTHL1* (OMIM #616415) (NAP), doença com padrão de herança autossômica recessiva, associada a mutações no gene de reparo por excisão de base de DNA chamado *NTHL1*. Seu quadro clínico aponta para um maior espectro de diagnóstico de câncer nos pacientes acometidos (endométrio, duodeno, pele e outros) (48).

Manifestações extra-colônicas estão presentes em mais de 70% dos pacientes com PAF clássica. A maioria das alterações tem pouca significância clínica, porém algumas lesões ocorrem com potencial de complicações graves, podendo levar inclusive à morte (58). Pólipos podem ser encontrados também no trato digestivo alto, no intestino delgado, na tireoide, nas adrenais, no pâncreas e na hipófise (59). Os indivíduos podem ainda apresentar cistos de inclusão epidérmica, cistos sebáceos, lipomas, anormalidades dentárias, dedos hipocráticos, CHRPE, tumores desmóides, osteomas (20% dos pacientes com PAF) e tumores malignos da árvore biliar e papila duodenal, gástrico, ileal, tireoide, suprarrenal e sistema nervoso central (59,60).

Assim como ocorre nas manifestações colônicas da PAF, para as manifestações extra-colônicas também se observa uma associação entre a localização da mutação no gene *APC* e a expressão de algumas destas características (49). Assim, CHRPE está associado a mutações da linha germinativa entre os códonos 457 a 1444 (58). Mutações entre os códonos 767 e 1.578 se correlacionam com maior frequência a osteomas, e tumores desmóides com mutações entre os códonos 1.444 e 1.578 (60), ou além do códon 1.444, embora esta correlação genótipo/fenótipo para tumor desmóide nem sempre parece ser consistente (58). Mutações entre os códonos 140 e 1309 relacionam a tumores da tireoide (49,60).

Dentre todas as manifestações extra-colônicas, CHRPE é a manifestação mais frequente, podendo ser encontrada em até 90% da população com PAF, e a que aparece mais precocemente, estando presente em mais de 80% das crianças afetadas ao nascimento ou logo após (46). Uma conexão entre PAF e a presença de lesões tipo CHRPE foi observada pela primeira vez por McKittrick*(1935), mas a caracterização destas lesões como marcador fenotípico para esta condição somente foi realizada em 1980, por Blair e Trempe (40,41). Embora estes autores tenham descrito as lesões encontradas como CHRPE, o aspecto clínico, histológico e à angiografia com fluoresceína era bastante atípico, o que denotava tratar-se de uma entidade separada. Por esse motivo, Santos e Traboulsi** descreveram as lesões oculares pigmentadas na PAF como “lesões pigmentadas de fundo ocular da polipose adenomatosa

* McKittrick LS, Mallory TB, Talbott TH. Case records of the Massachusetts General Hospital. N Engl J Med. 1935;212: 263-66 apud (41)

** Santos A, Traboulsi EI. Congenital abnormalities of the retinal pigment epithelium, Chapter 15. In: The Retinal Pigment Epithelium: Function and Disease (eds M. F. Marmor and T. J. Wolfensberger), Oxford University Press, Oxford; 1998. p. 312-14 apud (41)

familiar” (41). Apesar desta nomenclatura ser mais adequada, tendo em vista os achados histopatológicos compatíveis com um “hamartoma do epitélio pigmentar da retina” e não hiperplasia, o termo CHRPE é o mais aceito e continua sendo utilizado para descrever as lesões da retina encontradas em pacientes com PAF (59). Independente da nomenclatura utilizada, as lesões tipo CHRPE que aparecem na PAF se apresentam clinicamente como manchas pigmentadas escuras (circundadas ou não por halo de despigmentação) ou pontos redondos pigmentados, podendo variar em sua apresentação clínica quanto à forma, número, lateralidade, tamanho e localização das lesões na retina (46).

Diagnóstico precoce e remoção profilática do cólon no início da vida adulta é o tratamento recomendado para reduzir o risco de CCR em pacientes com PAF. Isto posto, o reconhecimento de um marcador clínico não-invasivo e custo-efetivo que identifique precocemente indivíduos com PAF tem sido um alvo persistente (54). Importante salientar que 2/3 dos pacientes que apresentam sintomas por ocasião do diagnóstico da doença já apresentam malignidade desenvolvida. Como método diagnóstico, o rastreamento da retina para pesquisa de CHRPE possui custo relativamente baixo, é fácil de ser realizado e não é invasivo. Quando comparado à colonoscopia, método aceito como ferramenta de triagem na impossibilidade de realização do teste genético, o rastreamento da retina parece mais aceitável e menos estigmático, além de seguro, fácil de ser repetido e pode ser realizado em qualquer idade (44). Embora os exames genéticos constituem a principal via de detecção de tais indivíduos sob risco (54), restrições financeiras limitam a realização destes testes em larga escala na prática clínica da realidade brasileira.

Entretanto, a pesquisa de CHRPE como instrumento diagnóstico na população em geral apresenta limitações, principalmente ao se considerar que nem todos os pacientes com PAF apresentarão a alteração na retina, e assim a pesquisa negativa para CHRPE não isenta o indivíduo da realização de colonoscopia e/ou estudo genético futuro. Não obstante, achado ocasional desta alteração durante uma avaliação oftalmológica deve alertar o oftalmologista para a possibilidade da PAF e conduzir o mesmo a solicitar uma colonoscopia ou encaminhar o paciente para um gastroenterologista. Por outro lado, a pesquisa de CHRPE em familiares de indivíduos afetados representa uma ferramenta de triagem bastante atraente em famílias CHRPE “positivas”, em que a lesão foi identificada em pelo menos um membro da família afetado, na identificação de eventuais portadores do defeito genético. Ainda que como marcador isolado e definitivo tenha valor limitado, familiares identificados como “em risco” para PAF a

partir de exame oftalmológico alterado parecem ser melhor sensibilizados quanto à possibilidade de serem afetados pela doença, e assim são motivados a realizar *follow up* mais rigoroso, seguindo as recomendações preconizadas (44).

Outro significado importante da pesquisa deste marcador em pacientes com PAF é que a positividade quanto à presença de CHRPE auxilia na localização da mutação no gene *APC*, quando se objetiva uma investigação genética (54), considerando que a presença destas lesões se associa a mutações em determinados códons do gene *APC*, o que pode ainda reduzir o custo da investigação molecular.

4 METODOLOGIA

4.1 Delineamento do estudo

Foram conduzidos 4 estudos, com temas distintos, porém todos atinentes à avaliação de sinais clínicos como marcadores fenotípicos de síndromes genéticas específicas. Tratam-se de estudos descritivos, com revisão narrativa e análise crítica da literatura científica. Em um deles foi realizado o relato de caso de uma criança apresentando uma síndrome genética rara associada a uma mutação incomum. Em outra pesquisa, um estudo epidemiológico foi conduzido em uma família de indivíduos acometidos pela doença polipose adenomatosa familiar (PAF) buscando-se identificar (e caracterizar) a presença do sinal clínico hipertrofia congênita do epitélio pigmentar da retina (CHRPE) como marcador fenotípico da doença.

Uma extensa pesquisa na literatura científica foi realizada em busca de estudos que abordassem as doenças relacionadas aos fenótipos identificados como foco de trabalho. O compêndio de genes humanos e doenças genéticas *Online Mendelian Inheritance in Man* (OMIM) foi utilizado como principal fonte de dados para a identificação das síndromes genéticas associadas. Os principais descritores utilizados para a pesquisa foram “doença genética”, “síndromes hereditárias”, “manchas café-com-leite”, “relato de caso”, “displasia mandibuloacral”, “polipose adenomatosa familiar”, “hipertrofia congênita do epitélio pigmentar da retina”.

Síndromes associadas à presença de manchas café-com-leite (MCL) foram pesquisadas. As manifestações fenotípicas e genotípicas das síndromes identificadas foram obtidas e descritas, a partir de pesquisa expandida para outras bases de dados como PubMed (<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/>) e Biblioteca Virtual em Saúde (BVS) (www.bvsalud.org). Não foram estabelecidos limites quanto à data dos trabalhos publicados.

Em outro estudo, dentre as síndromes associadas a MCL identificadas, aquelas com manifestações craniofaciais concomitantes foram investigadas e suas manifestações fenotípicas e genotípicas relatadas, a partir de pesquisa ampliada nas bases de dados PubMed (<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/>) e Biblioteca Virtual em Saúde (BVS) (www.bvsalud.org).

Foi realizado o relato de caso de uma criança de 6 anos apresentando um fenótipo grave de uma síndrome progeróide. Realizada análise do DNA genômico isolado de células epiteliais da cavidade oral da criança, amplificadas por PCR com primers projetados para todos os exons e

regiões intrônicas flanqueadoras de *LMNA* e *ZMPSTE24* descritos na literatura, sequenciadas com um kit BigDye Terminator v3.1 Cycle Sequencing (Applied Biosystems, Foster City, CA, EUA). As sequências foram analisadas em um analisador genético 3500 (Applied Biosystems, Foster City, CA, EUA). A análise de material genético extraído da mucosa oral dos pais da paciente também foi realizada e confirmou a transmissão recessiva da mutação identificada.

Em um outro trabalho, um estudo epidemiológico foi realizado envolvendo pacientes portadores da doença genética PAF e seus familiares. De um probando identificado, uma família de cinco gerações composta por 95 membros, procedente da região Norte do estado de Minas Gerais, Brasil, foi objeto de estudo. Exame de colonoscopia foi disponibilizado, sendo que 11 indivíduos realizaram o referido exame durante a pesquisa. Um total de 45 indivíduos foi avaliado e investigado quanto à presença e padrão de apresentação de lesões CHRPE. A alocação da amostra foi aleatória, realizada pela própria família de acordo com a disponibilidade e desejo (ou não) de cada familiar em realizar a avaliação oftalmológica, sem nenhum critério limitante. Todos os pacientes foram submetidos a exame de fundoscopia incluindo lâmpada de fenda e oftalmoscopia indireta (lentes de 90 e 20 dioptrias, após dilatação da pupila com tropicamida 1%, realizado por um oftalmologista. Nos casos em que se identificou a presença de CHRPE, a retinografia foi realizada. No momento da avaliação oftalmológica, foi também realizada anamnese e exame físico geral dos pacientes por um médico clínico geral e exame da cavidade oral por um dentista, em busca de sinais de manifestação extra-colônica da PAF.

4.2 Coleta de dados e aspectos éticos

Todos os indivíduos autorizaram sua participação na pesquisa através do Termo de Consentimento livre e esclarecido (Apêndice A). Foram respeitadas todas as normas relativas à ética em pesquisa envolvendo seres humanos. Os estudos “Polipose Adenomatosa Familiar: avaliação fenotípica e genotípica em famílias brasileiras” (#2.896.759-2018) e “Mutação missense de *LMNA* causando um fenótipo grave de Displasia Mandibuloacral tipo A” (#4.753.298-2021) foram aprovados (Anexos A e B) pelo Comitê de Ética em Pesquisa Institucional (#97635318.6.0000.5146 e #46996421.6.0000.5146).

5 PRODUTOS TÉCNICO-CIENTÍFICOS GERADOS

5.1 Artigo científico 1: ***CAFE-AU-LAIT SPOTS AS A CLINICAL SIGN OF SYNDROMES.*** Publicado no periódico científico *Research, Society and Development*. Carvalho AA, Martelli DRB, Carvalho MFA, Swerts MSO, Martelli Júnior H. Cafe-au-lait spots as a clinical sign of syndromes. *Research, Society and Development*. 2021; 10(9): e14310917607. DOI: <http://dx.doi.org/10.33448/rsd-v10i9.17607>

5.2 Artigo científico 2: ***CRANIOFACIAL FINDINGS IN SYNDROMES ASSOCIATED WITH CAFE-AU-LAIT SPOTS: A LITERATURE REVIEW.*** Submetido ao periódico científico: Revista da Associação Médica Brasileira.

5.3 Artigo científico 3: ***A RARE LMNA MISSENSE MUTATION CAUSING A SEVERE PHENOTYPE OF MANDIBULOACRAL DYSPLASIA TYPE A – A CASE REPORT.*** Submetido ao periódico científico: *Clinical Pediatrics*.

5.4 Artigo científico 4: ***CONGENITAL HYPERTROPHY OF THE RETINAL PIGMENT EPITHELIUM AS A DIAGNOSTIC MARKER FOR FAMILIAL ADENOMATOUS POLYPOSIS.*** Formatado de acordo com o periódico científico: Arquivos Brasileiros de Oftalmologia.

5.1 PRODUTO 1

Research, Society and Development, v. 10, n. 9, e14310917607, 2021
(CC BY 4.0) | ISSN 2525-3409 | DOI: <http://dx.doi.org/10.33448/rsd-v10i9.17607>

Cafe-au-lait spots as a clinical sign of syndromes

Manchas café-com-leite como um sinal clínico de síndromes

Manchas café con leche como signo clínico de síndromes

Received: 06/27/2021 | Reviewed: 07/04/2021 | Accept: 07/12/2021 | Published: 07/23/2021

Adriana Amaral Carvalho

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-4733-6209>
State University of Montes Claros, Brazil
E-mail: adrianaamaral.carvalho@gmail.com

Daniella Reis Barbosa Martelli

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-3979-7497>
State University of Montes Claros, Brazil
E-mail: daniellereisbarbosa@yahoo.com.br

Maria Fernanda Amaral Carvalho

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-8789-2387>
Medical Science College-MG, Brazil
E-mail: mariamfmaral31@gmail.com

Mário Sérgio Oliveira Swerts

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-1867-7880>
University of Alfenas, Brazil
E-mail: mariosergio.swerts@unifemas.br

Hercilio Martelli Júnior

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-9691-2802>
State University of Montes Claros, Brazil
E-mail: hjunior2000@yahoo.com

Abstract

Several studies describe the frequent association of cafe-au-lait spots with neurofibromatosis. However, many other genetic diseases might be associated with the presence of café-au-lait spots. Several genetic diseases are rare. In most cases, syndromes present themselves as a set of signs and symptoms that may present varied penetrance, therefore largely reducing the percentage of final diagnosis. Exploration of clinical symptomatology is essential for the understanding and diagnosis of syndromes. In this review, we conduct an extensive literature search looking for research that investigated diseases that may be present simultaneously with the cafe-au-lait spots. A total of 60 genetic diseases were found, all of them rare. These syndromes were evaluated based on their most relevant features and described in a summary of the typical, general, and head and neck findings. The available OMIM number, mode of inheritance, chromosome, mutated genes, and affected proteins were also listed. The considerable variety of diseases associated with the presence of cafe-au-lait spots and the fact that many of these conditions affect various organ systems with diverse phenotypic presentations is a diagnostic and therapeutic challenge. The objective of this study was to provide health professionals with an instrument containing a broad spectrum of genetic diseases coincident with the presence of cafe-au-lait spots in order to facilitate the differential and final diagnosis of these syndromes.

Keywords: Cafe-au-lait spots; Hyperpigmentation; Neurofibromatosis; Inborn genetic diseases; Hereditary syndromes.

Resumo

Vários estudos descrevem a associação frequente de manchas café-com-leite com neurofibromatose. No entanto, muitas outras doenças genéticas podem estar associadas à presença de manchas café-com-leite. Várias doenças genéticas são raras. Na maioria dos casos, as síndromes se apresentam como um conjunto de sinais e sintomas que podem apresentar penetrância variada, reduzindo bastante o percentual de diagnóstico final. A exploração da sintomatologia clínica é essencial para a compreensão e diagnóstico das síndromes. Nesta revisão, realizamos uma extensa investigação bibliográfica em busca de pesquisas que avaliaram doenças que podem estar presentes simultaneamente com as manchas café-com-leite. Um total de 60 doenças genéticas foram encontradas, todas raras. Essas síndromes foram avaliadas com base em suas características mais relevantes e descritas em um sumário contendo os achados típicos, gerais e da cabeça e pescoço. O número OMIM disponível, modo de herança, cromossomo, genes mutados e proteínas afetadas também foram listados. A considerável variedade de doenças associadas à presença de manchas café-com-leite e o fato de que muitas dessas condições afetam vários sistemas orgânicos com diversas apresentações fenotípicas é um desafio diagnóstico e terapêutico. O objetivo deste estudo foi fornecer aos profissionais de saúde um instrumento contendo um amplo espectro de doenças genéticas associadas à presença de manchas café-com-leite, a fim de facilitar o diagnóstico diferencial e final dessas síndromes.

Palavras-chave: Manchas café-com-leite; Hiperpigmentação; Neurofibromatose; Doenças genéticas inatas; Síndromes hereditárias.

Resumen

Varios estudios describen la asociación frecuente de manchas café con leche con neurofibromatosis. Sin embargo, muchas otras enfermedades genéticas pueden estar asociadas con la presencia de manchas café con leche. Varias enfermedades genéticas son raras. En la mayoría de los casos, los síndromes se presentan como un conjunto de signos y síntomas que pueden presentar una penetrancia variada, reduciendo en gran medida el porcentaje de diagnóstico final. La exploración de la sintomatología clínica es fundamental para la comprensión y el diagnóstico de los síndromes. En esta revisión, realizamos una extensa investigación bibliográfica en busca de trabajos que evaluaran enfermedades que pueden estar presentes simultáneamente con manchas café con leche. Se encontraron un total de 60 enfermedades genéticas, todas raras. Estos síndromes se evaluaron en función de sus características más relevantes y se describieron en un resumen de los hallazgos típicos, generales y de cabeza y cuello. También se enumeraron el número OMIM disponible, el modo de herencia, el cromosoma, los genes mutados y las proteínas afectadas. La considerable variedad de enfermedades asociadas con la presencia de manchas café con leche y el hecho de que muchas de estas condiciones afectan a varios sistemas de órganos con diversas presentaciones fenotípicas es un desafío diagnóstico y terapéutico. El objetivo de este estudio fue proporcionar a los profesionales de la salud un instrumento que contenga un amplio espectro de enfermedades genéticas coincidentes con la presencia de manchas café con leche, para facilitar el diagnóstico diferencial y final de estos síndromes.

Palabras clave: Manchas de café con leche; Hiperpigmentación; Neurofibromatosis; Enfermedades genéticas inatas; Síndromes hereditarios.

1. Introduction

Cafe-au-lait spots (CALs) or cafe-au-lait macules (CALM) are characteristically well-defined lesions, with a homogeneous light brown or medium to dark brown spots in dark-skinned people, that might be found all over the body except for the scalp, palms and soles (Hamm, Emmerich & Olk, 2019). Morphologically, they have been described as oval-shaped and with smooth edges or irregular contours, ranging in size from 0.2 cm to 30 cm in diameter, being smaller in young children since they increase proportionally to the body surface (Fistarol & Itin, 2010; Shah, 2010; Hamm et al., 2019). Histologically, they present increased melanin content in both melanocytes and basal keratinocytes, with giant melanosomes also being observed (Shah, 2010). They should be distinguished from lentigo (small pigmented spots with clearly defined edges, varying in size from 2 to 20 mm, usually smaller than 1 cm, that might occur anywhere on the skin) and nevus (a congenital or acquired usually highly pigmented area on the skin, flat or raised), clinical entities that alone will not be analyzed in this study (Fistarol & Itin, 2010).

CALM may be present at birth or develop in the first years of life, which occurs in most cases (Hamm et al, 2019). Isolated CALM is a common finding (10-36% of healthy people) with no clinical significance when dissociated from other findings (Rivers et al., 1985; Hamm et al, 2019). However, the presence of multiple CALMs, large segmental CALM, other cutaneous anomalies, associated facial dysmorphism or unusual findings on physical examination, may suggest the possibility of an associated genetic disease and should be promptly investigated (Shah, 2010).

Several steps are involved in determining skin color, such as lineage specification from embryonic neural crest cells (melanoblasts), melanoblast migration to skin of the embryo; proliferation and survival of the melanocytes in the basal layer of the epidermis; biogenesis of the melanosomes in the melanocytes; production of melanin granules in the melanosomes; translocation of melanosomes from the perinuclear region to the peripheral region of the melanocytes; transfer of the melanosomes from the melanocytes to the keratinocytes; and translocation of the transferred melanin granules from the peripheral region to the supranuclear region of the keratinocytes (Cichorek, Wachulska, Stasiewicz & Tymińska, 2013; Oiso, Fukai, Kawada & Suzuki, 2013). In parallel, a complex melanogenic paracrine network between the mesenchymal and epithelial cells regulates the processes involved in determining skin color after birth (Picardo & Cardinali, 2011; Oiso et al., 2013).

Multiple genes encode component proteins or signaling pathway regulators that control these paracrine network and the melanogenic growth factors which play a crucial role in the control of physiological and pathological skin pigmentation (Picardo

& Cardinali, 2011). In this category are the *KITLG* gene, which encodes the Kit ligand (ligand for the receptor-type protein-tyrosine kinase KIT) and the proto-oncogene *c-KIT* encoding the receptor tyrosine-protein kinase KIT, which activate the Ras/mitogen-activated protein kinase (RAS/MAPK) signaling pathway (Picardo & Cardinali, 2011; Oiso et al., 2013; Zhang, Li & Yao, 2016). Kit signaling plays an important role in a variety of physiological processes that occur in many cell types in the body, such as hematopoietic stem cells, mast cells, melanocytes, and germ cells (Ronnstrand, 2004). The RAS family comprises genes expressed in several types of normal cells: *H-RAS*, *N-RAS*, and *K-RAS*, which plays an important role in intracellular signaling pathways and in the regulation of functions such as cell cycle control, differentiation, growth, and cell senescence (Boquett & Ferreira, 2010). A large group of diseases associated with CALM result from germline mutations in these associated genes.

This article provides a critical review of the literature on genetic syndromes associated with CALM. In addition, the genotypic and phenotypic alterations of the identified diseases are described.

2. Methodology

We conducted a bibliographical research from September 2020 to January 2021, looking for studies that investigated diseases that can present CALM as a clinical manifestation. The compendium of human genes and genetic diseases OMIM (Online Mendelian Inheritance in Man) was used as the main source of data for the identification of associated syndromes. The descriptors used for research were: “cafe-au-lait spots”, “hyperpigmentation”, “neurofibromatosis”, “inborn genetic diseases” and “hereditary syndromes”.

Through a critical analysis of the literature, this narrative review was designed to provide a comprehensive understanding of the syndromes associated with CALM, in order to contribute to health professionals, facilitating the differential and final diagnosis of these syndromes. These objectives are in alignment with the reported by Oates & Harris (2015) on the importance of this scientific methodology, either to inform practice and to provide a comprehensive understanding of what is known about a topic.

The genotypic and phenotypic manifestations, as well as the dysmorphic changes in the head and neck of the identified syndromes, were obtained from the OMIM and Orphanet (Online database of rare diseases and orphan drugs) databases, and the book Gorlin's Syndromes of the Head and Neck (Hennekam, Allanson, Krantz, & Gorlin, 2010). Then, the search was expanded to other databases, such as PubMed (<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/>) and Virtual Health Library (VHL) (www.bvsalud.org). No limits were established regarding the date of the published works.

3. Results

Several genetic syndromes can be associated with CALM, all of them rare in occurrence. In the research conducted at OMIM, a total of 60 associated genetic diseases were identified. These syndromes were classified into subsections based on their most relevant features and described in a summary of typical, general, and head and neck findings (Table 1). Among the 60 diseases identified, 40 of them had frequent and significant changes in pigmentation or skin formation. Multiple CALMs are part of the clinical manifestation of at least 29 of these syndromes. In most other syndromes, the presence of CALM was simply an occasional finding, with a total number of affected patients too small to establish any overall rate of involvement, or its presence is not relevant compared to other more evident clinical characteristics.

Table 1. Genetic syndromes reported with cafe-au-lait spots: features (classified according to the most relevant changes).

<i>Highlighted changes: skin</i>	<i>Others features</i>	<i>Ref.</i>
Neurofibromatosis type I	Typical: multiple CALMs; Lisch nodules, cutaneous/subcutaneous/plexiform neurofibromas, axillary and inguinal freckling. General: mental retardation (mild), hydrocephalus, learning disabilities, renal artery stenosis, hypertension, spina bifida, scoliosis, pseudoarthrosis, local bone overgrowth, hypothalamic tumor, neurofibrosarcoma, rhabdomyosarcoma, duodenal carcinoid, somatostatinoma, pheochromocytoma, astrocytoma, meningioma, parathyroid adenoma, malignant peripheral nerve and central nervous system tumors. H&N: macrocephaly, sphenoid dysplasia; hypertelorism, choroidal spots, optic glioma.	OMIM (162200)
Neurofibromatosis type II	Typical: multiple neoplasia syndrome: tumors in the eighth cranial nerve (90%), meningiomas, schwannomas. General: CALM (40%), neurofibroma; ataxia, peripheral neuropathy, glioma, ependymoma, astrocytoma, vestibular schwannoma. H&N: hearing loss; lenticular opacities, retinal hamartoma	OMIM (101000) Plana-Pla, 2017
<i>Highlighted changes: skin</i>	<i>Others features</i>	<i>Ref.</i>
Legius syndrome	Typical: multiple CALMs, variable dysmorphic features, lipomas, mild learning disabilities. General: freckling, deficit attention, pectus deformities, hypotonia. H&N: macrocephaly, triangular face, short neck, low-set ears, hypertelorism, downslanting palpebral fissures, epicanthal folds, ptosis, micrognathia, low-posterior hairline.	OMIM (611431)
Multiple cafe-au-lait spots	Typical: multiple CALMs without other neurofibromatosis changes. General: CALMs. H&N: no specific changes.	OMIM (114030) Madson, 2012
McCune-Albright syndrome	Typical: polyostotic fibrous dysplasia, CALM, precocious puberty. General: gastrointestinal polyps, pathologic fracture; hyperthyroidism, hyperparathyroidism, Cushing syndrome, hyperprolactinemia, acromegaly. H&N: craniofacial hyperostosis, facial asymmetry, deafness, blindness, pituitary adenoma.	OMIM (174800) Hamm, 2019
Gastrocutaneous syndrome	Typical: peptic ulcer, hiatal hernia and multiple lentiginos/CALMs. General: multiple lentiginos/CALMs. H&N: hypertelorism, myopia.	OMIM (137270) Hamm, 2019 Halal, 1982
Familial progressive hyperpigmentation	Typical: patches of hyperpigmentation in the skin. General: hyperpigmentation – present as diffuse hyperpigmentation, or as dots, streaks, patches, whorls; CALM. H&N: no specific changes.	OMIM (614233)
Familial progressive hyperpigmentation and hypopigmentation	Typical: diffuse hyperpigmentation and larger hypopigmented ash-leaf macules. General: progressive hyperpigmentation (trunk, limbs, palms, soles) and hypopigmentation, multiple CALMs, lentiginos, vitiligo (rare), hyperkeratosis. H&N: hyperpigmented patches (face, neck, oral mucosa).	OMIM (145250) Zeng, 2016 Amyers, 2011
Adams-Oliver syndrome 4	Typical: aplasia cutis and terminal transverse limb defects. General: cutis marmorata, CALM (rare), dysplastic/aplastic toenails; temporal/occipital infarct; heart defect; umbilical hernia; digital defects. H&N: cutis aplasia and bony defect (scalp).	OMIM (615297)
Piebald trait (piebaldism)	Typical: depigmented patches: skin and hair; CALM and freckling - not usual features. General: white forelock; absent pigmentation: forehead, eyebrows, chin, chest, abdomen, limbs; Hirschsprung disease, frequent epitheliomas. H&N: occasional deafness; heterochromia iridis	OMIM (172800) Hamm, 2019 Oiso, 2013 Chiu, 2013
Cowden syndrome 1	Typical: macrocephaly, acral keratoses, facial trichilemmomas, papillomatous papules, increased risk for carcinoma. General: CALM-penis, body; multiple skin tags; multiple hamartomas; vascular anomalies; pectus excavatum; vaginal/vulvar/ovarian cysts; gynecomastia; gastrointestinal polyps, colonic diverticulosis; seizure, Lhermitte-Duclos disease, mental retardation (12%); meningioma, neuromas. H&N: 'Birdlike' facies; hearing loss; cataract, angioid streak; microstomia, oral papillomas, scrotal tongue.	OMIM (158350) Hamm, 2019 Guimarães, 2002
Peutz-Jeghers syndrome	Typical: melanocytic macules: lips, buccal mucosa, digits; multiple gastrointestinal polyps; increased risk of neoplasms. General: hyperpigmented spots; CALM (unusual); bronchial polyps; biliary tract polyps; hamartomatous polyps (stomach to rectum); ovarian cysts; ureteral polyps, bladder polyps; clubbing of fingers; precocious puberty; gastrointestinal carcinoma, breast cancer, thyroid cancer, lung/pancreatic/uterine/ovarian cancers. H&N: nasal polyps.	OMIM (175200) Plataras, 2018
Carney complex	Typical: multiple neoplasia syndrome: cardiac, endocrine, cutaneous, neural myxomatous tumors; pigmented lesions of the skin and mucosae. General: lentiginos; blue nevi/other nevi, CALM; schwannoma; pigmented adrenal dysplasia, Cushing disease, acromegaly, thyroid hyperplasia; adrenocortical hyperplasia, Sertoli cell tumor, pituitary adenoma, mammary fibroadenoma, thyroid carcinoma, pheochromocytoma, atrial/ventricular myxoma. H&N: conjunctival pigmentation, eyelid myxoma, hirsutism, red hair.	OMIM (160980) Hamm, 2019

<i>Highlighted changes: skin and short stature</i>	<i>Others features</i>	<i>Ref.</i>
Leopard syndrome 1	Typical: multiple lentiginos, electrocardiographic abnormalities, hypertelorism, pulmonic stenosis, abnormal genitalia, short stature, sensorineural deafness. General: CALM (50%); mental retardations (mild); heart defects, thoracic deformities; small penis; hypoplastic ovarian; renal agenesis; spina bifida, delayed puberty. H&N: prognathism, triangular face, short neck; low-set ears; ptosis, epicanthal folds, strabismus, broad nose; cleft palate.	OMIM (151100) Sarkozy, 2008
Leopard syndrome 2	Typical: short stature, hypertrophic cardiomyopathy, craniofacial anomalies, lentiginos, CALM General: cardiac changes; delayed puberty. H&N: dolichocephaly, prominent chin, short neck; low-set ears; downslanting palpebral fissures, hypertelorism.	OMIM (611554)
Leopard syndrome 3	Typical: pigmented lesions, hyperkeratosis, short stature, craniofacial anomalies. General: lentiginos, CALM, multiple nevi; cognitive deficits (mild), heart and thoracic defects; delayed bone age. H&N: low-set ears, hearing loss; hypertelorism, depressed nasal bridge, short/webbed neck; curly hair.	OMIM (613707)
Neurofibromatosis-Noonan syndrome	Typical: combines features: neurofibromatosis and Noonan syndrome. General: CALM, freckling, neurofibromas; developmental delay; short stature; pulmonic stenosis; sternum defects; optic glioma. H&N: macrocephaly; face hypoplasia; low-set ears; hypertelorism, downslanting palpebral fissures, ptosis, epicanthal folds, Lisch nodules; short neck.	OMIM(601321) Nystron, 2009 Brema, 2007
Watson syndrome	Typical: pulmonary valvular stenosis, CALM, cognitive deficit, short stature. General: multiple CALMs, neurofibromas, freckling. H&N: relative macrocephaly, Lisch nodules.	OMIM(193520) Hamm, 2019 Allanson, 1991
<i>Highlighted changes: skin and short stature</i>	<i>Others features</i>	<i>Ref.</i>
Bloom syndrome	Typical: short stature, hypo/hyperpigmented skin, facial telangiectatic; predisposition to malignancy. General: CALM, hypertrichosis, photosensitivity, mild mental retardation, chronic lung disease, azoospermia; digital defects. H&N: dolichocephaly, microcephaly, narrow face, prominent ears and nose; absent upper lateral incisors; high-pitched voice.	OMIM (210900) Rosales-Solis, 2016 Arora, 2014
Russell-Silver syndrome, X-linked	Typical: pigmentary anomaly, X-linked – severe in males, mild in females. General: CALM, achromatic areas of trunk and limbs, prenatal growth retardation. H&N: triangular facies.	OMIM (312780)
Turner syndrome	Typical: retarded growth, gonadal dysgenesis, infertility. General: CALM (association with NF1); ovarian failure, bone anomalies; lymphedema; cardiac/renal anomalies; thyroid and gastrointestinal involvement. H&N: round face, micrognathia, webbed neck, low posterior hairline, deafness.	ORPHA (881) Hatipoglu, 2010
<i>Highlighted changes: skin, short stature, neurologic</i>	<i>Others features</i>	<i>Ref.</i>
Nijmegen breakage syndrome	Typical: microcephaly, short stature, immunodeficiency, predisposition to cancer (lymphoma, glioma, medulloblastoma, rhabdomyosarcoma). Premature death. General: CALM, progressive vitiligo, mental retardation, hyperactivity, neurodegeneration, anal stenosis/stress; primary ovarian failure. H&N: microcephaly, prominent midface, upward slanting of palpebral fissures; large dysplastic ears; choanal atresia, cleft lip/palate.	OMIM (251260)
Nijmegen breakage syndrome-Like disorder	Typical: severe prenatal growth retardation and persistent postnatal growth restriction, congenital microcephaly, borderline to mildly impaired intellectual development, normal sexual development and radioresistant DNA synthesis with no immunodeficiency, myelodysplasia, or early neurodegeneration. General: CALM, multiple pigmented nevi; short stature; developmental delay, spasticity, ataxia, Chiari malformation, brachydactyly, clinodactyly, sandal gap, widely spaced nipples, cutaneous vascular anomalies, Wolff-Parkinson-White anomaly. H&N: microcephaly, sloping forehead, micrognathia; hypertelorism; broad nasal bridge; hypoplastic nasal septum.	OMIM(613078)
Johnson neuroectodermal syndrome	Typical: anosmia and hypogonadotropic hypogonadism, conductive deafness, alopecia, other variable anomalies. General: hypohidrosis, multiple truncal CALM (rare); mental retardation; short stature; heart defect; hypogonadism; small penis. H&N: alopecia, microcephaly; protruding ear, microtia, external auditory canal atresia, absent eyebrows/eyelashes; choanal stenosis; cleft palate.	OMIM(147770) Hamm, 2019
Noonan Syndrome-like disorder with loose anagen hair ?	Typical: distinctive hair anomaly; heart defects; distinctive skin features; short stature. General: freckling, CALM, hypopigmentation, loose/thin skin; developmental delay, Chiari I, Dandy-Walker malformation; delayed bone age. H&N: macrocephaly, craniosynostosis; presuricular pits; low-set ears; hypertelorism, downslanting palpebral fissures, ptosis; arched palate; short neck; sparse hair.	OMIM (617506)
Noonan Syndrome-like disorder with or without juvenile myelomonocytic leukemia	Typical: facial dysmorphism, wide spectrum of cardiac disease, reduced growth, variable cognitive deficits, ectodermal and musculoskeletal anomalies. General: CALM, lymphedema; thin skin, hypotonia, delayed psychomotor development (mild); language delay; increased susceptibility to juvenile myelomonocytic leukemia; joint laxity, cubitus valgus; cryptorchidism; pectus excavatum, widely spaced nipples; congenital heart defects, aortic stenosis, mitral insufficiency.	OMIM (613563)

	H&N: thin hair; frontal bossing, triangular face, long philtrum; large ears, low-set ears, hypertelorism, ptosis, downslanting palpebral fissures; depressed nasal bridge, thick lips, short neck, webbed neck.	
Microcephalic osteodysplastic primordial dwarfism type II	Typical: severe short stature, microcephaly. General: CALM, hypopigmentation, mental retardation, multiple aneurysms; narrow chest, digital defects, delayed bone age; short bones; premature puberty. H&N: microcephaly, retrognathia, small ears, upward-slanting palpebral fissures, prominent nasal root, enamel hypoplasia, microdontia.	OMIM(210720) Nishimura, 2003 Young, 2004
Ataxia-telangiectasia	Typical: cerebellar cortical degeneration and ataxia, telangiectasias, immune defects, predisposition to cancer. Short stature. General: CALM, sclerodermatous changes; dysarthric, choreoathetosis, myoclonus, seizures; lymphoma, leukemia, immunodeficiency; hypogonadism. H&N: ocular telangiectasia, oculomotor abnormalities; progeric changes.	OMIM (208900)
Noonan syndrome 6	Typical: short stature, facial dysmorphism, heart defects. General: keratosis pilaris, hyperkeratosis, lentigines, CALM; developmental delay; cardiac defects; thorax deformity; juvenile myelomonocytic leukemia, polyhydramnios and single umbilical artery. H&N: macrocephaly, low-set ears, hearing loss; epicanthal folds, downslanting palpebral fissures, long eyebrows; broad nasal bridge; webbed neck; sparse hair.	OMIM (613224)
Noonan syndrome 13	Typical: developmental delay and impaired intellectual development, associated with behavioral problems. Reduced postnatal growth and craniofacial anomalies. General: multiple lentigines, CALM, hypochromic spots; hypotonia, seizures, attention-deficit/hyperactivity disorder, autism spectrum disorder, anxiety; cubitus valgus, pes planus; hypospadias, cryptorchidism; broad thorax, scapular winging, widely spaced nipples, heart defects prolapse, hypertrichosis; low posterior hairline. H&N: high/broad forehead, long philtrum; low-set ears, ptosis, hypertelorism, epicanthal folds; wide nasal bridge, everted lower lip, dental changes; short neck.	OMIM (619087)
<i>Highlighted changes: skin, short stature, neurologic</i>	<i>Other features</i>	<i>Ref.</i>
Johanson-Blizzard syndrome	Typical: short stature, mental retardation, variable dysmorphic features. General: CALM, scalp aplasia cutis, transverse palmar crease, hypotonia; heart defect; small nipples, absent areolae; liver failure; pancreatic insufficiency; imperforate anus, micropenis; delayed bone age, clinodactyly. H&N: microcephaly; hearing loss; strabismus, cutaneous-lacrimal fistulae; beaked nose; hypoplastic teeth, absent permanent; blonde/unruly hair.	OMIM (243800)
Roberts syndrome	Typical: tetraphocomelia, growth retardation, mental retardation, craniofacial/cardiac/renal anomalies. General: midfacial capillary hemangioma, CALM; encephalocele, hydrocephalus; heart defect, rudimentary gallbladder, enlarged penis or clitoris; polycystic kidney, digital defects, talipes equinovarus; nuchal cystic hygroma. H&N: microcephaly, brachycephaly, craniosynostosis; malformed ears, hypertelorism, bluish sclerae, widened nasal bridge, cataract, downslanting palpebral fissures, cleft lip/palate, short neck; silvery blonde sparse hair.	OMIM (268300)
Cardiofaciocutaneous syndrome 1	Typical: distinctive coarse facies, heart defects, mental retardation, Ectodermal abnormalities. Short stature. General: atopic dermatitis, ichthyosis, hyperkeratosis, cavernous hemangioma, multiple palmar creases, lentigines, CALM (9-31%); seizures, hypotonia/hypertonia, cortical atrophy, hypoplasia corpus callosum, peripheral axonal neuropathy; delayed bone age, clinodactyly. H&N: macro/dolichocephaly; micrognathia, low-set ears, hearing loss; ptosis, nystagmus, strabismus, downslanting palpebral fissures, hypertelorism, epicanthal folds, loss of visual acuity; absence eyebrows/eyelashes; cleft palate, crossbite, sparse hair.	OMIM (115150) Hamm, 2019 Zhang, 2016
Costello syndrome	Typical: characteristic coarse facies, short stature, distinctive hand posture and appearance, severe feeding difficulty. Significant cancer risk. General: cutis laxa, redundant skin, deep palmar/plantar creases, CALM (rare), papilloma, acanthosis nigricans, palmar nevi; mental retardation, cerebral atrophy, cerebellar tonsillar herniation; cardiac defect; small lung, renal failure; wide distal phalanges; nail changes. H&N: macrocephaly, micrognathia, low-set ears; hypertelorism, epicanthal folds, downslanting palpebral fissures, ptosis, strabismus, macroglossia; depressed nasal neck, sparse hair, hoarse voice.	OMIM(218040) Zhang, 2016
Mismatch repair cancer syndrome (MMRCS1, MMRCS2, MMRCS3, MMRCS4)	Typical: cancer predisposition syndrome with 4 main tumor types: hematologic malignancies, brain tumors, colorectal tumors, multiple intestinal polyps. General: CALM, freckling, neurofibromas, plexiform neurofibromas, agenesis of the corpus callosum, gray matter heterotopia, intracerebral cysts; colonic polyps; ependymoma, glioblastoma, oligodendroglioma, neuroblastoma, astrocytoma, medulloblastoma, basal cell carcinoma, colonic adenocarcinoma, leukemia, lymphoma. H&N: no specific changes.	OMIM (276300, 619096, 619097, 619101) Hamm, 2019
Tuberous sclerosis 1	Typical: hamartomas in multiple organ systems. General: white ash leaf-shaped macules, subcutaneous nodules, CALM, subungual fibromata; hamartomatous (brain), subependymal nodules, cortical tubers, attention- deficit hyperactivity disorder; seizures, mental retardation, intracranial calcification, autism, Wolf-Parkinson-White; kidney tumors, myocardial rhabdomyoma, renal carcinoma, ependymoma, astrocytoma, benign tumors; precocious puberty.	OMIM (191100)

	H&N: facial angiofibroma, retinal astrocytoma, optic gliomas, gingival fibroma.	
Tuberous sclerosis 2	Typical: hamartomas in multiple organ systems. More severe disease than type-1. General: white ash leaf-shaped macules, subcutaneous nodules, CALM, subungual fibromata; hamartomatous (brain), subependymal nodules, cortical tubers, seizures, mental retardation, intracranial calcification, attention-deficit hyperactivity disorder, autism; Wolf-Parkinson-White; kidney tumors; myocardial rhabdomyoma, renal carcinoma, ependymoma, astrocytoma, benign tumors; precocious puberty. H&N: facial angiofibroma, retinal astrocytoma, optic gliomas, gingival fibroma	OMIM (613254)
Neurofibromatosis, type III	Typical: bilateral acoustic neuromas, posterior fossa and upper cervical meningiomas, and spinal/paraspinal neurofibromas, but optic gliomas have not been seen. General: large CALM, freckling, palmar neurofibromas: spinal/paraspinal neurofibromas, cervical meningiomas. H&N: bilateral acoustic neuromas. No iris Lisch nodules	OMIM (162260)
Waardenburg syndrome type 2E	Typical: auditory-pigmentary syndrome characterized by pigmentary abnormalities, congenital hearing loss (100%), neurologic abnormalities. General: hypopigmented patches, CALM, freckles, premature graying; mental retardation, axial hypotonia, brain hypomyelination, ataxia. H&N: temporal bone abnormalities; hypopigmented iris/retina, bright blue eyes, nystagmus; white forelock/eyelashes/eyebrows; large incisors, irregular dentition.	OMIM (611584)
Chromosome 17q11.2 deletion syndrome	Typical: variable facial dysmorphism, mental retardation, excessive number neurofibromas, increased risk for malignant peripheral nerve tumors. General: CALM (93%), freckling, attention-deficit hyperactivity disorder; tall stature, heart defects; pectus excavatum, bone cysts, large hands/feet; hypotonia. H&N: macrocephaly, coarse facies, Lisch nodules (93%), hypertelorism, optic glioma.	OMIM (613675)
Mulchandani-Bhoj-Coelin syndrome	Typical: short stature, feeding difficulties General: CALM (infrequent), hypotonia, horseshoe kidney, digital defects. H&N: microcephaly, mild facial dysmorphism: epicanthal folds, dolichocephaly with retrognathia.	OMIM (617352) Mulchandani,2016
<i>Highlighted changes: skin, short stature, neurologic</i>	<i>Others features:</i>	<i>Ref.</i>
Silver-Russell syndrome 1	Typical: severe growth retardation, craniofacial features, body asymmetry, others minor malformations. General: CALM; developmental delay, cardiac defects, digital defects, craniopharyngioma, testicular seminoma, hepatocellular carcinoma, Wilms tumor. H&N: craniofacial disproportion, pseudo-hydrocephalic appearance; blue sclera.	OMIM (180860) Spiteri, 2017
Chromosome 15q26-qter deletion syndrome	Typical: deletion of chromosome 15q26-qter encompassing the insulin-like growth factor 1 receptor gene. Short stature is established hallmark. General: CALM; mental retardation; congenital cardiac anomalies; micropenis, hypospadias, cryptorchidism, digital defects H&N: microcephaly, low-set ears, blepharophimosis, strabismus; broad bridge nose	OMIM (612626) Veenma, 2010
Seckel syndrome 2	Typical: short stature, growth retardation, microcephaly, mental retardation, characteristic facial appearance. General: CALM, cerebellar hypoplasia, calcifications; ectopic kidneys, digital defects. H&N: microcephaly, short anterior cranial base, prominent nose, macroglossia; small teeth, high-pitched voice.	OMIM (606744) Veenma, 2010
Rubinstein-Taybi syndrome	Typical: mental retardation, postnatal growth deficiency, microcephaly, broad thumbs/halluces, dysmorphic facial features. General: single transverse palmar creases, CALM; seizures; heart defect; sternal anomalies; spina bifida, small iliac wings, digital defects, hirsutism. H&N: microcephaly, frontal bossing, low anterior hairline; low-set ears, hearing loss; arched eyebrows, long eyelashes, ptosis, epicanthal folds, strabismus, cataracts, downslanting palpebral fissures; beaked nose; dental crowding, talon cusps, screwdriver incisors, enamel hypoplasia.	OMIM (180849)
Kabuki syndrome 1	Typical: mental retardation syndrome with additional features postnatal dwarfism, peculiar facies, characteristic skeletal changes. Hearing loss. General: CALM, cutis aplasia; seizures, hypotonia, short stature, heart defect; anal defects; small penis, renal anomalies; vertebral/hip anomalies, digital defects; hypothyroidism, premature thelarche; hirsutism. H&N: microcephaly, large ears, preauricular pit; long palpebral fissures, eversion of eyelids, thick eyelashes, ptosis, blue sclerae, broad eyebrows; cleft.	OMIM (147920) Ghada, 2011
Microcephaly, growth restriction and increased sister chromatid exchange 2	Typical: growth restriction with short stature, microcephaly General: CALM, mild developmental delayed, dilated cardiomyopathy. H&N: microcephaly; dysmorphic facial features progeroid-like.	OMIM (618097)
<i>Highlighted changes: neurological</i>	<i>Others features:</i>	<i>Ref.</i>

OHDO syndrome, X-linked	Typical: distinct blepharophimosis-mental retardation syndrome. General: CALM, developmental delay, low weight, scrotal hypoplasia, clinodactyly. H&N: coarse facial features; deafness; ptosis; wide nasal bridge, large nose; microstomia, micrognathia.	OMIM (300895)
Autosomal recessive primary macrocephaly	Typical: macrocephaly, developmental delay, variable dysmorphic facies. General: CALM, behavioral problems; small cerebral cortex, simplified gyral pattern, partial absence of the corpus callosum, tonic clonic seizures. H&N: macrocephaly; conical-shaped and widely spaced teeth; hearing loss (some); prominent nose.	OMIM (604804) Pagnamenta, 2012
Smith-Kingmore syndrome	Typical: macrocephaly, seizures, umbilical hernia, facial dysmorphic features. General: CALM, intellectual disability, hypogenesis of the corpus callosum, polymicrogyria, heterotopic gray matter, autistic features, small thorax, diastasis recti, umbilical hernia; limb shortening, deep palmar/plantar creases, short phalanges, small toenails; hypotonia. H&N: macrocephaly, frontal bossing, midface hypoplasia, hypertelorism, downslanting palpebral fissures, strabismus; short nose, curly hair.	OMIM (616638)
Developmental delay, intellectual disability, obesity, and dysmorphism	Typical: developmental delay, intellectual disability, behavioral abnormalities, dysmorphic features, obesity. General: CALM; attention deficit-hyperactivity disorder; hands: tapering fingers, clinodactyly; feet: syndactyly, hypotonia. H&N: micrognathus, large ears; thick eyebrows, synophrys, hypertelorism, upslanting palpebral fissures, epicanthal folds, strabismus, nystagmus.	OMIM (617991) Jansen, 2018
Ring chromosome 14 syndrome	Typical: early-onset epilepsy, developmental delay with mental retardation, macrocephaly, dysmorphic facial features. General: Pigmentary abnormalities (in some), CALM; short stature (less frequently observed sign); hypotonia, seizures, intellectual disability, poor speech. H&N: microcephaly/dolichocephaly, low-set ears, downslanting palpebral fissures, epicanthal folds, hypertelorism, flat nasal bridge, anteverted nostrils. Short neck.	OMIM (616606) Rinaldi, 2017 Shah, 2010
Genetic susceptibility to neuroblastoma	Typical: genetic predisposition to neuroblastoma tumors. General: bluish skin nodules, CALM; paraneoplastic syndromes, opsoclonus, myoclonus, staxia, spinal cord compression, neuroblastoma, ganglioneuroma. H&N: Horner's syndrome.	OMIM (256700) Origone, 2003 Chaffin, 1967
<i>Highlighted changes: endocrine</i>	<i>Others features</i>	<i>Ref.</i>
Pheochromocytoma-islet cell tumor syndrome	Typical: : autosomal dominant endocrine adenomatosis. General: CALM, freckling; cerebral hemorrhage, tachycardia, congestive heart failure, hypertension, pheochromocytoma, islet cell tumor. H&N: hypertensive retinopathy.	OMIM (171420)
Pheochromocytoma	Typical: catecholamine-secreting tumors that usually arise within the adrenal medulla. General: sweating, CALM, hemangiomas, cerebral hemorrhage, renal artery stenosis, tachycardia, congestive heart failure, hypertension. H&N: hypertensive retinopathy, retinal angiomas, cataract.	OMIM (171300)
Adiposis dolorosa	Typical: generalized obesity. General: lipomas, CALM, chronic pain, fatigue, sleep disturbances, depression, anxiety, arthralgia, muscle aches. H&N: no specific changes.	OMIM (103200) Campen, 2001
Multiple endocrine neoplasia type I	Typical: tumors: parathyroid, pancreatic, duodenal endocrine cells, anterior pituitary adenomas. General: lipomas, collagenomas, CALM, hypopigmented macules; adenoma: parathyroid, adrenocortical, prolactinoma, gastrinoma, carcinoid tumors. H&N: facial angiofibromas, multiple gingival papules.	OMIM (131100)
Multiple endocrine neoplasia type IIB	Typical: hamartoneoplastic syndrome characterized by aggressive medullary thyroid carcinoma, pheochromocytoma, mucosal neuromas, thickened corneal nerves. General: CALM, ganglioneuroma, myopathy, developmental delay; failure to thrive; parathyroid hyperplasia; goiter, colonic diverticulum. H&N: coarse-appearing facies; pedunculated nodules (eyelid), eyelid/corneal neuromas; anteverted eyelid; large eyebrow; neuromas of lips/tongue.	OMIM (162300)
<i>Miscellaneous</i>	<i>Others features</i>	
Fanconi anemia (FANCA, FANCC, FANCD2, FANCI)	Typical: developmental abnormalities in major organ systems, early-onset bone marrow failure, high predisposition to cancer (leukemia). General: malformations: skeleton (small stature, radial aplasia, thumb deformity, vertebrae defects), skin (hyperpigmentation, CALM), urogenital, cardiopulmonary, gastrointestinal, central nervous systems. H&N: microcephaly; strabismus, microphthalmia; short neck; "Fanconi facies"; ear malformations.	ORPHA 84 OMIM(227650, 227645,227646, 609053)
Anemia, hypochromic microcytic, with iron overload 2	Typical: severe anemia requiring regular transfusions. Erythropoietic hyperplasia of bone marrow. General: CALM, growth retardation, dysfunction of hypothalamo-pituitary-gonadal axis; hematologic alterations. H&N: no specific changes.	OMIM (615234)

H&N: Head & Neck; *CALM(s):* café-au-lait macule(s); *OMIM:* Online Mendelian Inheritance in Man; *ORPHA:* rare disease nomenclature. Source: Authors.

Neurological disorders were observed in 32 types of diseases that present CALM, which may include a wide spectrum of changes, such as cognitive impairment, mental retardation, developmental delay, multiple aneurysms, cerebellar cortical degeneration, cerebellar ataxia, seizures, central nervous system malformations, brain tumors, hyperactivity, autistic spectrum disorders, peripheral nerve tumors, and other disturbances. Short stature was a characteristic observed in 28 of the identified genetic syndromes. Other relevant clinical findings observed in CALM-associated syndromes included predisposition to cancer (observed in 16 of 60 types of syndromes) and endocrine disturbances. Changes in the head and neck assessment were found in 52 syndromes linked to the presence of CALM.

The OMIM number, mode of inheritance, chromosome, mutated genes, and affected proteins for the 60 identified diseases that may exhibit CALM in their clinical presentation are listed in Table 2 (grouped according to mutated gene classification). The most common mode of inheritance for syndromes with CALM is autosomal dominant, occurring in 68.3% (41 of 60) of these genetic disorders. An autosomal recessive mode of inheritance was detected in 21.6% (13 of 60) of the syndromes, with the remainder being X-linked cases, isolated cases, or unestablished patterns of inheritance.

Table 2. Genetic syndromes reported with cafe-au-lait spots: genetics

<i>Syndrome</i>	<i>OMIM#</i>	<i>MOI</i>	<i>Chromosome</i>	<i>Gene</i>	<i>Protein</i>
RAS/MAPK signal transduction pathway					
Neurofibromatosis type I	#162200	AD	17q11.2	<i>NF1</i>	Neurofibromin
Legius syndrome	#611431	AD	15q14	<i>SPRED1</i>	Sprouty-related, EVH1 domain-containing protein 1
Leopard syndrome 1	#151100	AD	12q24.13	<i>PTPN11</i>	Tyrosine-protein phosphatase non-receptor type 11
Leopard syndrome 2	#611554	AD	3p25.2	<i>RAF1</i>	RAF proto-oncogene serine/threonine-protein kinase
Leopard syndrome 3	#613707	AD	7q34	<i>BRAF</i>	Serine/threonine-protein kinase B-raf
Neurofibromatosis-Noonan syndrome	#601321	AD	17q11.2	<i>NF1</i>	Neurofibromin
Watson syndrome	#193520	AD	17q11.2	<i>NF1</i>	Neurofibromin
Noonan syndrome-like disorder with loose anagen hair 2	#617506	AD	2p23.2	<i>PPP1CB</i>	Serine/threonine-protein phosphatase PP1-beta catalytic subunit
Noonan syndrome 6	#613224	AD	1p13.2	<i>NRAS</i>	GTPase NRas
Cardiofaciocutaneous syndrome 1	#115150	AD	7q34	<i>BRAF</i>	Serine/threonine-protein kinase B-raf
Costello syndrome	#218040	AD	11p15.5	<i>HRAS</i>	GTPase HRas
KIT receptor tyrosine kinase ligand signaling pathways					
Familial progressive hyperpigmentation	#614233	AD	19p13.1pter	<i>KITLG</i>	Kit ligand
Familial progressive hyperpigmentation and hypopigmentation	#145250	AD	12q21.32	<i>KITLG</i>	Kit ligand
Piebald trait (piebaldism)	#172800	AD	4q12	<i>KIT</i>	Mast/stem cell growth factor receptor Kit
		AD	8q11.21	<i>SNAI2</i>	Zinc finger protein SNAI2
Waardenburg syndrome type 2E	#611584	AD	22q13.1	<i>SOX10</i>	Transcription factor SOX-10
PHAKOMATOSES					
Neurofibromatosis type II	#101000	AD	22q12.2	<i>NF2</i>	Merlin
McCune-Albright syndrome	#174800	Sporadic	20q13.32	<i>GNAS</i>	Guanine nucleotide-binding protein G subunit alpha isoform
Cowden syndrome 1	#158350	AD	10q23.31	<i>PTEN</i>	Phosphatidylinositol 3,4,5-trisphosphate 3-phosphatase
Peutz-Jeghers syndrome	#175200	AD	19p13.3	<i>STK11</i>	Serine/threonine-protein kinase STK11

Ataxia-telangiectasia	#208900	AR	11q22.3	<i>ATM</i>	Serine-protein kinase ATM
Tuberous sclerosis 1	#191100	AD	9q34.13	<i>TSC1</i>	Hamartin
Tuberous sclerosis 2	#613254	AD	12q15 16p13.3	<i>IFNG</i> <i>TSC2</i>	IFN- γ Tuberin

MISCELLANEOUS

Adams-Oliver syndrome 4	#615297	AR	3p14.1	<i>EOGT</i>	EGF domain-specific O-linked N-acetylglucosamine transferase
Carney complex	#160980	AD	17q24.2	<i>PRKAR1A</i>	cAMP-dependent protein kinase type I-alpha regulatory subunit

<i>Syndrome</i>	<i>OMIM#</i>	<i>MOI</i>	<i>Chromosome</i>	<i>Gene</i>	<i>Protein</i>
-----------------	--------------	------------	-------------------	-------------	----------------

MISCELLANEOUS

Bloom syndrome	#210900	AR	15q26.1	<i>RECQL3</i>	Bloom syndrome protein
Nijmegen breakage syndrome	#251260	AR	8q21.3	<i>NBN</i>	Nibrin
Nijmegen breakage syndrome-Like disorder	#613078	AR	5q31.1	<i>RAD50</i>	DNA repair protein RAD50
Microcephalic osteodysplastic primordial dwarfism type II	#210720	AR	21q22.3	<i>PCNT</i>	Pericentrin
Johanson-Blizzard Syndrome	#243800	AR	15q15.2	<i>UBR1</i>	E3 ubiquitin-proteinligase UBR1
Noonan syndrome 13	#619087	AD	22q11.22	<i>MAPEK1</i>	Not reported
Noonan Syndrome-like disorder with or without juvenile myelomonocytic leukemia	#613563	AD	11q23.3	<i>CBL</i>	E3 ubiquitin-protein ligase CBL
Seckel syndrome 2	#606744	AR	18q11.2	<i>RBBP8</i>	DNA endonuclease RBBP8
Roberts syndrome	#268300	AR	8p21.1	<i>ESCO2</i>	N-acetyltransferase ESCO2
Mismatch repair cancer syndrome	#276300	AR	3p22.2 2p21-p16 2p16 7p22	<i>MLH1</i> <i>MSH2</i> <i>MSH6</i> <i>PMS2</i>	Protein Mlh1 Protein Msh2 Protein Msh6 Endonuclease PMS2

MISCELLANEOUS

Chromosome 15q26-qter deletion syndrome	#612626	IC	15q26-qter	<i>IGF1R</i>	Not reported
Chromosome 17q11.2 deletion syndrome	#613675	AD	17q11.2	Not reported	Not reported
Rubinstein-Taybi syndrome 1	#180849	AD	16p13.3	<i>CREBBP</i>	CREB-binding protein
Kabuki syndrome 1	#147920	AD	12q13.12	<i>KMT2D</i>	Histone-lysine N-methyltransferase 2D
Microcephaly, growth restriction, and increased sister chromatid exchange2	#618097	AR	17p11.2	<i>TOP3A</i>	DNA topoisomerase 3-alpha
Ohdo syndrome, X-linked	#300895	XLR	Xq13.1	<i>MED12</i>	Mediator of RNA polymerase II transcription subunit 12
Autosomal recessive primary microcephaly	#604804	AR	9q33.2	<i>CDK5RAP2</i>	CDK5 regulatory subunit-associated protein 2
Smith-Kingsmore syndrome	#616638	AD	1p36.22	<i>MTOR</i>	Serine/threonine-protein kinase mTOR
Developmental delay, intellectual disability, obesity, and dysmorphism	#617991	AD	6q14.1	<i>PHIP</i>	PH-interacting protein
Ring chromosome 14 syndrome	#616606	IC	Chr.14 14q23.3	<i>RC14R</i> <i>MAX</i>	Not reported Protein max
Genetic susceptibility to neuroblastoma	#256700	AD	1p36.22	<i>KIF1B</i>	Kinesin-like protein KIF1B
Multiple endocrine neoplasia type 1	#131100	AD	11q13.1	<i>MEN1</i>	Menin

<i>Syndrome</i>	<i>OMIM#</i>	<i>MOI</i>	<i>Chromosome</i>	<i>Gene</i>	<i>Protein</i>
Multiple endocrine neoplasia type 2B	#162300	AD	10q11.21	<i>RET</i>	Proto-oncogene tyrosine-protein kinase receptor Ret
MISCELLANEOUS					
Pheochromocytoma	#171300	AD	1p36.22 1p36.13 2q11.2 3p25.3 5p13.2 10q11.21 11q23.1 14q.23.3 11p15.5	<i>KIF1B</i> <i>SDHB</i> <i>TMEM127</i> <i>VHL</i> <i>GDNF</i> <i>RET</i> <i>SDHD</i> <i>MAX</i> <i>ICR1</i>	Kinesin-like protein KIF1B Succinate dehydrogenase iron-sulfur subunit, mitochondrial Transmembrane protein 127 Von Hippel-Lindau disease tumor suppressor Glial cell line-derived neurotrophic factor Proto-oncogene tyrosine-protein kinase receptor Ret Succinate dehydrogenase cytochrome b subunit mitochondrial Protein max Insulin-like growth factor II
Silver-Russell syndrome 1	#180860	AD			
Mulchandani-Bhoj-Conlin syndrome	#617352	AD	20q11-q13	Not reported	Not reported
Fanconi anemia (FA), complementation group A	#227650	AR	16q24.3	<i>FANCA</i>	FA group A protein
FA, group C	#227645	AR	9q22.32	<i>FANCC</i>	FA group C protein
FA, group I	#609053	AR	15q26.1	<i>FANCI</i>	FA group I protein
FA, group D2	#227646	AR	3p25.3	<i>FANCD2</i>	FA group D2 protein
Anemia, hypochromic microcytic, with iron overload 2	#615234	AD	2q14.2	<i>STEAP3</i>	Metalloreductase STEAP3
UNKNOWN GENES					
Multiple cafe-au-lait spots	#114030	AD	Unknown	Unknown	Unknown
Gastrocutaneous syndrome	#137270	AD	Unknown	Unknown	Unknown
Neurofibromatosis type III	#162260	AD	Unknown	Unknown	Unknown
Russell-Silver syndrome, X-linked	#312780	X-linked	Chromosome X	Unknown	Unknown
Turner syndrome	ORPHA 881	X-linked	Chromosome X	Unknown	Unknown
Johnson neuroectodermal syndrome	#147770	AD	Unknown	Unknown	Unknown
Pheochromocytoma-islet cell tumor syndrome	#171420	AD	Unknown	Unknown	Unknown
Adiposis dolorosa	#103200	AD/sporadically	Unknown	Unknown	Unknown

Source: Authors.

4. Discussion

Genetic disorders account for approximately 80% of all rare diseases (Giugliani et al., 2019). All syndromes associated with the presence of CALM listed here are rare. There is no single definition for rare diseases. Within health systems, rare diseases have been defined based on the criteria of prevalence or number of affected individuals. According to the European Union, rare diseases are defined as those that affect less than 1 in 2,000 people (Giugliani et al., 2019). For the World Health Organization, a rare disease is one that affects up to 65 people in 100,000 individuals or 1.3 people in every 2,000 individuals. In the United States, legislation defines rare diseases strictly according to prevalence, specifically as "any disease or condition that affects fewer than 200,000 people in the United States". Brazil follows the same definition of rare diseases adopted by the World Health Organization (Alawi, 2019; Martelli, 2019).

Among all identified syndromes, neurofibromatosis type 1 is the most common, with a worldwide incidence ranging from 1 in 2,500 to 1 in 3,000 individuals (OMIM). It is the disease in which the association with CALM is well-recognized and considered a diagnostic hallmark (Shah, 2010; Zhang et al., 2016). However, in the presence of early-onset and multiple CALMs, several other genetic syndromes should be excluded (but not limited to), such as neurofibromatosis type II (Ferner, 2007; Evans, 2009; Madson, 2012; Plana-Pla, Bielsa-Marsol & Carrato-Monino, 2017; Hamm et al., 2019), neurofibromatosis type III (Madson, 2012), Legius syndrome (neurofibromatosis type 1-like syndrome) (Madson, 2012; Zhang et al., 2016),

multiple cafe-au-lait spots (Orphanet; Madson, 2012), McCune-Albright syndrome (Shah, 2010; Madson, 2012; Hamm et al., 2019), Noonan syndrome (Madson, 2012), Leopard syndrome (Madson, 2012; Zhang et al., 2016; Hamm et al., 2019), gastrocutaneous syndrome (Hamm et al., 2019), familial progressive hyperpigmentation and hypopigmentation (Amyere et al., 2011), familial progressive hyperpigmentation (Zhang et al., 2016), mismatch repair cancer syndrome (Shah, 2010; Baas et al., 2013; Hamm et al., 2019), Watson syndrome (Madson, 2012; Hamm et al., 2019) and cardiofaciocutaneous syndrome 1 (Hamm et al., 2019).

Most of these diseases that present multiple CALMs are part of the developmental diseases known as RASopathies. These diseases, which are associated with germline genetic modifications, comprise a group of clinically and genetically related diseases that present mutations and deletions associated with protein-coding genes that lead to activation and/or dysregulation of the Ras/mitogen-activated protein kinase (RAS/MAPK) pathway (Tajan, Paccoud, Branks, Edouard, & Yart, 2018). Neurofibromatosis type I is caused by loss-of-function mutations of the *NF1* gene that encodes neurofibromin (Picardo & Cardinali, 2011); Legius syndrome results from inactivating mutations in the *SPRED1* gene (Zhang et al., 2016; Tajan et al., 2018); Noonan syndrome caused by mutations in *PTPN11*, *SOS1*, *RAF1*, *KRAS*, *NRAS*, *BRAF*, *RIT1*, and *RRAS* genes (Zhang et al., 2016; Cao, Alrejaye, Klein, Goodwin & Oberol, 2017; Tajan et al., 2018); Leopard syndrome, due to mutations in *PTPN11*, *RAF1*, and *BRAF* genes (Hamm et al., 2019); Costello syndrome due to activating mutations in the *HRAS* gene (Aoki, Niihori, Inoue & Matsubara, 2016; Zhang et al., 2016); cardiofaciocutaneous syndrome resulting from gain-of-function mutations in the *BRAF*, *KRAS*, and *MAP2K1* or *MAP2K2* genes (Digilo et al., 2011; Aoki et al., 2016; Zhang et al., 2016); and Noonan-like syndrome with loose anagen hair after mutations in the *SHOC2* or *PPP1CB* (Tajan et al., 2018). New gene research tools have led to a better understanding of the complexity of RAS signaling and consequently to an expansion of the pathogenic etiology of RASopathies. In this context, the genes identified that represent novel genes causative for RASopathy include the *RIT1*, *SOS2*, *RASA2*, *RRAS*, and *SYNGAP1* genes (Tidyman & Rauen, 2016). The RAS/MAPK pathway has been shown to be the predominant biochemical hallmark of the RASopathies. However, aberrant Ras signaling due to other effector pathways also appears to play an important role (Tidyman & Rauen, 2016).

Piebaldism, Waardenburg syndrome and peripheral demyelinating neuropathy-central dysmyelinating- Waardenburg syndrome-Hirschsprung disease (PCWH) are genetic disorders secondary to aberrant melanoblast migration during embryogenesis (Oiso et al., 2013). The binding of the KIT ligand (KITLG) to its KIT tyrosine kinase receptor, that triggers the Ras/mitogen-activated protein kinase signaling pathway, regulates melanocyte migration, differentiation and survival, as well as cell proliferation, melanogenesis and melanosome transfer (Oiso et al., 2013). Among these reported diseases, piebaldism (Zhang et al., 2016) and Waardenburg syndrome type 2E may present CALM as a clinical manifestation. Other disorders related to the KITLG / KIT signaling pathway that may also have CALM are familial progressive hyperpigmentation and hypopigmentation (FPHH) and familial progressive hyperpigmentation (FPH) (Oiso et al., 2013; Zhang et al., 2016).

Defects at any stage of neural crest cell development, such as migration, proliferation, cell-to-cell interaction, differentiation or growth, are associated with the pathophysiology of neurocutaneous syndrome or phakomatoses (Sarnat & Flores-Sarnat, 2005; Gursoy & Erçal, 2018). This group includes pathologies with different genetic mechanisms (Sarnat & Flores-Sarnat, 2005; Klar, Cohen & Lin, 2016). So we have neurofibromatosis type I that exhibits mutations in the *NF1* gene, which encodes neurofibrin, a negative regulator of RAS signaling that is also expressed in migrating neural crest cells during early fetal development; neurofibromatosis type II, where mutations occur in the *NF2* gene that encodes a 595 amino acid protein, named Merlin, a negative Schwann cell regulator whose impairment allows Schwann cells to proliferate excessively; tuberous sclerosis complex, where mutations in the *TSC1* and *TSC2* genes are responsible for the pathogenesis of the disease, leading to overactivation of the mTOR pathway, which plays an essential role in normal cell growth, proliferation, and survival (Gursoy & Erçal, 2018). They usually involve inherited conditions, but spontaneous mutations can occur. As a common feature in the group,

all diseases represent neurocristopathies and therefore share a common ectodermal embryologic origin, include abnormalities in the tissues of ectodermal origin, especially skin, eyes, and central nervous system (Reith, 2013). However, it is significant to emphasize that the neural crest is also important as an inducer of many tissues in craniofacial development and other mesodermal structures (Sarnat & Flores-Sarnat, 2005). Neurofibromatosis type I, neurofibromatosis type II, tuberous sclerosis, ataxia-telangiectasia, Peutz-Jeghers syndrome, McCune-Albright syndrome and Cowden syndrome 1 are diseases belonging to this group that have CALM as a phenotypic manifestation.

In addition to these classifications, localized or general melanotic hyperpigmentation may be part of the clinical presentation of many other congenital systemic disorders that result from ubiquitous protein defects and/or basal cell processes (Baxter & Pavan, 2013). This suggests that melanocytes are a cell type with high sensitivity to such disorders. A representative example is Fanconi anemia, a genetically heterogeneous disorder that affects DNA repair, characterized by different phenotypes that affect all organ systems (Baxter & Pavan, 2013).

Among all characteristics of these hereditary syndromes associated with CALM, predisposition to tumors is one of the most important, considering the high levels of cancers associated with these syndromes, with many of these cancers presenting in childhood (Walsh et al., 2017). The incidence of specific types of cancer in the carriers of the germline mutations is dramatically high compared to the general population, considering that the rate of a simple somatic allelic loss is exponentially greater than the independent mutation of two alleles within the same cell (Elissen, 2016). Malignant tumors are the most common cause of death in individuals with some of these familial tumor syndromes (Brems, Beert, Ravel & Legius, 2009).

The trend to develop tumors, which was observed in 16 of the 60 syndromes listed in this study, suggests a common underlying genetic basis. In this line, in neurofibromatosis type 1, the *NF1* acts as a tumor suppressor gene (Origone et al., 2003). In this condition, a germline pathogenic variant and a somatic mutation lead to homozygous inactivation of the *NF1* gene, resulting in a partial or total interruption of neurofibromin activity causing increased intracellular RAS signaling and abnormal cell proliferation (Origone et al., 2003). Different mechanisms are involved in the somatic inactivation observed in these hereditary syndromes, such as intragenic mutations (eg. nonsense, missense, frameshift, splice-site mutations, small insertions, and deletions), loss of heterozygosity, and hypermethylation of the promotor (Brems et al., 2009).

Another example is the genetically proven constitutional mismatch repair deficiency syndrome (CMMRD), a disease with multiple CALMs and other features of NF1 that are also part of the clinical findings. It is speculated that the remaining NF1 signals in patients with CMMRD result from post-zygotic mutations of the *NF1* gene that may occur more frequently than normal in the population due to an accelerated rate of *NF1* mutation in cells without a functional MMR system. However, it is also possible that CALM and other NF1 resources in these patients represent "isolated" skin manifestations (Maertens et al., 2007; Wimmer et al., 2017). Ataxia telangiectasia, Bloom syndrome, Nijmegen rupture syndrome and Fanconi anemia are among the most common DNA repair diseases and may present with CALM (Walsh et al., 2017). Pathogenic germline mutations in genes encoding proteins key in DNA repair and telomere biology result in the characteristic physical findings observed in patients with these hereditary disorders and in a high risk of cancer associated with these syndromes (Walsh et al., 2017).

5. Conclusion

The presence of CALM during a clinical evaluation of a patient should always be critically assessed by the healthcare professional, who must be aware of the possibility of an associated genetic syndrome. A detailed clinical evaluation should be performed by the physician to identify signs and symptoms that indicate the presence of any systemic disease.

If a genetic syndrome is suspected, given the genetic complexity and phenotypic heterogeneity of diseases that present CALM, the large number of overlapping features in similar diseases, and the incurable nature of these conditions, advanced testing is needed to distinguish between these syndromes, to provide genetic counseling to families, establish the prognosis and available therapeutic measures, monitor the potential risk to prevent complications.

It is important to note that, although the vast majority of genetic syndromes meet the criteria for a rare disease, it is estimated that there are between 6,000 and 8,000 different types of rare diseases described, with consequently millions of people affected by these diseases worldwide. The specific diagnosis of the genetic syndrome that affects a given patient has a great impact on their life, both in terms of clinical guidance and early treatment, and in the emotional sense, as it provides some comfort by obtaining an explanation for their symptoms, in addition to the possibility of obtaining support from groups of people affected by the same disease. Thus, research that systematizes knowledge on a given topic and organizes clinical signs and symptoms into a coherent system, as done in this study, can provide valuable tools in the process of building clinical reasoning and can add value to clinical practice, contributing to improved clinical outcomes.

References

- Alawi, F. (2019). Using rare diseases as teaching models to increase awareness. *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology and Oral Radiology*, 128(2), 99-100. DOI: 10.1016/j.oooo.2019.04.015
- Allanson, J. E., Upadhyaya, M., Watson, G. H., Partington, M., MacKenzie, A., Lahey, D., ... Harper, P., S. (1991). Watson syndrome: is it a subtype of type 1 neurofibromatosis? *Journal of Medical Genetics*, 28, 752-756. DOI: 10.1136/jmg.28.11.752
- Amyere, M., Vogt, T., Hoo, J., Brandrup, F., Bygun, A., Boon, L., ... Vakkula, M. (2011). KITLG mutations cause familial progressive hyper- and hypopigmentation. *Journal of Investigative Dermatology*, 131(6), 1234-1239. DOI: 10.1038/ijd.2011.29
- Aoki, Y., Nishori, T., Inoue, S., & Matsubara, Y. (2016). Recent advances in RASopathies. *Journal of Human Genetics*, 61(1), 33-39. DOI: 10.1038/jhg.2015.114
- Arora, H., Chacon, A. H., Choudhary, S., McLeod, M. P., Meshkov, L., Nouri, K., ... Izakovic, J. (2014). Bloom syndrome. *International Journal of Dermatology*, 53(7), 798-802. DOI: 10.1111/ijd.12408
- Baas, A. F., Gabbett, M., Rimac, M., Kansikas, M., Raphael, M., Nievelstein, R. A., ... Wimmer, K. (2013). Agenesis of the corpus callosum and gray matter heterotopia in three patients with constitutional mismatch repair deficiency syndrome. *European Journal of Human Genetics*, 21(1), 55-61. DOI: 10.1038/ejhg.2012.117
- Baxter, L. L., & Pavan, W. J. (2013). The etiology and molecular genetics of human pigmentation disorders. *Wiley Interdisciplinary Reviews: Developmental Biology*, 2(3), 379-392. DOI: 10.1002/wdev.72
- Boquet, J. A., & Ferreira, R. J. (2010). Aspectos biológicos e atividade tumorigênica da família proto-oncogênica Ras. *Seminário: Ciências Biológicas e da Saúde*, 31(2), 201-211. DOI: 10.5433/1679-0359.2011v32n2p201
- Brems, H., Beert, E., Ravel, T., & Legius, E. (2009). Mechanisms in the pathogenesis of malignant tumors in neurofibromatosis type 1. *The Lancet Oncology*, 10(5), 508-515. DOI: 10.1016/S1470-2045(09)70033-6
- Brems, H., Chmara, M., Sahbatou, M., Denayer, E., Taniguchi, K., Kato, R., ... Legius, E. (2007). Germline loss-of-function mutations in SPRED1 cause a neurofibromatosis 1-like phenotype. *Nature Genetics*, 39(9), 1120-1126. DOI: 10.1038/ng2113
- Campen, R., Mankin, H., Louis, D. N., Hirano, M., & MacCollin, M. (2001). Familial occurrence of adiposa dolorosa. *Journal of the American Academy of Dermatology*, 44(1), 132-136. DOI: 10.1067/mjd.2001.110872
- Cao, H., Alrejaye, N., Klein, O. D., Goodwin, A. F., & Oberoi, S. (2017). A review of craniofacial and dental findings of the RASopathies. *Orthodontics & Craniofacial Research*, 20(1), 32-38. DOI: 10.1111/ocr.12144
- Chatten, J., & Voorhees, M. L. (1967). Familial neuroblastoma. Report of a kindred with multiple disorders, including neuroblastomas in four siblings. *The New England Journal of Medicine*, 277(23), 1230-1236. DOI: 10.1056/NEJM196712072772304
- Chau, Y. E., Dugan, S., Basel, D., & Siegel, D. H. (2013). Association of Piebaldism, multiple café-au-lait macules, and intertriginous freckling: clinical evidence of a common pathway between KIT and sprout-related, ena/vasodilator-stimulated phosphoprotein homology-1 domain containing protein 1 (SPRED1). *Pediatric Dermatology*, 30(3), 379-382. DOI: 10.1111/j.1525-1470.2012.01858.x
- Cichorek, M., Wachalska, M., Stasiewicz, A., & Tyminska, A. (2013). Skin melanocytes: biology and development. *Postępy Dermatologii Alergologii*, 30(1), 30-41. DOI: 10.5114/pdia.2013.33376
- Digilio, M. C., Lepri, F., Baban, A., Dentici, M. L., Versacci, P., Capolmo, R., ... Dallapiccola, B. (2011). RASopathies: Clinical Diagnosis in the First Year of Life. *Molecular Syndromology* 1(6), 282-289. DOI: 10.1159/000331266

- Elissen, W. L. (2016) *Genética molecular do câncer*. Latest revision: 2016 [Accessed: March 01, 2021]. Available at: <https://www.medicinanet.com.br/conteudos/acp-medicine>
- Evans, D. G. (2009) Neurofibromatosis type 2 (NF2): A clinical and molecular review. *Orphanet Journal of Rare Diseases*, 4, 16. DOI: 10.1186/1750-1172-4-16
- Ferner, R. E. (2007) Neurofibromatosis 1 and neurofibromatosis 2: A twenty first century perspective. *The Lancet Neurology*, 6(4), 340-351. DOI: 10.1016/S1474-4422(07)70075-3
- Fistaro, S. K., & Iru, P. H. (2010) Disorders of pigmentation. *Journal der Deutschen Dermatologischen Gesellschaft*, 8(3), 187-201. DOI: 10.1111/j.1610-0387.2009.07137.x
- Ghada, M. H., Abdel-Salam, M. D., Hana, H., Afifi, M. D., Maha, M., Eid, M. D., ... Kholoussi, N. (2011) Ectodermal Abnormalities in Patients with Kabuki Syndrome. *Pediatric Dermatology*, 28(5), 507-511. DOI: 10.1111/j.1525-1470.2011.01495.x
- Gugliani, L., Vanzella, C., Zambrano, M. B., Donis, K. C., Wallau, T. K. W., & Costa, F. M. (2019) Clinical research challenges in rare genetic diseases in Brazil – Review Article. *Genetics and Molecular Biology*, 42(1), 305-311. DOI: <http://dx.doi.org/10.1590/1678-4685-GMB-2018-0174>
- Guimarães, P. B., Branco, A. A., Carvalho, E., Lima, F. E., Almeida, J. R., Santos, J. B., ... De Perreli, T. (2002) Síndrome de Cowden: relato de um caso. *Anais Brasileiro de Dermatologia*, 77(6), 711-720. DOI: 10.1590/S0365-05962002000600009
- Gursoy, S., & Erçal, D. (2018) Genetic Evaluation of Common Neurocutaneous Syndromes. *Pediatric Neurology*, 89, 3-10. DOI: 10.1016/j.pediatrneurol.2018.08.006
- Halal, F., Genrak, M. H., Baillargeon, J., & Lesage, R. (1982) Gastro-Cutaneous Syndrome: Peptic Ulcer/Hiatal Hernia, Multiple Lentiginos/Café-au-lait Spots, Hypertelorism, and Myopia. *American Journal of Medical Genetics*, 11, 161-176. DOI: 10.1007/s00105-019-4416-6
- Hamm, H., Emmerich, K., & Olk, J. (2019) Pigmentierte Flecken als mögliche Frühzeichen genetischer Syndrome. *Der Hautarzt*, 70, 506-513. DOI: 10.1007/s00105-019-4416-6
- Hatipoglu, N., Kurtoglu, S., Kendirci, M., Keskin, M., & Per, H. (2010) Neurofibromatosis Type 1 with Overlap Turner Syndrome and Klinefelter Syndrome. *Journal of Tropical Pediatrics*, 56(1), 69-72. DOI: 10.1093/tropej/fmp053
- Hennekam, R. C. M., Allanson, J. E., Krantz, I. D., & Gorlin, R. J. (2010) *Gorlin's syndromes of the head and neck* (5th ed). New York, NY: Oxford.
- Jansen, S., Hoischen, A., Coe, B. P., Carvill, G. L., Van Esch, H., Bosch, D., ... Vries, B. B. A. (2018) A genotype-first approach identifies an intellectual disability-overweight syndrome caused by PHIP haploinsufficiency. *European journal of human genetics*, 26(1), 54-63. DOI: 10.1038/s41431-017-0039-5
- Klar, N., Cohen, B., & Lin, D. D. M. (2015) Neurocutaneous syndromes. *Handbook of Clinical Neurology*, 135, 565-589. DOI: 10.1016/s0031-3955(16)38367-5
- Madson, J. G. (2012) Multiple or familial café-au-lait spots is neurofibromatosis type 6: clarification of a diagnosis. *Dermatology Online Journal*, 18(5), 4. DOI: 10.5070/D33d56c2q8
- Maertens, O., De Schepper, S., Vandempele, J., Brems, H., Heynes, I., Janssens, S., ... Messiaen, L. (2007) Molecular dissection of isolated disease features in mosaic neurofibromatosis type 1. *The American Journal of Human Genetics*, 81(2), 243-251. DOI: 10.1086/519562
- Martelli, H., Jr. (2019) In reply to: Alawi F. "Using rare diseases as teaching models to increase awareness". Letter to the editor. *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology and Oral Radiology*, 128, 690-691. DOI: 10.1016/j.oooo.2019.07.002
- Mertens, D. E. (2015) *Research and evaluation in education and psychology: integrating diversity with quantitative, qualitative and mixed methods* (5th ed). Chapter 3: Literature Review and Focusing the Research. Thousand Oaks, CA: Sage Publication, pp. 89-121
- Mulchandani, S., Bhoi, E. J., Luo, M., Powell-Hamilton, N., Jenny, K., & Gripp, K. W. (2016) Maternal uniparental disomy of chromosome 20: a novel imprinting disorder of growth failure. *Genetics in Medicine*, 18, 309-315. DOI: 10.1038/gim.2015.103
- Nishimura, G., Hasegawa, T., Fujino, M., Hori, N., & Tomita, Y. (2003) Microcephalic osteodysplastic primordial short stature type II with café-au-lait spots and moyamoya disease. *American Journal of Medical Genetics*, 117(3), 299-301. DOI: 10.1002/ajmg.a.10230
- Nyström, A. M., Ekvall, S., Stromberg, B., Holmstrom, G., Thuresson, A. C., Annerén, G., ... Bondeson, M. L. (2009) A severe form of Noonan syndrome and autosomal dominant café-au-lait spots—evidence for different genetic origins. *Acta Paediatrica*, 98, 693-698. DOI: 10.1111/j.1651-2227.2008.01170.x
- Oates, J. A., & Harris, R. L. (2015) Literature Review and Focusing the Research (Chapter 3). In R. Harris & F. Williams (Eds.), *Research and Evaluation in Education and Psychology, integrating diversity with quantitative, qualitative and mixed methods* (5th ed). Thousand Oaks, CA: Sage Publication, pp. 89-121.
- Osio, N., Fukui, K., Kawada, A., & Suzuki, T. (2013) Piebaldism. *The Journal of Dermatology*, 40(5): 330-335. DOI: 10.1111/j.1346-8138.2012.01583.x
- Online Mendelian Inheritance in Man, OMIM®: authoritative compendium of human genes and genetic phenotypes. McKusick-Nathans Institute of Genetic Medicine, Johns Hopkins University (Baltimore, MD). Available at: <https://omim.org/>
- Origone, P., Defferrari, R., Mazzocco, K., Cunsolo, C. L., Bernardi, B., Tomini, G. P. (2003) Homozygous Inactivation of NF1 Gene in a Patient with Familial NF1 and Disseminated Neuroblastoma. *American Journal of Medical Genetics*, 118A(4), 309-313. DOI: 10.1002/ajmg.a.10167
- Orphanet: an online database of rare diseases and orphan drugs. Copyright, INSERM 1997. Available at: www.orpha.net

- Pagnamenta, A. T., Murray, J. E., Yoon, G., Sadighi Akha, E., Harrison, V., Bicknell, L. S., ... Knight, S. J. (2012). A novel nonsense CDK5RAP2 mutation in a Somali child with primary microcephaly and sensorineural hearing loss. *American Journal of Medical Genetics*, 158A, 2577-2582. DOI: 10.1002/ajmg.a.35558
- Picardo, M., & Cardinali, G. (2011). The genetic determination of skin pigmentation: KITLG and the KITLG6-KIT pathway as key players in the onset of human familial pigmentary diseases. *Journal of Investigate Dermatology*, 131(6), 1182-1185. DOI: 10.1038/jid.2011.67
- Plana-Pla, A., Bielsa-Marsol, I., & Carrato-Momino, C. (2017). Diagnostic and Prognostic Relevant of the Cutaneous Manifestations of Neurofibromatosis Type 2. *Actas Dermo-Sifiliográficas*, 108(7), 630-636. DOI: 10.1016/j.adengl.2016.12.025
- Plataras, C., Christianakis, E., Fostira, F., Bourikas, G., Chorti, M., Bourikas, D., ... Eirekat, K. (2018). Asymptomatic Gastric Giant Polyp in a Boy with Peutz-Jeghers Syndrome Presented with Multiple Café Au Lait Traits. *Case Reports in Surgery*, 2018, 1-3, Article ID 6895974. DOI: 10.1155/2018/6895974
- Reith, W. (2013). Phakomatosen. *Der Radiologe*, 53, 1075-1076. DOI: 10.1007/s00117-013-2532-3
- Rinaldi, B., Vansfeld, A., Amari, S., Baldo C, Gobbi G, Magini P, ... Crimi, M. (2017). Guideline recommendations for diagnosis and clinical management of Ring14 syndrome-first report of an ad hoc task force. *Orphanet Journal of Rare Diseases*, 12(1), 69. DOI: 10.1186/s13023-017-0606-4
- Rivers, J. K., MacLennan, R., Kelly, J. W., Lewis, A. E., Tate, B. J., Harrison, S., ... McCarthy, W. H. (1985). The eastern Australian childhood nevus study: prevalence of atypical nevi, congenital nevus-like nevi, and other pigmented lesions. *Journal of the American Academy of Dermatology*, 32(6), 957-963. DOI: 10.1016/0190-9622(95)91331-9
- Ronnstrand, L. (2004). Signal transduction via the stem cell factor receptor/c-Kit. *Cellular and Molecular Life Sciences*, 61(19-20), 2535-2548. DOI: 10.1007/s00018-004-4189-6
- Rozales-Solis, G. M., Martínez-Longoria, C. A., Guerrero-González, G. A., Ocampo-Garza, J., & Ocampo-Candiani, J. (2016). Síndrome de Bloom. Manifestaciones clínicas y estudio cromosómico en una niña mexicana [Bloom syndrome. Clinical manifestations and chromosomal study in a Mexican child]. *Gaceta médica de México*, 152(6), 836-837. PMID: 27861482
- Sarkozy, A., Digilio, M. C., & Dallapiccola, B. (2008). Leopard Syndrome. *Orphanet Journal of Rare Diseases*, 3, 13. DOI: 10.1186/1750-1172-3-13
- Sarnat, H. B., & Flores-Sarnat, L. (2005). Embryology of the neural crest: its inductive role in the neurocutaneous syndromes. *Journal of Child Neurology*, 20(8), 637-643. DOI: 10.1177/08830738050200080101
- Shah, K. N. (2010). The Diagnostic and Clinical Significance of Café-au-lait Macules. *Pediatric Clinics of North America*, 57(5), 1131-1153. DOI: 10.1016/j.pcl.2010.07.002
- Spatari, B. S., Stafrace, Y., Calleja-Aguis J. (2017). Silver-Russell Syndrome: A Review. *Neonatal Network*, 36(4), 206-212. DOI: 10.1891/0730-0832.36.4.206
- Tajan, M., Paccoud, R., Branks, S., Edouard, T., & Yart, A. (2018). The RASopathy Family: Consequences of Germline Activation of the RAS/MAPK Pathway. *Endocrine Reviews*, 39(5), 676-700. DOI: 10.1210/er.2017-00232
- Tidyman, W. E., & Raneu, K. A. (2016). Expansion of the RASopathies. *Current Genetic Medicine Reports*, 4(3), 57-64. DOI: 10.1007/s40142-016-0100-7
- Veenma, D. C. M., Eussen, H. J., Govaerts, L. C. P., de Kort, S. W. K., Odink, R. J., Wouters, C. H., ... de Klein, A. (2010). Phenotype-genotype correlation in a familial IGF1R microdeletion case. *Journal of Medical Genetics*, 47, 492-498. DOI: 10.1136/jmg.2009.070730
- Walsh, M. F., Chang, V. Y., Kohlmann, W. K., Scott, H. S., Cuniff, C., Bourdeaut, F., ... Savage, S. A. (2017). Recommendations for Childhood Cancer Screening and Surveillance in DNA Repair Disorders. *Clinical Cancer Research*, 23(11), 23-31. DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-17-0465
- Wimmer, K., Rosenbaum, T., & Messiaen, L. (2017). Connections between constitutional mismatch repair deficiency syndrome and neurofibromatosis type 1. *Clinical genetics*, 91(4), 507-519. DOI: 10.1111/cge.12904
- Young I. D., Barrow, M., & Hall, C. M. (2004). Microcephalic Osteodysplastic Primordial Short Stature Type II with Café-au-lait Spots and Moyamoya Disease: Another Patient. *American Journal of Medical Genetics*, 127(A), 218-220. DOI: 10.1002/ajmg.a.20647
- Zeng, L., Zheng, X. D., Liu, L. H., Fu, L. Y., Zuo, X. B., Chen, G., ... Zhang, X. J. (2016). Familial progressive hyperpigmentation and hypopigmentation without KITLG mutation. *Clinical and Experimental Dermatology*, 41(8), 927-929. DOI: 10.1111/ced.12923
- Zhang, J., Li, M., & Yao, Z. (2016). Molecular screening strategies for NF1-like syndromes with café-au-lait macules (Review). *Molecular Medicine Reports*, 14(5), 4023-4029. DOI: 10.3892/mmr.2016.5760

5.2 PRODUTO 2

Revista da Associação Médica Brasileira



Craniofacial findings in syndromes associated with cafe-au-lait spots: a literature review

Journal:	<i>Revista da Associação Médica Brasileira</i>
Manuscript ID:	RAMB-2021-1050
Manuscript Type:	Review Articles
Date Submitted by the Author:	18-Oct-2021
Complete List of Authors:	CARVALHO, ADRIANA; UNIMONTES, DEPARTAMENTO DE SAÚDE DA MULHER E DA CRIANÇA Martelli, Daniella ; Universidade Estadual de Montes Claros, Centro de Ciências Biológicas e da Saúde, Programa de Pós-graduação em Cuidado Primário em Saúde Ferraz, Lorena Daiza ; UNIMONTES, ODONTOLOGIA MACHADO, RENATO; Universidade Estadual de Campinas Faculdade de Odontologia de Piracicaba, Departamento de Diagnóstico Oral Martelli-Júnior, Hercilio; Universidade Estadual de Montes Claros, Centro de Ciências Biológicas e da Saúde, Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde
Keyword:	Genetic disease, Cafe-au-lait spots, Craniofacial findings, Oral manifestations, Dental anomalies

SCHOLARONE™
Manuscripts

<https://mc04.manuscriptcentral.com/ramb-scielo>

Craniofacial findings in syndromes associated with cafe-au-lait spots: a literature review

OBJECTIVE:

Cafe-au-lait spots may be part of the phenotype of several genetic syndromes caused by germline mutations. Melanocytes derive from the neural crest and several genes are involved in melanocyte development and function. Likewise, many other cells share a common cellular origin and/or genetic regulatory pathways with melanocytes. This paper aims to provide a comprehensive overview of the syndromes associated with cafe-au-lait spots that exhibit craniofacial abnormalities.

METHODS:

The identification of genetic syndromes was carried out in the compendium of human genes and genetic disorders “Online Mendelian Inheritance in Man” (OMIM). The PubMed and Virtual Health Library databases were consulted for literature review.

RESULTS:

A total of 60 syndromes associated with cafe-au-lait spots are described. Among them, craniofacial abnormalities can be part of the clinical phenotype in 45 syndromes. The identified syndromes were classified into five groups according to the altered signaling pathway and/or function of the mutated gene. Most of the diseases observed are part of the developmental disorders referred to as RASopathies.

CONCLUSION:

The observation of cafe-au-lait spots during the clinical assessment of the patient may represent a significant clinical sign for the diagnosis of a genetic syndrome, especially when associated with craniofacial abnormalities.

KEYWORDS:

Genetic disease. Hereditary syndromes. Hyperpigmentation. Cafe-au-lait spots. Craniofacial abnormalities.

RESUMO

OBJETIVO:

Manchas café-com-leite podem fazer parte do fenótipo de várias síndromes genéticas causadas por mutações germinativas. Os melanócitos derivam da crista neural e vários genes estão envolvidos no desenvolvimento e função dos melanócitos. Da mesma forma, muitas outras células compartilham uma origem celular e/ou via regulatória genética comum com os melanócitos. Este artigo visa fornecer uma visão abrangente das síndromes associadas com manchas café-com-leite que apresentam anormalidades craniofaciais.

MÉTODOS:

A identificação das síndromes genéticas foi realizada no compêndio de genes humano e doenças genéticas “*Online Mendelian Inheritance in Man*” (OMIM). As bases de dados PubMed e Biblioteca Virtual em Saúde foram consultadas para revisão da literatura.

RESULTADOS:

Um total de 60 síndromes associadas a manchas café-com-leite são descritas. Dentre elas, as anormalidades craniofaciais podem fazer parte do fenótipo clínico em 45 síndromes. As síndromes identificadas foram classificadas em cinco grupos de acordo com a via de sinalização alterada e/ou função do gene mutado. A maioria das doenças observadas faz parte dos distúrbios do desenvolvimento denominados RASopatias.

CONCLUSÃO:

A observação de manchas café-com-leite durante a avaliação clínica de um paciente pode representar um sinal clínico significativo para o diagnóstico de uma síndrome genética, principalmente quando associadas a anormalidades craniofaciais.

PALAVRAS-CHAVE:

Doença Genética. Síndromes hereditárias. Hiperpigmentação. Manchas café-com-leite. Anormalidades craniofaciais.

INTRODUCTION

Cafe-au-lait spots (CALs), also called cafe-au-lait macules, are uniformly pigmented light to dark brown spots on the skin that may be present at birth or develop in childhood¹. They usually appear as light brown in light-skinned people and medium to dark brown in those with darker-skinned. The size of the spots can vary from 1 to 2 mm up to more than 20 cm². Morphologically, CALs are more frequently oval shaped and have smooth edges, although other formats are described³.

Histologically, they demonstrate an increase in melanin content in both melanocytes and basal keratinocytes and in some pathological conditions increased number of melanocytes, although proliferation of melanocytes is not seen². CALs can occur anywhere of the body with the exception of the scalp, palms and plantae, but they appear more frequently on the trunk and extremities, and less commonly on the face⁴.

Several steps are involved in determining the color of the skin. Melanocytes arise from the neural crest. During embryonic development, melanoblasts migrate towards the dermis, and then through it to reach the overlying epidermis, where they undergo extensive proliferation and begin the production of melanin. In a next step, melanosomes are transferred from melanocytes to keratinocytes⁵. Furthermore, the configuration of the “ordered three-dimensional cellular arrangement” of the skin, called “epidermal melanin unit” (EMU), also influences the determination of pigmentation⁶.

Many genes encode protein components or regulators of signaling pathways involved in the development, migration and function of melanocytes and, therefore, in the control of physiological and pathological pigmentation of the skin. A large group of syndromes associated with CALs result from germline mutations in these associated genes⁷.

In addition to melanocytes, the neural crest gives rise to several other cell types. As a transient structure present during embryonic development, the neural crest is composed of highly multipotent progenitor cells, characterized by populations of already determined precursors and heterogeneous and multipotent cells^{6,8}, capable of giving rise to different phenotypes, depending on various growth factors and the microenvironment at the migration sites. Thus, the cephalic neural crest gives rise to neural and mesenchymal cells, the latter originating part of the craniofacial skeleton (chondrocytes, osteocytes and odontoblasts) and facial tissues (adipocytes and dermal fibroblasts), while the cells of the truncal neural crest give rise to cells

glial and peripheral nervous system neurons, as well as endocrine system cells^{6,9}. This explains the wide phenotypic variation observed in syndromes associated with CALS.

It is important to highlight that isolated CALS may occur as a common finding (10-36% of healthy people) with no clinical significance when dissociated from other findings⁴. However, the presence of multiple CALS, large segmental CALS, other skin anomalies, facial dysmorphism, other unusual findings on physical examination, may suggest the presence of an associated genetic disorder and should be investigated².

The study aimed to provide a comprehensive understanding of the syndromes associated with CALS that exhibit craniofacial abnormalities as part of the clinical phenotype.

METHODS

A review of the literature was conducted from January to July of 2021. The identification of genetic diseases associated with CALS was carried out in the *Online Mendelian Inheritance in Man* (OMIM)¹⁰. The descriptors used for the search were: “genetic diseases” or “hereditary syndromes” and “cafe-au-lait” or “hyperpigmentation”.

Once the related syndromes were identified, the presence (or not) of associated craniofacial abnormalities was performed based on a survey carried out at OMIM, using the specific name of each syndrome and observing the signs/symptoms in the clinical synopsis. Subsequently, the evaluation of the clinical signs associated with each syndrome was extended to other databases, having been used for this purpose PubMed (www.pubmed.com) and Virtual Health Library (www.bvsalud.org).

Literature review, case report and case series were included in the research. Considering that these are rare syndromes, a date filter was not used.

RESULTS

A total of 60 syndromes associated with the presence of CALS are described¹¹. Among them, craniofacial abnormalities can be part of the clinical phenotype in 45 syndromes.

The affected gene and the typical, general, craniofacial and orodental alterations observed in each syndrome are described in table 1. The identified syndromes were classified into groups according to the altered signaling pathway and/or the function of gene mutated.

Among the 45 syndromes identified, 39 different genes were recognized, considering that different syndromes can be linked to the same gene and that some entities have not been related to any gene until nowadays.

DISCUSSION

Neurofibromatosis type 1 (NF1) is the disease with the highest incidence among all syndromes associated with CALS and one in which this association is well recognized and considered a diagnostic hallmark². However, several other genetic syndromes are associated with CALS, with a total of 60 syndromes described¹¹.

Most of these diseases that present multiple CALS are part of the developmental diseases known as RASopathies. This group includes genetic syndromes caused by germline mutations in genes that encode components of the Ras-MAPK (mitogen-activated protein kinases) pathway. This regulatory pathway is an essential intracellular signaling cascade that controls many cell functions such as differentiation, survival and proliferation, functions that are critical for normal development⁷.

With regard to syndromes associated with CALM and craniofacial abnormalities, most of them are also included in the group of RASopathies. In this condition we have NF1⁷, Legius syndrome^{7,12}, Leopard syndrome 1¹², Leopard syndrome 2¹², Leopard syndrome 3, Costello syndrome^{7,12}, cardiofaciocutaneous syndrome^{7,12}, Noonan syndrome, Noonan syndrome-like disorder with loose anagen hair 2¹³ and Noonan syndrome 13.

Considering that dysregulation of the underlying Ras-MAPK pathway is common to all RASopathies, the diseases included in this classification exhibit numerous overlapping phenotypic characteristics, such as craniofacial dysmorphism, cardiovascular anomalies, abnormalities in tissues of ectodermal origin, neurocognitive impairment and increased risk of cancer¹².

However, it is important to consider that each of the RASopathies exhibits a unique phenotype, as it is caused by mutations at different points in the metabolic pathway¹². In this sense, and

considering the importance of the Ras-MAPK pathway in craniofacial development, the characterization of craniofacial and orodental alterations in each of the RASopathies can provide valuable information for the diagnosis of a specific syndrome⁷.

Another group to be considered, corresponds to phakomatoses. Defects at any stage of neural crest cell development such as migration, proliferation, cell-to-cell interaction, differentiation, or growth are associated with the pathophysiology of neurocutaneous syndrome or phakomatoses¹⁴. This group includes pathologies with different genetic mechanisms. The encompassing diseases that share CALS and craniofacial abnormalities are Watson syndrome, Peutz-Jeghers syndrome¹⁵, tuberous sclerosis complex¹⁵, Cowden syndrome¹⁶, McCune-Albright syndrome¹⁷ and Johnson neuroectodermal syndrome¹⁸.

As common feature in the group, all the diseases represent neurocristopathies and, therefore, include abnormalities in the tissues of ectodermal origin, especially the skin, eyes, and central nervous system¹⁵. Craniofacial alterations can also occur, mainly related to structures originating from the ectodermal embryonic leaflet¹⁷.

Another important signaling pathway involved in the development and function of melanocytes is the KIT signaling pathway. Waardenburg syndrome type 2E, Piebaldism, peripheral demyelinating neuropathy-central dysmyelination-Waardenburg syndrome-Hirschsprung disease and hyperpigmentation with or without hypopigmentation, familial progressive are genetic disorders of aberrant melanoblast differentiation and migration during embryogenesis⁵. The binding of the KIT ligand to its receptor KIT triggers the Ras-MAPK signaling pathway, which regulates the differentiation, migration and survival of melanocytes, as well as proliferation, melanogenesis and melanosome transfer⁷. Among the diseases of this group, Waardenburg syndrome and Familial progressive hyperpigmentation with or without hypopigmentation are those that present associated craniofacial alterations.

Bloom Syndrome, Nijmegen breakage syndrome, Seckel syndrome 2 and Fanconi anemia are diseases that present CALS and craniofacial alterations classified as DNA repair disorders. Germline pathogenic mutations in genes that encode key proteins in DNA repair and telomeres biology result in a high risk of cancer associated with these syndromes¹⁹.

In addition, we have the genomic imprinting disorders, associated to an epigenetic phenomenon that causes genes to be expressed or not, inherited from the mother or father. Silver-Russell syndrome¹²⁰ and Mulchandani-Bhoj-Conlin syndrome²¹ are diseases of this group.

Besides these classifications, localized or general melanotic hyperpigmentation might be part of the clinical presentation of many other congenital systemic disorders that result from ubiquitous protein defects and/or basal cell processes. This suggests that melanocytes are a cell type with high sensitivity to such perturbations⁶. In these case CALS occurs as isolated lesions with low occurrence.

CONCLUSIONS

The observation of CALS in the assessment of a patient can be significant, especially the presence of multiple CALS, large and segmental CALS, other skin anomalies, facial dysmorphism, other unusual findings on physical examination. These findings may suggest the presence of an associated genetic disease.

Furthermore, is important to highlight that the craniofacial structures and skin tissue share a similar embryological origin. Thus, the characterization of craniofacial abnormalities in the assessment of a patient with a genetic syndrome associated with CALS can be of great relevance for the specific diagnosis of the related syndrome.

Table 1. Genetic syndromes associated with cafe-au-lait spots and craniofacial abnormalities

<i>RASopathies</i>	<i>Gene</i>	<i>Typical and general features</i>	<i>Craniofacial and orodental manifestations</i>	<i>Ref.</i>
Neurofibromatosis type I	<i>NF1</i>	<i>Typical:</i> multiple CALS; Lisch nodules; neurofibromas; freckling. <i>General:</i> mental retardation (mild), hydrocephalus; renal artery stenosis; skeletal anomalies, pectus deformities; susceptibility to neoplasms.	Macrocephaly, hypoplasia mandibular; dental irregularities, retained deciduous molars, congenitally missing second molars.	OMIM (162200) Ref. 2,7
Legius syndrome	<i>SPRED1</i>	<i>Typical:</i> multiple CALS (99%), variable dysmorphic features, lipomas, learning disabilities. <i>General:</i> freckling; pectus deformities; Not associated with neurofibromas, optic gliomas, Lisch nodules or tumor predisposition, except for specific hematological malignancies.	Macrocephaly, triangular face, low-set ears; downslanting palpebral fissures, epicanthal folds, hypertelorism; low-posterior hairline; short neck; high arched palate, micrognathia, deeply philtrum.	OMIM (611431) Ref.2,22, 23
Leopard syndrome 1	<i>PTPN11</i>	<i>Typical:</i> multiple lentigines, hypertelorism, pulmonic stenosis, abnormal genitalia, short stature, electrocardiographic abnormalities, sensorineural deafness. <i>General:</i> CALS (70-80%); mental retardation (mild); thoracic deformities, spina bifida; delayed puberty.	Prognathism, triangular face, biparietal bossing; prominent and low-set ears; ptosis, epicanthus folds, hypertelorism; broad nose; short neck. Cleft palate, deep nasal-labial folds, thick lips, dental anomalies.	OMIM (151100) Ref. 7
Leopard syndrome 2	<i>RAF1</i>	<i>Typical:</i> short stature, hypertrophic cardiomyopathy, craniofacial anomalies, CALS, lentigines. <i>General:</i> delayed puberty; cubitus valgus.	Dolichocephaly; prominent chin; short webbed neck; low-set ears; hypertelorism, downslanting palpebral fissures. Thick lips.	OMIM (611554)
Leopard syndrome 3	<i>BRAF</i>	<i>Typical:</i> pigmented lesions, short stature, hyperkeratosis, craniofacial anomalies. <i>General:</i> lentigines, CALS, multiple nevi spread on the whole body (including palms and soles); cognitive deficits (mild), seizures; heart and thoracic defects; delayed bone age.	Low-set ears, sensorineural deafness; hypertelorism; depressed nasal bridge; curly hair.	OMIM (613707)
Costello syndrome	<i>HRAS</i>	<i>Typical:</i> coarse facies, short stature, distinctive hand posture, severe feeding difficulty. Predisposition to cancer. <i>General:</i> deep creases, cutis laxa, acanthosis nigricans, papilloma, palmar nevi, one or two CALS (9-31%); multiple CALS (rare/absent); mental retardation, cerebral atrophy; cardiac defect; small lung; renal failure; nail abnormalities.	Macrocephaly, high forehead, bitemporal narrowing; hypertelorism, strabismus, epicanthal folds, ptosis; short nose; full cheeks; low-set ears; short neck. High arched palate, micrognathia, gingival hypertrophy, open bite, enamel defect, delayed tooth eruption; thick lips, large mouth, bifid uvula.	OMIM (218040) Ref. 7,24,25
Cardio-fascio-cutaneous syndrome 1	<i>BRAF</i>	<i>Typical:</i> coarse facies, heart defects, mental retardation. Ectodermal abnormalities. Short stature. <i>General:</i> one or two CALS (9-31%); multiple CALS/freckling (rare or absent), hyperkeratosis, ichthyosis, hemangioma; cortical atrophy, seizures, peripheral axonal neuropathy; delayed bone age.	Relative macrocephaly, high forehead, bitemporal narrowing; hypertelorism, ptosis, strabismus; short nose; low-set ears; webbed neck. Sparse/curly hair. High arched palate, anterior open bite.	OMIM (115150) Ref. 7,24,25
Noonan Syndrome	<i>PPTN11</i>	<i>Typical:</i> short stature, facial dysmorphism, congenital heart defects. <i>General:</i> CALS (frequent), linfoedema, skeletal defects, mental retardation, cryptorchidism, bleeding diathesis.	Broad forehead; hypertelorism, downslanting palpebral fissures; low set ears, hearing loss; webbed neck; deeply grooved philtrum, high-arched palate, dental malocclusion.	OMIM (163950) Ref. 7,25

<i>RA Sopathies</i>	<i>Gene</i>	<i>Typical and general features</i>	<i>Craniofacial and orodental manifestations</i>	<i>Ref.</i>
Noonan syndrome 13	<i>MAPK1</i>	<i>Typical:</i> global developmental delay, behavioral problems. ↓ postnatal growth, craniofacial anomalies. <i>General:</i> hypochromic spots, multiple lentiginos, CALS; hypotonia, seizures; cubitus valgus, broad thorax; heart defects.	High/broad forehead; long philtrum; low-set ears; ptosis, hypertelorism; wide nasal bridge; short neck; hypertrichosis. Marked upper lip vermilion, everted lower lip; dental anomalies.	OMIM (619087)
Noonan Syndrome-like disorder with loose anagen hair 2	<i>PPP1CB</i>	<i>Typical:</i> distinctive features of hair and skin, short stature, heart defects. <i>General:</i> hypopigmentation, freckling, CALS, loose skin; developmental delay, Chiari I (1 patient), Dandy-Walker malformation (1 patient); delayed bone age; pectus excavatum.	Macrocephaly, prominent forehead, low posterior hairline; large and low-set ears, preauricular pits; hypertelorism, ptosis, epicanthal folds; short and webbed neck. High-arched palate, dental malocclusion.	OMIM (617506) Ref. 25
<i>Neurocutaneous syndrome or phakomatoses</i>	<i>Gene</i>	<i>Typical and general features</i>	<i>Craniofacial and orodental manifestations</i>	<i>Ref.</i>
Watson syndrome	<i>NF1</i>	<i>Typical:</i> pulmonary valvular stenosis, CALS, decreased intellectual ability, short stature. <i>General:</i> multiple CALS, neurofibromas, freckling.	Relative macrocephaly, Lisch nodules.	OMIM (193520)
Peutz-Jeghers syndrome	<i>STK11</i>	<i>Typical:</i> hyperpigmented spots, multiple gastrointestinal hamartomatous polyps, increased risk of neoplasms. <i>General:</i> multiple CALS (unusual); polyps (various organs); digital clubbing; precocious puberty.	Hyperpigmented patches (lips and buccal mucosa). Nasal polyps.	OMIM (175200) Ref. 26
Tuberous sclerosis 1	<i>TSC1</i>	<i>Typical:</i> hamartomas in multiple organ. <i>General:</i> white ash leaf-shaped macules, subcutaneous nodules, CALS (<50%), subungual fibromata; epilepsy, mental handicap, autism, paraventricular calcifications; skeletal disorders; ophthalmic tumors; angiomyolipomas.	Angiofibromas, fibrous plaques (forehead/scalp), enamel pits, confluent gingival nodules.	OMIM (191100) Ref. 23,27
Tuberous sclerosis 2	<i>TSC2</i>	<i>Typical:</i> hamartomas in multiple organ. <i>General:</i> Same features as tuberous sclerosis 1, with more severe disease.	Angiofibromas, fibrous plaques (forehead/scalp), enamel pits, confluent gingival nodules (cobblestone appearance).	OMIM (613254) Ref. 23,27
Cowden syndrome 1	<i>PTEN</i>	<i>Typical:</i> macrocephaly, acral keratoses, facial trichilemmomas, papillomatous papules, risk for carcinoma. <i>General:</i> macular pigmentation of the glans penis (major diagnostic criterion), CALS (<50%), multiple skin tags; vascular anomalies; pectus excavatum; gastrointestinal polyps, colonic diverticulosis; seizure, mental retardation, neuromas, meningioma.	Macrocephaly; hearing loss; hypoplastic mandible/maxilla; cataract. Oral papillomas, scrotal tongue, high arched palate, microstomia, gingival hypertrophy, multiple gingival hyperplastic papules.	OMIM (158350) Ref. 23, 28
Johnson neuroectodermal syndrome	Not identified	<i>Typical:</i> conductive deafness, anosmia, hypogonadotropic hypogonadism, alopecia. <i>General:</i> hypohidrosis, multiple truncal CALS (rare); mental retardation; short stature; heart defect.	Microcephaly (rare); sparse hair; microtia, conductive deafness; absent eyebrows/eyelashes; choanal stenosis. Facial nerve palsy, cleft palate (rare), retrognathia.	OMIM (147770) Ref. 29
McCune-Albright syndrome	<i>GNAS</i>	<i>Typical:</i> polyostotic fibrous dysplasia, CALM>50% (large and segmental cafe au lait spots with irregular margins), precocious puberty. <i>General:</i> gastrointestinal polyps; pathologic fracture; hyperthyroidism, hyperparathyroidism, acromegaly, hyperprolactinemia, Cushing syndrome.	Craniofacial hyperostosis, facial asymmetry, deafness, blindness; pituitary adenoma.	OMIM (174800) Ref. 23,30

<i>KIT signaling pathway</i>	<i>Gene</i>	<i>Typical and general features</i>	<i>Craniofacial and orodental manifestations</i>	<i>Ref.</i>
Waardenburg syndrome type 2E	<i>SOX10</i>	<i>Typical:</i> auditory-pigmentary syndrome. Congenital hearing loss (100%), neurologic abnormalities. <i>General:</i> hypopigmented patches, CALS (mild), freckles, premature graying; pectus excavatum.	Ocular albinism, white forelock/eyelashes/eyebrows; nystagmus. Delayed deciduous tooth eruption, large central incisors, irregularly placed dentition.	OMIM (611584)
Familial progressive hyperpigmentation and hypopigmentation	<i>KITLG</i>	<i>Typical:</i> larger hypopigmented ash-leaf macules, diffuse hyperpigmentation sometimes associated with CALS. <i>General:</i> lentigines, vitiligo, multiple, hyperkeratosis, CALS.	Hyperpigmented patches.	OMIM (145250)
<i>DNA repair disorders</i>	<i>Gene</i>	<i>Typical and general features</i>	<i>Craniofacial and orodental manifestations</i>	<i>Ref.</i>
Bloom syndrome	<i>WRN/RECQL3</i>	<i>Typical:</i> pre- and postnatal growth deficiency, short stature; hypo and hyperpigmented skin, sun-sensitive, facial telangiectatic; predisposition to malignancy. <i>General:</i> CALS (>50%), hypertrichosis, photosensitivity; mild mental retardation; chronic lung disease; infertility (males); digital defects; recurrent infections.	Dolichocephaly skull, microcephaly, narrow face, prominent ears/nose. Absent upper lateral incisors, highly arched palate.	OMIM (210900) Ref.23
Nijmegen breakage syndrome	<i>NBN</i>	<i>Typical:</i> microcephaly, cancer predisposition, short stature, immunodeficiency. Premature death. <i>General:</i> CALS (<50%), vitiligo; mental retardation (moderate), hyperactivity, neurodegeneration; primary ovarian failure; radiation hypersensitivity.	Typical facial appearance, prominent midface; upward slanting of palpebral fissures; dysplastic ears; choanal atresia, long nose. Periodontal diseases; cleft lip/palate.	OMIM (251260) Ref. 23
Seckel syndrome 2	<i>RBBP8</i>	<i>Typical:</i> characteristic “bird-headed” facial appearance, mental retardation, short stature, microcephaly. <i>General:</i> CALS (some); brain calcification, cerebellar hypoplasia; ectopic kidneys; digital defects, slender extremities.	Microcephaly, proptosis; beaklike nose; narrow face, receding mandible; nystagmus; ear defect. Dental anomalies, cleft palate, high arched palate, hypoplastic enamel, macroglossia, gingival hyperplasia.	OMIM (606744) Ref. 31
Nijmegen breakage syndrome-like disorder	<i>RAD50</i>	<i>Typical:</i> severe prenatal/postnatal growth restriction; congenital microcephaly, impaired intellectual development; no immunodeficiency. <i>General:</i> CALS, multiple nevi; short stature; spasticity, Chiari malformation; brachydactyly, clinodactyly; cutaneous vascular anomalies, Wolff-Parkinson-White anomaly; widely spaced nipples.	Microcephaly, sloping forehead, micrognathia; hypertelorism; broad nasal bridge; hypoplastic nasal septum.	OMIM (613078)
Fanconi anemia (FANCA, FANCC, FANCD2, FANCI)	<i>FANCA</i> <i>FANCC</i> <i>FANCI</i> <i>FANCD2</i>	<i>Typical:</i> developmental abnormalities in major organ systems, early-onset bone marrow failure, high predisposition to cancer (leukemia). <i>General:</i> malformations: skeleton (small stature, radial aplasia, thumb deformity, vertebrae defects), skin (CALS, hyperpigmentation), cardiopulmonary, gastrointestinal, central nervous systems, urogenital. Short neck.	Microcephaly; strabismus, microphthalmia. “Fanconi facies”; ear malformations.	OMIM (227650, 227645, 227646, 609053)

<i>Genomic imprinting disorders</i>	<i>Gene</i>	<i>Typical and general features</i>	<i>Craniofacial and orodental manifestations</i>	<i>Ref.</i>
Silver-Russell syndrome 1	<i>ICR1</i>	<i>Typical:</i> severe growth retardation, craniofacial features, body asymmetry, others minor malformations. <i>General:</i> CALS (<50%); developmental delay; cardiac defects; digital defects; neoplasms.	Relative macrocephaly, triangular face, prominent forehead; blue sclera; micrognathia, thin lips, downturned corners of mouth, retrognathia.	OMIM (180860) Ref.23
Mulchandani-Bhoj-Conlin syndrome	<i>GRCh38</i>	<i>Typical:</i> short stature, profound feeding difficulties. <i>General:</i> CALS (infrequent); hypotonia; horseshoe kidney; digital defects.	Microcephaly, triangular face, dolichocephaly, low-set ears, thick helices; epicanthal folds. Retrognathia, narrow palate.	OMIM (617352)
<i>Miscellaneous</i>	<i>Gene</i>	<i>Typical and general features</i>	<i>Craniofacial and orodental manifestations</i>	<i>Ref.</i>
Multiple endocrine neoplasia type I	<i>MEN1</i>	<i>Typical:</i> endocrine tumors. <i>General:</i> CALS (40%), hypopigmented macules, lipomas, collagenomas; prolactinoma; vasointestinal peptide tumor, gastrinoma; carcinoid tumors.	Multiple facial angiofibromas, collagenomas. Multiple gingival papules.	OMIM (131100) Ref. 23
Multiple endocrine neoplasia type IIB	<i>RET</i>	<i>Typical:</i> hamartoneoplastic syndrome: thyroid carcinoma, pheochromocytoma, mucosal neuromas, thick corneal nerves. <i>General:</i> CALS (sometimes); ganglioneuroma, developmental delay; failure to thrive; parathyroid hyperplasia; goiter; colonic diverticulum, megacolon; myopathy; skeletal abnormalities.	Characteristic facial appearance: swollen lips, flat nasal bridge; ptosis. High arched palate, prognathism, thick lips.	OMIM (162300)
Smith-Kingsmore syndrome	<i>MTOR</i>	<i>Typical:</i> macrocephaly, seizures, umbilical hernia, facial dysmorphic features. <i>General:</i> CALS (11,1%); intellectual disability, hypogenesis of the corpus callosum, polymicrogyria, heterotopic gray matter, hypotonia; small thorax; limb shortening; small toenails.	Midface hypoplasia, frontal bossing; hypertelorism, downslanting palpebral fissures; short nose; curly hair. Macrostomia, long philtrum, thin lip.	OMIM (616638) Ref. 32
Rubinstein-Taybi syndrome 1	<i>CREBBP</i>	<i>Typical:</i> microcephaly, mental retardation, growth deficiency, broad thumbs/halluces, dysmorphic facial features. <i>General:</i> single transverse palmar creases, CALS; agenesis corpus callosum, seizures; heart defect; sternal anomalies; digital defects; hirsutism.	Striking facial features, low anterior hairline, prominent forehead; strabismus, ptosis; hypoplastic maxilla, micro/retrognathia; low-set ears, hearing loss; beaked nose. Dental anomalies, high-arched palate, malocclusion, hypoplastic enamel, thick lip.	OMIM (180849)
OHDO syndrome, X-linked	<i>MED12</i>	<i>Typical:</i> blefarofimose, ptosis; long filter; micrognathia, deafness. <i>General:</i> CALS; developmental delay; cryptorchidism; clinodactyly.	Facial coarsening, epicanthal folds, triangular face; small ears; wide nasal bridge; blepharophimosis, ptosis. Thin upper lip vermilion, microstomia, dental anomalies.	OMIM (300895)
Chung-Jansen syndrome	<i>PHIP</i>	<i>Typical:</i> impaired global development, dysmorphic features, obesity. <i>General:</i> CALS (40%); hands: tapering fingers, clinodactyly; feet: syndactyly; hypotonia.	High forehead, round face; large ears, thick helices; thick eyebrows, hypertelorism, synophrys, epicanthal folds, nystagmus, strabismus. Micrognathia, thin lips, high palate.	OMIM (617991)
Kabuki syndrome	<i>KMT2D</i>	<i>Typical:</i> mental retardation, postnatal dwarfism, peculiar facies, characteristic skeletal and dermatoglyphic changes. <i>General:</i> CALS, cutis aplasia; seizures, hypotonia; heart defect; anal defects; renal anomalies; vertebral/hip anomalies, digital defects.	Microcephaly; long palpebral fissure, eversion of eyelids, arched eyebrows, long eyelashes, hypertelorism; prominent earlobes, hearing loss; wide nose. High palate, cleft lip/palate, bifid tongue/uvula, micrognathia, diastema, dental anomalies.	OMIM (147920)

<i>Miscellaneous</i>	<i>Gene</i>	<i>Typical and general features</i>	<i>Craniofacial and orodental manifestations</i>	<i>Ref.</i>
Microcephalic osteodysplastic primordial dwarfism type II	<i>PCNT</i>	<i>Typical:</i> severe short stature, microcephaly. <i>General:</i> CALS, hypopigmentation; mental retardation, aneurysms; narrow chest; digital defects; premature puberty.	Retrognathia; small ears; prominent nasal root. Enamel hypoplasia, microdontia.	OMIM (210720)
Roberts syndrome	<i>ESCO2</i>	<i>Typical:</i> tetraphocomelia, growth retardation, mental retardation, craniofacial/cardiac/renal anomalies. <i>General:</i> hypopigmented patches, CALS; rudimentary gallbladder; talipes equine-valgus, rudimentary digits; encephalocele, hydrocephalus.	Microcephaly, craniosynostosis, midfacial capillary hemangioma; corneal clouding, blue sclera, exophthalmos, hypertelorism; hypoplastic nasal alae; malformed ears; short neck. Fissured lips, high arched palate, open bite, cleft lip/palate, micrognathia.	OMIM (268300)
Adams-Oliver syndrome 4	<i>EOGT</i>	<i>Typical:</i> aplasia cutis and terminal transverse limb defects. <i>General:</i> cutis marmorata, CALS (rare); dysplastic/aplastic toenails; temporal/occipital infarct; heart defect; umbilical hernia; digital defects.	Cutis aplasia and bony defect (scalp).	OMIM (615297)
Johanson-Blizzard Syndrome	<i>UBR1</i>	<i>Typical:</i> short stature, mental retardation, dysmorphic features. <i>General:</i> CALS, scalp defects, transverse palmar crease; hypotonia; heart defect; small nipples; liver failure; pancreatic insufficiency; imperforate anus; delayed bone age, clinodactyly.	Microcephaly; hearing loss; strabismus, cutaneous-lacrimal fistulae; hypoplastic nasal wing; blonde/unruly hair. Oligodontia.	OMIM (243800)
Carney complex	<i>PRKAR1A</i>	<i>Typical:</i> multiple neoplasia syndrome: cardiac, endocrine, cutaneous, neural, myxomatous tumors; pigmented lesions. <i>General:</i> lentigines; blue nevi/other nevi, CALS (<50%); schwannoma; pigmented adrenal dysplasia, Cushing disease, acromegaly, thyroid hyperplasia; adrenocortical hyperplasia, Sertoli cell tumor, pituitary adenoma, mammary fibroadenoma, pheochromocytoma.	Conjunctival pigmentation, eyelid myxoma; hirsutism, red hair.	OMIM (160980) Ref. 4,23
Russell-Silver syndrome, X-linked	Unknown	<i>Typical:</i> pigmentary anomaly, X-linked – severe in males, mild in females. <i>General:</i> CALS; achromatic areas of trunk and limbs; growth retardation.	Triangular facies.	OMIM (312780)
Chromosome 17q11.2 deletion syndrome	Not reported	<i>Typical:</i> variable facial dysmorphism, mental retardation, excessive number neurofibromas, increased risk for malignant peripheral nerve tumors. <i>General:</i> CALS (93%), freckling; attention-deficit hyperactivity disorder; tall stature; heart defects; pectus excavatum; bone cysts, large hands/feet.	Macrocephaly; coarse facies; Lisch nodules (93%), hypertelorism, optic glioma.	OMIM (613675)
Chromosome 15q26-qter deletion syndrome	<i>IGF1R</i>	<i>Typical:</i> deletion of chromosome 15q26-qter encompassing the insulin-like growth factor 1 receptor gene. Short stature is established hallmark. <i>General:</i> CALS; mental retardation; cryptorchidism, hypospadias; congenital cardiac anomalies; digital defects.	Microcephaly; low-set ears; blepharophimosis, strabismus; broad bridge nose.	OMIM (612626)
Microcephaly, growth restriction and increased sister chromatid exchange 2	<i>TOP3A</i>	<i>Typical:</i> growth restriction with short stature, microcephaly. <i>General:</i> CALS; mild developmental delayed; dilated cardiomyopathy.	Microcephaly; dysmorphic facial features progeroid-like.	OMIM (618097)

<i>Miscellaneous</i>	<i>Gene</i>	<i>Typical and general features</i>	<i>Craniofacial and orodental manifestations</i>	<i>Ref.</i>
Autosomal recessive primary microcephaly	<i>CDK5RAP2</i>	<i>Typical:</i> microcephaly, developmental delay, variable dysmorphic facies. <i>General:</i> CALS; behavioral problems; small cerebral cortex, simplified gyral pattern, partial absence of the corpus callosum, tonic clonic seizures.	Microcephaly; conical-shaped and widely spaced teeth; hearing loss (some); prominent nose.	OMIM (604804)
Ring chromosome 14 syndrome	<i>RC14R</i> <i>MAX</i>	<i>Typical:</i> developmental delay with mental retardation, early-onset epilepsy, microcephaly, dysmorphic facial features. <i>General:</i> Pigmentary abnormalities, CALS; intellectual disability, hypotonia, seizures, poor speech. Short stature.	Microcephaly, dolichocephaly; low-set ears; downslanting palpebral fissures, epicanthal folds, hypertelorism; flat nasal bridge, anteverted nostrils.	OMIM (616606) Ref. 2
Noonan Syndrome-like disorder with or without juvenile myelomonocytic leukemia	<i>CBL</i>	<i>Typical:</i> facial dysmorphism, cardiac disease, reduced growth, cognitive deficits, ectodermal/ musculoskeletal anomalies. <i>General:</i> CALS, lymphedema, thin skin; delayed psychomotor development; language delay; susceptibility to juvenile myelomonocytic leukemia; cubitus valgus, joint laxity; pectus excavatum, widely spaced nipples; cryptorchidism.	Thin hair; frontal bossing, triangular face, long philtrum; large ears, low-set ears; hypertelorism, ptosis, downslanting palpebral fissures; depressed nasal bridge, thick lips.	OMIM (613563)

CALS: Cafe-au-lait spots; OMIM: Online Mendelian Inheritance in Man; Ref.: Reference

REFERENCES

1. Lalor L, Davies OMT, Basel D, Siegel DH. Coffee with milk stains: when and how to search for their genetic origins. *Clin Dermatol* 2020;38(4):421-31.
2. Shah KN. The diagnostic and clinical significance of coffee with milk stains. *Pediatr Clin North Am* 2010;57(5):1131-53.
3. Anderson S. Café au Lait Macules and Associated Genetic Syndromes. *J Pediatr Health Care* 2020;34(1):71-81.
4. Hamm H, Emmerich K, Olk J. Pigmentierte Flecken als mögliche Frühzeichen genetischer Syndrome. *Der Hautarzt* 2019;70:506-13.
5. Oiso N, Fukai K, Kawada A, Suzuki T. Piebaldism. *J Dermatol* 2013;40:330-5.
6. Baxter LL, Pavan WJ. The etiology and molecular genetics of human pigmentation disorders. *Wiley Interdiscip Rev Dev Biol* 2013;2(3):379-92.
7. Cao H, Alrejaye N, Klein OD, Goodwin AF, Oberoi S. A review of craniofacial and dental findings of the RASopathies. *Orthod Craniofac Res* 2017;20(1):32-8.
8. Thomas AJ, Erickson CA. The making of a melanocyte: the specification of melanoblasts from the neural crest. *Pigment Cell Melanoma Res* 2008; 21:598–610.
9. Achilleos A, Trainor PA. Neural crest stem cells: discovery, properties and potential for therapy. *Cell Res* 2012;22(2):288-304.
10. Online Mendelian Inheritance in Man, OMIM®: authoritative compendium of human genes and genetic phenotypes. McKusick-Nathans Institute of Genetic Medicine, Johns Hopkins University (Baltimore, MD). Available at: <https://omim.org/>
11. Carvalho AA, Martelli DRB, Carvalho MFA, Swerts MSO, Martelli Júnior H. Cafe-au-lait spots as a clinical sign of syndromes. *Res Soc Dev* 2021;10(9): e14310917607.
12. Rauen KA. The RASopathies. *Annu Rev Genomics Hum Genet* 2013;14:355-69.
13. Garavelli L, Cordeddu V, Errico S, Bertolini P, Street ME, Rosato S, et al. Noonan syndrome-like disorder with loose anagen hair: a second case with neuroblastoma. *Am J Med Genet A* 2015;167A(8):1902-7.
14. Gürsoy S, Erçal D. Genetic Evaluation of Common Neurocutaneous Syndromes. *Pediatr Neurol* 2018;89:3-10.
15. Reith W. Phakomatosen. *Radiologe* 2013;53:1075-6.
16. Samara A, Gusman M, Aker L, Parsons MS, Mian AY, Eldaya RW. The Forgotten Phacomatoses: A Neuroimaging Review of Rare Neurocutaneous Disorders. *Curr Probl Diagn Radiol* 2021;S0363-0188(21)00135-3.
17. de Ribaupierre S, Vernet O, Vinchon M, Rilliet B. Phacomatoses et tumeurs génétiquement déterminées: la transition enfant-adulte [Phacomatosis and genetically determined tumors: the transition from childhood to adulthood]. *Neurochirurgie* 2008;54(5):642-53.

18. Schweitzer DN, Yano S, Earl DL, Graham JM Jr. Johnson-McMillin syndrome, a neuroectodermal syndrome with conductive hearing loss and microtia: report of a new case. *Am J Med Genet A* 2003;120A(3):400-5.
19. Teresa BG, Hernández-Gómez M, Frías S. DNA Damage as a Driver for Growth Delay: Chromosome Instability Syndromes with Intrauterine Growth Retardation. *BioMed Res* 2017; Article ID 8193892.
20. Butler MG. Genomic imprinting disorders in humans: a mini-review. *J Assist Reprod Genet* 2009;26(9-10):477-86.
21. Mulchandani S, Bhoi EJ, Luo M, Spinner NB, Krantz ID, Colin L, et al. Maternal uniparental disomy of chromosome 20: a novel imprinting disorder of growth failure. *Genet Med* 2016;18(4):309-15.
22. Sousa VC, Fonseca IM, Cordeiro A, Lopes MJP. Manifestações Cutâneas das Rasopatias. *Revista SPDV* 2017;75(1).
23. Santos ACE, Heck B, Camargo BD, Vargas FR. Prevalence of Café-au-Lait Spots in children with solid tumors. *Genet Mol Biol* 2016;39(2):232-38.
24. Zhang J, Li M, Yao Z. Molecular screening strategies for NF1-like syndromes with café-au-lait macules (Review). *Mol Med Rep* 2016;14(5):4023-29.
25. Tartaglia M, Gelb BD, Zenker M. Noonan syndrome and clinically related disorders. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab* 2011;25(1):161-79.
26. Plataras C, Christianakis E, Fostira F, Bourikis G, Chorti M, Bourikas D, et al. Case Report Asymptomatic Gastric Giant Polyp in a Boy with Peutz-Jeghers Syndrome Presented with Multiple Café Au Lait Traits. *Case Rep Surg* 2018; 2018:article ID 6895974.
27. Pinna R, Cocco F, Campus G, Conti G, Milia E, Sardella A, et al. Genetic and developmental disorders of the oral mucosa: Epidemiology; molecular mechanisms; diagnostic criteria; management. *Periodontol* 2000. 2019;80(1):12-27.
28. Lopes S, Vide J, Moreira E, Azevedo F. Cowden syndrome: clinical case and a brief review. *Dermatol Online J* 2017;23(8):13030/qt0023k3x0.
29. Schweitzer DN, Yano S, Earl DL, Graham JM Jr. Johnson-McMillin syndrome, a neuroectodermal syndrome with conductive hearing loss and microtia: report of a new case. *Am J Med Genet A* 2003;120A(3):400-5.
30. Cho EK, Kim J, Yang A, Ki CS, Lee, JE, Cho S, et al. Clinical and endocrine characteristics and genetic analysis of Korean children with McCune-Albright syndrome: A retrospective cohort study. *Orphanet J Rare Dis* 2016;11(1):113.
31. Børglum AD, Balslev T, Haagerup A, Birkebaek N, Binderup H, Kruse TA, et al. A new locus for Seckel syndrome on chromosome 18p11.31-q11.2. *Eur J Hum Genet* 2001; 9(10): 753-7.

32. Gordo G, Tenorio J, Arias P, Santos-Simarro F, García-Miñaur, Moreno JC, et al. mTOR mutations in Smith-Kingsmore syndrome: Four additional patients and a review. *Clinical Genetics* 2017; 93(4):762-75.

5.3 PRODUTO 3

Clinical Pediatrics

Clinical Pediatrics

A RARE LMNA MISSENSE MUTATION CAUSING A SEVERE PHENOTYPE OF MANDIBULOACRAL DYSPLASIA TYPE A – A CASE REPORT

Journal:	<i>Clinical Pediatrics</i>
Manuscript ID:	Draft
Manuscript Type:	Brief Report
Date Submitted by the Author:	n/a
Complete List of Authors:	Carvalho, Adriana; UNIMONTES, Machado, Renato; Universidade Estadual de Campinas Faculdade de Odontologia de Piracicaba, Santos, Luís Antonio; UNIMONTES Martelli, Daniella; UNIMONTES Coletta, Ricardo; School of Dentistry, State University of Campinas, Oral Diagnosis Martelli-Junior, Hercilio; Dental School, State University of Montes Claros, Stomatology Clinic
Specialties:	Genetics, General pediatrics

SCHOLARONE™
Manuscripts

<http://mc.manuscriptcentral.com/clp>

1
2
3
4
5 **A RARE LMNA MISSENSE MUTATION CAUSING A SEVERE PHENOTYPE OF**
6
7 **MANDIBULOACRAL DYSPLASIA TYPE A – A CASE REPORT**
8
9

10
11
12 Adriana Amaral Carvalho, MD, MS,^{1,2} Renato Assis Machado, DDS, PhD,³ Luís Antônio
13
14 Nogueira dos Santos, DDS, PhD,⁴ Daniella Reis Barbosa Martelli, DDS, PhD,⁴ Ricardo D. Coletta,
15
16 DDS, PhD,³ Hercilio Martelli Júnior, DDS, PhD.^{2,4}
17
18
19

20
21 ¹Medical School, State University of Montes Claros, Unimontes, Minas Gerais State, Brazil
22

23 ²Health Sciences Graduate Program, State University of Montes Claros, Unimontes, Minas Gerais
24
25 State, Brazil
26
27

28 ³Department of Oral Diagnosis, Dental School, University of Campinas, FOP-UNICAMP,
29
30 Piracicaba, São Paulo, Brazil
31
32

33 ⁴Oral Medicine and Oral Pathology, State University of Montes Claros, Unimontes, Minas Gerais
34
35 State, Brazil
36
37
38
39
40

41 **Corresponding Author:**
42

43 Adriana Amaral Carvalho, Medicine School, Unimontes.
44
45 Av. Professor Rui Braga, S/N – Vila Mauricéia, Montes Claros,
46
47 Minas Gerais, 39401-089, Brazil.
48

49 Email: adrianaamaral.carvalho@gmail.com
50
51
52
53
54
55
56
57
58
59
60

1
2
3
4
5
6
7
8
9
10
11
12
13
14
15
16
17
18
19
20
21
22
23
24
25
26
27
28
29
30
31
32
33
34
35
36
37
38
39
40
41
42
43
44
45
46
47
48
49
50
51
52
53
54
55
56
57
58
59
60

Submission declaration

This article has not been previously published, it is not under consideration for publication elsewhere, its publication has been approved by all authors and tacitly or explicitly by the responsible authorities where the work was carried out. If accepted, it will not be published elsewhere including digitally in the same form, in English or in any other language, without the written consent of the copyright-holder.

Conflicts of interest: none

Complete manuscript – 2,540 words

References – 13

Figures – 2

1
2
3
4
5
6
7
8
9
10
11
12
13
14
15
16
17
18
19
20
21
22
23
24
25
26
27
28
29
30
31
32
33
34
35
36
37
38
39
40
41
42
43
44
45
46
47
48
49
50
51
52
53
54
55
56
57
58
59
60

Abstract

Mandibuloacral dysplasia type A is a rare autosomal recessive disease caused by mutations in *LMNA*. It is characterized by craniofacial deformities, skeletal anomalies, skin alterations, lipodystrophy in certain regions of the body and premature ageing. This disease is included in a group of inherited disorders collectively known as laminopathies, more specifically as progeroid laminopathies. In this paper, we report a rare case of a young girl presenting a severe phenotype of mandibular dysplasia type A characterized by prominent osteolytic changes and ectodermal defects associated with a homozygous *LMNA* missense mutation (c.1579C>T), which was present in a heterozygous state in the consanguineous parents.

Keywords: Progeria; acro-osteolysis; lipodystrophy; mandibuloacral dysplasia; *LMNA*; case report

Introduction

Mandibuloacral dysplasia (MAD) is a genetic condition belonging to the category of laminopathies, that comprise the progeroid syndromes and lipodystrophies, in which MAD is included, as well as muscular dystrophies, cardiomyopathies and hereditary peripheral neuropathies.¹ It is a rare autosomal recessive disorder characterized by craniofacial anomalies, skeletal abnormalities including generalized osteoporosis, progressive osteolysis of the distal phalanges and clavicles, growth retardation, joint contractures, pigmentary and atrophic skin changes, lipodystrophy signs, and mildly accelerated ageing.²

Patients with MAD are categorized according to trends of lipodystrophy in types A and B, which are linked to different genetic defects. Mutations in *LMNA*, which encodes lamin A and C, are associated to type A pattern of lipodystrophy (MADA; OMIM #248370), and mutations on the zinc metalloproteinase *ZMPSTE24*, encoding a protease involved in post-translational proteolytic processing of prelamin A to form mature lamin A, are linked to type B lipodystrophy (MADB; OMIM #608612).^{3,4}

This study aims to report a 6-year-old girl with MADA presenting progeroid signs associated with osteolytic phenotypes, including mandibular hypoplasia with absence of the condyle, prominent osteolysis of the distal phalanges, and the presence of an amorphous mass replacing the clavicle, which were linked to a recessive *LMNA* mutation.

Clinical Report

The 6-year-old girl is the eldest of three children of a consanguineous couple. The family history is marked by marriage between close relatives. According family member' report, three other children belonging to the family were probably born with this syndrome and died in childhood, the oldest dying in early adolescence. The patient in this report was born full term, with a weight of 2.9 kg and a length of 50 cm, by vaginal delivery, and Apgar score of 8/9. In the neonatal period, she evolved with an ischemic stroke in the left middle cerebral artery with

1
2
3 hemorrhagic transformation probably associated to polycythemia (hematocrit = 69%). However,
4
5 it was not possible to define by imaging exams whether the alteration had occurred intrauterine or
6
7 postnatally. The child was followed up in a hematology service until the age of four, where tests
8
9 were carried out for hereditary thrombophilia and vasculitis.
10

11
12 Polymerase chain reaction analysis performed at 21 months of age evidenced the presence
13
14 of the factor V Leiden mutation in heterozygosis, an alteration that possibly contributed to the
15
16 stroke presented in the neonatal period. There were no mutations in the prothrombin gene, and low
17
18 levels of factor VIII were reported (39%). Antibody testing for anticardiolipin and lupus
19
20 anticoagulant, which may be associated with thrombosis, was negative, as well as the investigation
21
22 for systemic sclerosis, through the determination of anti-fibrillarlin, anticentromere, and anti-DNA
23
24 topoisomerase I antibodies. Tests to identify antinuclear antibodies (ANA), rheumatoid factor, and
25
26 C-reactive protein were normal. During the entire follow-up period, no specific medication was
27
28 indicated.
29
30
31

32
33 Regarding phenotypic changes, the patient at birth had a normal appearance but during the
34
35 first year of life mild abnormalities, such as hair loss and whitish lesions in the joints of the hands
36
37 at 4 months of age, and hyperchromic spots on the body at 6 months, appeared. She evolved with
38
39 normal developmental parameters, having acquired independent walking at 14 months. At two
40
41 years of age, she was evaluated at a public hospital and according to the medical report, the child
42
43 presented weight, height, and head circumference below the 3rd percentile, dysmorphic face
44
45 characterized by thin skin, sharp nose, hypoplastic malar region, prominent cranial veins, irregular
46
47 skin discoloration, shortage of subcutaneous fat, rigid finger joints, and fine hair with alopecia in
48
49 the occipital region, phenotypes commonly observed in and therefore suggestive of progeria
50
51 syndrome.
52
53

54
55 Laboratory tests performed, such as a screening for innate metabolism errors and organic
56
57 acidemias, transferrin isoelectric focusing, molecular examination for MELAS (mitochondrial
58
59 encephalomyopathy, lactic acidosis, and stroke-like episodes), karyotype, serum dosage of
60

1
2
3 thyroxine, thyroid stimulating hormone, aspartate aminotransferase and alanine aminotransferase
4
5 were all normal. Imaging exams revealed osteolysis of the distal phalanx (fingers and toes),
6
7 decreased bone density, deformity of the hip joints, hypoplasia of the head of the radius and
8
9 clavicles, widening of the sagittal sutures. Computed tomography (CT) of the brain showed an
10
11 area of frontoparietal and insular encephalomalacia in the left cerebral hemisphere, a sequel to the
12
13 stroke that occurred in the neonatal period.
14
15

16
17 The patient displayed progressive clinical worsening. At four years of age, after a trauma
18
19 in both knees after falling to the ground (without fractures), the joints were fixed in a flexible
20
21 position, and she was unable to walk anymore. At six years of age, when we first saw the patient,
22
23 the child had the following dysmorphic signs: subtotal alopecia, dysmorphic facies with prominent
24
25 eyes, marked micrognathia and retrognathia, small beaked nose, teeth crowding and thin lips
26
27 (Figure 1-A,B,C), generalized lipodystrophy, narrow and sloping shoulders, generalized joint
28
29 stiffness (Figure 1-D), and bone reabsorption in the terminal phalanges (Figure 1-E,F).
30
31

32
33 In dermatological examination, atrophic skin, loss of cutaneous elasticity, hyperkeratosis,
34
35 dermal calcinosis, and hyperpigmented and hypochromic patches were observed (Figure 1-D to
36
37 G). Diffuse gingivitis with bleeding and presence of significant crowding of the teeth (presence of
38
39 deciduous and permanent teeth) were observed. The marked microretrognathia and glossoptosis,
40
41 causing significant upper airway obstruction, culminated in the placement of a tracheostomy. The
42
43 CT scan of the facial bones allowed the detection of hypoplasia of the mandible branch, with
44
45 agenesis of the condyles bilaterally and teeth crowding (Figure 2-A).
46
47

48
49 Further radiographic exams revealed clavicles bilaterally absent with the presence of local
50
51 amorphous bone mass confluent with the scapulae (fused acromioclavicular joints) (Figure 2-B),
52
53 humerus and shoulder joints with subluxation and major bone dysplasia (Figure 2-C), hip dysplasia
54
55 (Figure 2-D,E), significant osteopenia, and subcutaneous calcifications (Figure 2-E,F). Chest
56
57 tomography performed to assess the coronary calcium score was within normal values.
58
59
60

1
2
3 Complete hemogram, renal and liver function tests, serum glucose, parathormone levels,
4 calcium, phosphorus, alkaline phosphatase and 25-hydroxy-vitamin D were within normal limits.
5
6 High levels of cholesterol (191 mg/dl, normal range: < 150 mg/dl) were detected, and serum lipid
7
8 profiles showed an increase in low density lipoprotein cholesterol (102 mg/dl, normal range: <
9
10 100 mg/dl).
11
12

13
14 The genomic DNA isolated from oral epithelial cells was amplified by PCR with primers
15
16 designed to all exons and flanking intronic regions of *LMNA* and *ZMPSTE24* described
17
18 (<http://www.hgmd.cf.ac.uk/ac/all.php>, Supplementary Table 1). After amplification, PCR
19
20 products were cleaned up and sequenced with a BigDye Terminator v3.1 Cycle Sequencing kit
21
22 (Applied Biosystems, Foster City, CA, USA). The sequences were analyzed with a 3500 Genetic
23
24 Analyzer (Applied Biosystems, Foster City, CA, USA). The genetic analysis detected the mutation
25
26 c.1579C>T, p. R527C in the exon 9 of *LMNA*, compatible with the diagnosis of MADA. The
27
28 analysis of the patient's parents confirmed the recessive transmission of the c.1579C> T mutation
29
30 in exon 9 of the *LMNA* gene (Figure 2-G).
31
32
33
34
35
36
37
38

39 Discussion

40 The medical records, clinical features, and genetic analysis in which the mutation
41
42 c.1579C>T (p.R527C) in exon 9 of *LMNA* gene was evidenced drove to the diagnosis of MADA.
43
44 The progeroid laminopathies are characterized by premature ageing, and include Hutchinson-
45
46 Gilford progeria (HGPS, OMIM #176670), MADA (OMIM #248370), MADB (OMIM #608612),
47
48 Nestor-Guillermo progeria syndrome (NGPS, OMIM #614008),⁵ and restrictive dermopathy
49
50 (OMIM #275210). These diseases can be linked to *LMNA* mutations, as occur in HGPS and
51
52 MADA, or can be linked to mutations in genes encoding a zinc methallo-proteinase necessary for
53
54 correct processing of prelamin A for mature form lamin A,^{4,5} such as *ZMPSTE24*, which is mutated
55
56 in MADB and restrictive dermopathy, and *BANFI*, mutated in the NGPS.⁶
57
58
59
60

1
2
3
4
5
6
7
8
9
10
11
12
13
14
15
16
17
18
19
20
21
22
23
24
25
26
27
28
29
30
31
32
33
34
35
36
37
38
39
40
41
42
43
44
45
46
47
48
49
50
51
52
53
54
55
56
57
58
59
60

HGPS is the classic type of progeroid laminopathy and was the diagnosis initially established for the patient of this report. It represents the most widely studied condition in this group of disorders and comprises the most important differential diagnosis.⁷ Interestingly, while bone, skin, and adipose tissue are severely affected in all forms of *LMNA*-linked progeria, the cardiovascular system is selectively involved in the HGPS pathology. Atherosclerosis is the most important clinical manifestation, considering that this is the cause of premature death in these patients from myocardial infarction or stroke, in early adolescence.⁸ Our patient was submitted to a chest tomography to assess the coronary calcium score, which was within normal values.

Pronounced acro-osteolysis is a signature symptom of MAD, which made the diagnosis of HGPS in our patient less likely. Typical MADA is caused by the p.R527H mutation in the *LMNA* gene, while other MADA mutations are responsible for different phenotypes.⁷ Regarding the phenotype, patients with mutations in the *LMNA* gene usually have distinguished features compared to MADB with *ZMPSTER* mutations, which include more severity of clinical phenotypes, early onset, renal disease, calcified skin nodules, premature birth and lack of acanthosis nigricans in the MADB type.^{3,4} Thus, a milder and slowly progressing general phenotype is usually expected in MADA.

Nevertheless, the phenotype observed in our patient was more severe than that commonly reported to MADA patients. The c.1579C>T mutation found was first described by Agarwal (2008), who reported the case of a 7-year-old girl with MAD and severe progeroid features and lipodystrophy. The clinical alterations highlighted by him that denote the precocity of onset and severity of the phenotype associated with these mutation correspond to a poor growth already apparent at 1 year of age; joint stiffness, skin thinning, and mottled hyperpigmentation developed at the age of 15 months; bird face with beak nose, bulbous cheeks, and very small mouth with limited opening capacity seen at 2 years of age; progressive clavicular hypoplasia, acro-osteolysis and severe hair loss in the temporal and occipital areas described at 3 years of age; difficulty swallowing and severe snoring with obstructive apnea; very crowded teeth; lipodystrophy

1
2
3 described by Liang had a homozygous R527C mutation. The presence of ECG abnormalities
4 suggesting myocardial ischemia evidenced in the older patient is a commonly expected finding in
5 patients with HGPS. However, the intense osteolysis present at an early age in both siblings is a
6 sign of MAD. In addition, the presence of full cheeks observed in your patients was also a finding
7 contrary to what is expected for typical HGPS, as the authors themselves reported in their study.
8 An important consideration in the differential diagnosis of these syndromes is the presence of
9 severe mandibular hypoplasia. However, this author did not report in his study whether the patients
10 had this change.
11
12
13
14
15
16
17
18
19
20

21 The same mutation described by Agarwal (2008) and Liang (2009) was found by Luo in
22 2014 in three Chinese sisters. He also reports that the phenotype of the patients described was
23 more severe than those previously reported in MADA patients. As a manifestation not previously
24 described for patients with this mutation, there was the possibility of associated muscle damage in
25 two of the sisters, based on the increase in phosphocreatinase and an altered electromyography
26 result observed.
27
28
29
30
31
32
33
34
35
36
37
38

39 Conclusion

40 This study led to the identification of unusual homozygous mutation in the *LMNA* gene,
41 which contributes to the pathogenicity of MADA. This is the fourth family identified with this
42 mutation described in the literature. The clinical manifestations observed so far in patients
43 described with the c.1579C> T mutation have been a more severe phenotype, with an earlier age
44 of onset of osteolysis, alopecia and lipodystrophy. Given the importance and multiple functions of
45 lamin A and lamin C in maintaining the structure and function of the cell nucleus, it would be
46 expected that mutations in the *LMNA* gene can cause various types of genetic disorders, with
47 different phenotypes. Thus, we have that mutations at different locations of these gene can cause
48 different laminopathies, and even mutations at the same site, but with different amino acid
49 substitutions, can induce great clinical heterogeneity.
50
51
52
53
54
55
56
57
58
59
60

1
2
3
4
5
6
7
8
9
10
11
12
13
14
15
16
17
18
19
20
21
22
23
24
25
26
27
28
29
30
31
32
33
34
35
36
37
38
39
40
41
42
43
44
45
46
47
48
49
50
51
52
53
54
55
56
57
58
59
60

Acknowledgments

To the Minas Gerais State Research Foundation – Fapemig, Brazil and to the National Council for Scientific and Technological Development – CNPq, Brazil

Funding Statements

No funding was received.

Conflicts of Interest/Competing Interests

The authors declare that the research was conducted in the absence of any commercial or financial relationships that could lead to a potential conflict of interest.

Editorial Policies and Ethical Considerations

The child's parents (patient's legal representatives) were verbally informed, in a clear, pertinent and sufficient manner, about all aspects inherent to the scientific publication of the case, such as the objective, methodology, justification, benefits, discomforts, and possible damages, and signed a physical copy of the Informed Consent Form. The study was approved by the ethics review board of each of the University of Montes Claros affiliated with the collaborative study (approval number 46996421.6.0000.5146).

Author contributions

RDC and HMJ conceptualized and designed the study. AAC and RAM collected data, carried out the initial analyses, drafted the initial manuscript, and reviewed. LANS and DRBM revised the manuscript. All authors approved the final manuscript as submitted and agree to be accountable for all aspects of the work.

References

1. Worman HJ. Nuclear lamins and laminopathies. *Journal of Pathology*. 2012;226:316-325.
2. Cenni V, D'Apice MR, Garagnani P, et al. Mandibuloacral dysplasia: A premature ageing disease with aspects of physiological ageing. *Ageing Research Reviews*. 2018;42:1-13.
3. Luo DQ, Wang XZ, Meng Y, et al. Mandibuloacral dysplasia type A-associated progeria caused by homozygous LMNA mutation in a family from Southern China. *BMC Pediatr*. 2014;14:256.
4. Agarwal AK, Fryns JP, Auchus RJ, et al. Zinc metalloproteinase, ZMPSTE24, is mutated in mandibuloacral dysplasia. *Human Molecular Genetics*. 2003;12:1995-2001.
5. Alarcón PI, Mujica I, Sanz P, Garcia CJ, Gilgenkrantz S. Mandibuloacral dysplasia with type B lipodystrophy in a patient from Chile. *American Journal of Medical Genetics*. 2019; 179(6):893-895.
6. Cabanillas R, Cadiñanos J, Villameytide JAF, et al. Nestor–Guillermo Progeria Syndrome: A Novel Premature Aging Condition with Early Onset and Chronic Development Caused by BANF1 Mutations. *American Journal of Medical Genetics*. 2011;155A:2617-25.
7. Garavelli L, D'Apice MR, Rivieri F, et al. Mandibuloacral dysplasia type A in childhood. *American Journal of Medical Genetics*. 2009;149A:2258-64.
8. Hamczyk MR, Villa-Bellosta R, Quesada V, et al. Progerin accelerates atherosclerosis by inducing endoplasmic reticulum stress in vascular smooth muscle cells. *EMBO Molecular Medicine*. 2019;11:e9736.
9. Agarwal AK, Kazachkova I, Ten S, et al. Severe Mandibuloacral Dysplasia-Associated Lipodystrophy and Progeria in a Young Girl with a Novel Homozygous Arg527Cys LMNA Mutation. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*. 2008;93:4617-4623.
10. Simha V, Garg A. Body fat distribution and metabolic derangements in patients with familial partial lipodystrophy associated with mandibuloacral dysplasia. *The Journal of Clinical Endocrinology & metabolism*. 2002;87(2):776–785.

1
2
3
4
5
6
7
8
9
10
11
12
13
14
15
16
17
18
19
20
21
22
23
24
25
26
27
28
29
30
31
32
33
34
35
36
37
38
39
40
41
42
43
44
45
46
47
48
49
50
51
52
53
54
55
56
57
58
59
60

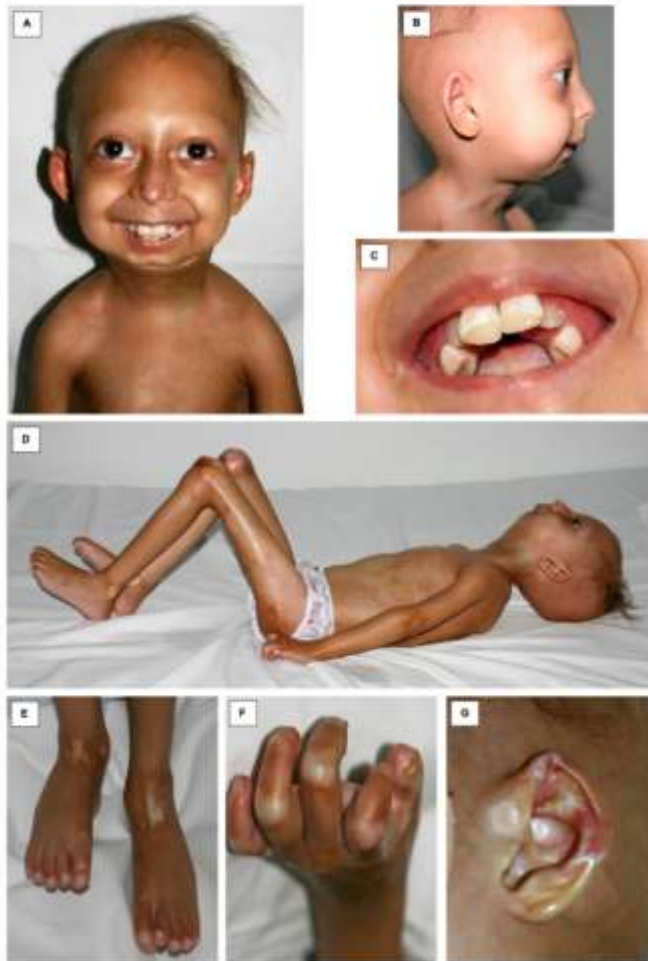
11. Finegold DF. Factors Affecting Gene Expression. *MSD Manual – Professional Version*. Last full review/revision Jul 2021| Content last modified Jul 2021.
12. Li M, Liu G-H, Belmont JCI. Navigating the epigenetic landscape of pluripotent stem cells. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*. 2012;13(8):524-535.
13. Liang L, Zhang H, Gu X. Homozygous LMNA mutation R527C in atypical Hutchinson-Gilford progeria syndrome: evidence for autosomal recessive inheritance. *Acta Paediatrica*. 2009, 98:1365–1368.

Figure Legends

Figure 1. Patient pictures (A - Frontal and B - lateral view of the patient, with dysmorphic signs: subtotal alopecia, prominent eyes, marked micrognathia and retrognathia, small beaked nose; C – Image show thin lips and teeth crowding; D - full body view of the patient, with generalized joint stiffness with abnormal posture and decreased mobility; E to G - dermatological changes of the patient, with hypochromic patches, bone reabsorption in the terminal phalanges and dysplastic nails).

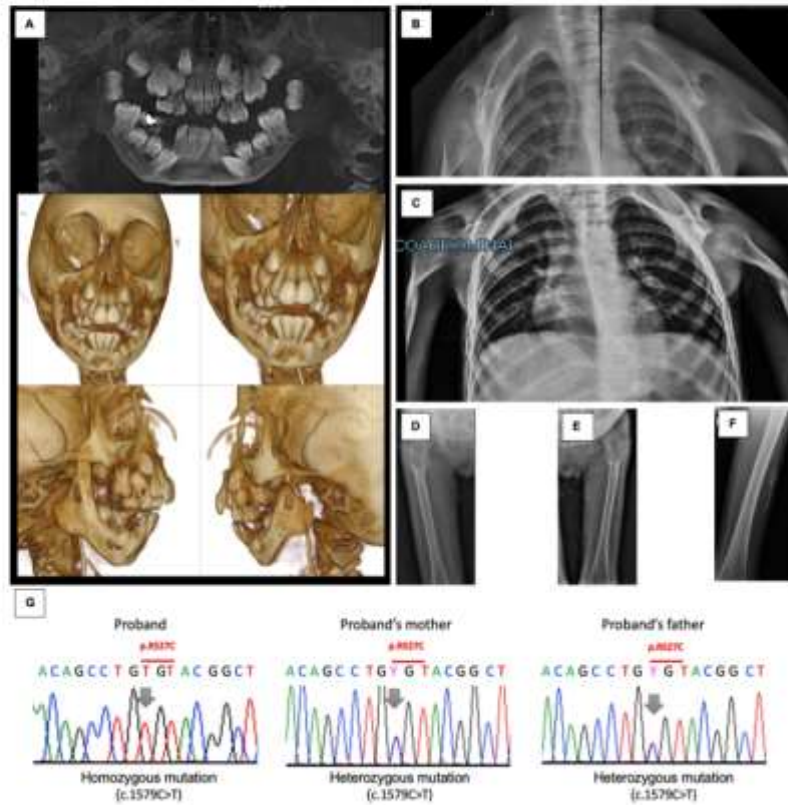
Figure 2. Exams result (A - cone-beam computed tomography images: hypoplasia of the mandible branch, with agenesis of the condyles bilaterally and teeth crowding; B - radiographic findings: clavicle absent, with the presence of local amorphous bone mass confluent with the scapulae, C - humerus and shoulder joints with subluxation and major bone dysplasia; D - high hip dysplasia; E - Left hip dysplasia; F - significant osteopenia and subcutaneous calcification; G - Sequencing of the patient's genetic material and their parents).

1
2
3
4
5
6
7
8
9
10
11
12
13
14
15
16
17
18
19
20
21
22
23
24
25
26
27
28
29
30
31
32
33
34
35
36
37
38
39
40
41
42
43
44
45
46
47
48
49
50
51
52
53
54
55
56
57
58
59
60



244x353mm (118 x 118 DPI)

1
2
3
4
5
6
7
8
9
10
11
12
13
14
15
16
17
18
19
20
21
22
23
24
25
26
27
28
29
30
31
32
33
34
35
36
37
38
39
40
41
42
43
44
45
46
47
48
49
50
51
52
53
54
55
56
57
58
59
60



256x263mm (118 x 118 DPI)

Supplementary Table I. Primers of *LMNA* and *ZMPSTE24* exons and splicing junctions.

Gene	Primer	Product length	°C*
<i>LMNA</i>			
Exon 9	F: GGGCCTTTGAGCAAGATACA R: GCAACAGAGAGCTCTAGAAAGG	507	60
	F1: TGGAAGTTAGACAGTGAGGATTG R1: TAGGGAGGAGAGAGAAGAAAGG		
Exon 10	F2: CAGAGTCAGAGTCACTGCTCTG R2: CTGCAGGATTTGGAGACAAAG	551	60
	F3: CCTGTAGAACTAGGAGGGACTA R3: GGGACCGAAGCAATCAAGA		
<i>ZMPSTE24</i>			
Exon 1	F2: GTGGCAAGCTATAAACCATTTCG R2: ATTCTGGGACTTGTAAGTGTGG	338	60
Exon 2	F3: CCTTCTTTCTTTATACCATGCTTTCTC R3: CCAAGGACTATGCAAACAGAGAG		
Exon 3	F6: GTACTATTTGGGCTGGGAATAC R6: GGTAAACTCCTAGCCTTTAAATAAC	438	60
Exon 6	F7: TCTAGGAGTCTCTCCAAAGGAC R7: GGTGATCTCTCCTAAATACCAGAAC		
Exon 7	F8: TGAAGGGCTATTACTGGGTTAAA R8: CTCTCATGCCTGCCATAGTT	252	60
Exon 8	F9: GTTAGCCAGGATGGTCTCAATC R9: TCTAGATTTGAAGCAGGCAAGAG		
Exon 9	F10: TCCTCTTATCCCAAGCCAAAC R10: TGCTGCCAGGACAGAAATAA	383	60
Exon 10			

*Annealing temperature

5.4 PRODUTO 4



Congenital hypertrophy of the retinal pigment epithelium as a phenotypic marker for familial adenomatous polyposis

Hipertrofia congênita do epitélio pigmentar da retina como um marcador fenotípico para polipose adenomatosa familiar

Congenital hypertrophy of the retinal pigment epithelium as a phenotypic marker for familial adenomatous polyposis

Hipertrofia congênita do epitélio pigmentar da retina como um marcador fenotípico para polipose adenomatosa familiar

Adriana Amaral Carvalho^{1,2}, Thaísa Soares Crespo², Luciano Sólida Násser⁴, Célia Márcia Fernandes Maia¹, Cláudia de Alvarenga Diniz Fonseca², Christine Mendes Silveira², Juliana Bastos Amaral⁴, Daniella Reis Barbosa Martelli³, Hercílio Martelli Júnior^{1,3}

¹Postgraduate Program in Health Sciences, State University of Montes Claros, Unimontes, MG, Brazil.

²Medical School, State University of Montes Claros, Unimontes, MG, Brazil.

³Dental School, State University of Montes Claros, Unimontes, MG, Brazil.

⁴Ophthalmologist Private Eye Clinic Luciano Násser, Montes Claros, MG, Brazil.

Corresponding author: Adriana Amaral Carvalho, Medical School, Unimontes

Av. Professor Rui Braga, S/N – Vila Mauricéia, Montes Claros, Minas Gerais, 39401-089, Brazil. Phone: +55-38-99102 7101 E-mail: adrianaamaral.carvalho@gmail.com

Funding: This study received no specific financial support

Approved by the following research ethics committee: State University of Montes Claros (CAAE: 97635318.6.0000.5146).

Disclosure of potential conflicts of interest: None of the authors have any potential conflicts of interest to disclose

ABSTRACT

Objective: The objective of the present study was to investigate the presence of CHRPE lesions in patients diagnosed with FAP and their first-degree relatives and to describe the pattern of distribution and characteristics of the lesions found.

Methods: Starting from a proband with FAP, a large family consisting of 95 individuals was evaluated. By random allocation, 45 members were investigated for CHRPE. Patients underwent funduscopy exam including slit lamp and indirect ophthalmoscopy. In those with retinal lesions, an electroretinogram was performed.

Results: The presence of CHRPE was observed in 13 (29%) individuals investigated. Of them, 7 have a confirmed diagnosis of FAP by colonoscopy and 6 did not undergo colonoscopy. Of the 32 family members with a negative result, 8 had the diagnosis of FAP excluded by colonoscopy and in the remaining 24 patients, colonoscopy had not yet been performed (13 of them were children). Regarding shape, all lesions were oval, except for punctate lesions. Bilaterality and fish tail depigmentation at one margin of the lesion was observed in all patients. Multiple lesions were also a characteristic found in most of them.

Conclusions: The study carried out highlighted the value of CHRPE as a phenotypic marker for FAP and as an effective first-line screening method for at-risk family members of FAP patients who are CHRPE-positive. As an occasional finding in a routine evaluation, characteristics in the presentation of the lesions such as bilaterality, oval shape and the fish tail depigmentation at one margin of the lesion qualify CHRPE as a specific phenotypic marker for FAP and should guide the ophthalmologist for diagnostic suspicion of FAP.

Keywords: CHRPE, familial adenomatous polyposis, hereditary colorectal cancer, triagem, extracolonic manifestation.

RESUMO

Objetivo: O objetivo do presente estudo foi investigar a presença de lesões CHRPE em pacientes com diagnóstico de PAF e seus familiares de primeiro grau e descrever o padrão de distribuição e as características das lesões encontradas.

Métodos: A partir de um probando com PAF, avaliou-se uma grande família composta por 95 indivíduos. Por alocação aleatória, 45 membros foram investigados para CHRPE. Os pacientes foram submetidos a exame fundoscópico incluindo lâmpada de fenda e oftalmoscopia indireta. Naqueles com lesões retinianas, o eletroretinograma foi realizado.

Resultados: A presença de CHRPE foi observada em 13 (29%) indivíduos investigados. Destes, 7 têm diagnóstico de PAF confirmado por colonoscopia e 6 não realizaram colonoscopia. Dos 32 familiares com resultado negativo, 8 tiveram o diagnóstico de PAF excluído pela colonoscopia e nos 24 pacientes restantes a colonoscopia ainda não havia sido realizada (13 deles eram crianças). Quanto à forma, todas as lesões eram ovais, exceto àquelas em ponto. Bilateralidade e despigmentação em cauda de peixe em uma margem da lesão foram observadas em todos os pacientes. Lesões múltiplas também foi uma característica encontrada na maioria deles.

Conclusões: O estudo realizado evidenciou o valor de CHRPE como marcador fenotípico da PAF e como método eficaz de triagem de primeira linha para familiares em risco de pacientes com PAF que são CHRPE-positivos. Como achado ocasional em uma avaliação de rotina, características na apresentação das lesões como bilateralidade, formato oval e despigmentação da cauda de peixe em uma margem da lesão qualificam CHRPE como marcador fenotípico específico para PAF e devem guiar o oftalmologista para a suspeita diagnóstica da FAP.

Descritores: CHRPE, polipose adenomatosa familiar, câncer colorretal hereditário, screening, manifestação extracolônica.

INTRODUCTION

Congenital hypertrophy of the retinal pigment epithelium (CHRPE) is a darkly pigmented lesion in the retina, often surrounded by a halo of depigmentation, which can occur on the general population at a prevalence of approximately 1,2 to 4,4% without any clinical significance⁽¹⁻³⁾. These lesions tend to be unilateral in 98% of the cases^(4,5). Histologically, they arise as tall retinal pigment epithelial cells filled with large hypertrophic melanosomes. Clinically they appear as flat and darkly pigmented lesions with well-delineated smooth borders, which can occur as an isolated or multifocal lesion, in the latter case appearing as multiple lesions grouped in a quadrant on fundus examination, resembling an animal paw or footprint and therefore commonly referred to as “bear tracks”⁽⁵⁾.

Important differential diagnosis when pigmented lesions of the retinal pigment epithelium are seen in a fundoscopic examination is the hereditary disorder called familial adenomatous polyposis (FAP; OMIM# 175100), a cancer predisposition syndrome characterized in its classic form by the presence of thousands of adenomatous colorectal polyps typically seen during the second decade of life, which can progress to cancer during early adulthood^(3,6). Although the pigmented ocular fundus lesions found in patients with FAP are also referred to as CHRPE, the lesion seen in these patients have different histological and clinical characteristics. Histologically, they represent benign hamartomas malformations of the retinal pigment epithelium. Clinically, the lesions are typically bilateral and haphazardly distributed, smaller and more ovoid and have a jagged edge, with a characteristic area of depigmentation at one edge of the lesion in the shape of a comma or fish-tail⁽⁵⁾.

In an effort to correctly differentiate the pigmented fundus lesions in FAP from those originally called CHRPE, Shields et al (2008) suggested calling these lesions by the name “Retinal pigment epithelium hamartomas associated with familial adenomatous polyposis” (RPEH-FAP)⁽⁷⁾. Recently, Bonnet et al used the term “FAP-associated CHRPE” to refer to

FAP-associated fundus lesions, as they recognized that this nomenclature more accurately correlates with genetics, histopathology, and clinical presentation of the lesions⁽⁸⁾. However, these lesions found in patients with FAP are still referred to as CHRPE in the literature^(7,9).

Classic FAP is an autosomal dominant condition with 100% penetrance, whose pathogenesis is linked to germline mutations in the adenomatous polyposis coli (*APC*) gene located on chromosome 5q21-22. The *APC* gene provides instructions for the production of the *APC* protein, which acts as a tumor suppressor, preventing cells from growing and dividing too quickly or uncontrollably, playing a critical role in several cellular processes⁽¹⁰⁾. Attenuated familial adenomatous polyposis (AFAP; OMIM# 175100) is a milder phenotypic variant of FAP in which patients have fewer polyps (<100) on colonoscopy⁽¹⁰⁾. In addition to the numerous adenomatous polyps in the large intestine, most FAP patients have several extracolonic manifestations, which can include polyps in the upper digestive tract such as stomach and duodenum, small intestine, thyroid, adrenals, pancreas and even the pituitary; epidermal inclusion cysts, sebaceous cysts, lipomas; dental abnormalities; retinal pigmentary lesions; endocrine, central nervous system and liver tumors; adenomas and adenocarcinoma in the biliary tree and duodenal papilla, desmoid tumors and osteomas⁽⁹⁾.

The aim of this study was to investigate the presence of CHRPE lesions in patients diagnosed with FAP and their first-degree relatives belonging to a large Brazilian family and to describe the pattern of distribution and characteristics of the lesions found, helping to clarify their diagnostic value for FAP and importance as a phenotypical screening marker of FAP in at-risk family members. The presence of other extra-colonic manifestations was also evaluated based on information from the personal health history and complete physical examination.

METHODS

An epidemiological study was conducted. The proband patient with FAP was referred to the study by a gastrointestinal surgeon from the research group. Five generations of the family (comprising a total of 95 members) in the northern region of Minas Gerais State, Brazil, were analyzed. The study was carried out from December 2018 to April 2022. Family health history information was collected and the pedigree charts was constructed (Figure 1). The father died of colon cancer at 55 years old and was probably the carrier of the affected gene, and was unaware of being a carrier of the genetic condition. The index case belongs to generation II and discovered the disease after the diagnosis of colorectal cancer, associated with the finding of several polyps in the colon.

During the development of the research, the opportunity to perform screening colonoscopy was made available to all family members. The definition of individuals to undergo the exam was random, according to their availability and/or desire to perform it. Age below 12 years was adopted as an exclusion criterion, a restriction imposed by the health establishment where the aforementioned exams were performed. A total of 11 subjects underwent colonoscopy. If polyps were found in the colon, upper endoscopy was also performed to look for polyps in the stomach and duodenum. The diagnosis of FAP was established based on the result of colonoscopy with finding of more than 100 polyps in the colon and a histological report confirming adenomatous polyps.

All family members were invited to undergo the ophthalmological evaluation, regardless of whether or not they had a confirmed diagnosis of FAP. No age limit criteria were established. The selection of individuals who would be submitted to the ophthalmological examination occurred at random, according to the availability and desire (or not) of each person (or guardian) to carry out the evaluation, without any interference from the researchers.

A total of 45 individuals were examined for the presence of CHRPE. All patients underwent a fundoscopic examination performed by an ophthalmologist including slit lamp and indirect (90 and 20 diopter lenses, respectively) ophthalmoscopy after pupil dilatation using 1% tropicamide. Evaluation of visual acuity was also performed in all subjects. Characteristics such as number, location in the retina, shape of the lesions and laterality (or not) were evaluated and described in the medical records by the ophthalmologist who performed the examination.

In individuals with retinal lesions, fundus photographs on the multifocal electroretinogram (MF-ERG) were taken in all cases. The MF-ERG results were analyzed by the same ophthalmologist and the characteristics of the lesions were described and compared with the findings on fundoscopic examination.

Anamnesis and clinical examination of the patients by a general practitioner and specific examination of the oral cavity by a dentist were also performed on the date of the ophthalmologic evaluation in search of extracolonic manifestations of FAP, other than CHRPE. Among these manifestations, the focus in the clinical evaluation was given to the investigation of cystic, tumoral or pigmented lesions in the skin, tissue elevations on the face and oral cavity that may suggest osteoma and dental anomalies.

The study was approved by the research ethics committee of the State University of Montes Claros (CAAE: 97635318.6.0000.5146).

RESULTS

Among the 11 subjects who underwent colonoscopy during the study, 3 were diagnosed with FAP. Another 13 individuals in the family had previously undergone colonoscopy and 9 of them were diagnosed with FAP.

Regarding the ophthalmological evaluation, a total of 45 (47.4%) individuals among the 95 family members belonging to five generations were submitted to the evaluation. The presence of CHRPE was observed in 13 of the 45 (29%) individuals investigated, of which 7 had a confirmed diagnosis of FAP and 6 did not undergo colonoscopy, therefore without a confirmed diagnosis of the disease. In relation to the other 32 (71%) individuals in whom the retina evaluation was negative for the presence of CHRPE, in 8 of them the diagnosis of FAP was excluded after normal colonoscopy and in the remaining 24 patients, the colonoscopy had not yet been performed (13 of them were children).

When focusing on the characteristics of the lesions observed, in all individuals the lesions were bilateral. The number of lesions found in each eye ranged from 1 to 4 in the right eye and from 1 to 3 in the left eye, and when considering the total number of lesions in the 2 eyes together, this number ranged from 2 to 6 lesions, regardless of age. The size of the lesions varied from punctate (dot lesions) (Figure 3) to lesions with a size equivalent to 0.25 to 4 disk diameters (DD). As for the shape, they were all oval, except for the dot lesions. Fish-tail depigmentation at one margin of the lesion was observed in all patients (Figure 4). Both hyperpigmented and hypopigmented halos were seen in some of the CHRPE lesions and variation in pigmentation within the lesions was observed. In 1 patient, computed tomography (CT) had to be performed to differentiate the CHRPE-type lesion from a melanoma (Figure 5).

Among the extracolonic manifestations, osteoma was identified in 4 patients, isolated café-au-lait spots in 8 patients and epidermal cysts in 2 patients. Ophthalmoscopic abnormality characteristic of papilledema was identified in 1 patient, whose magnetic resonance (MRI)

immediately requested showed hydrocephalus. Endoscopic ventriculostomy was performed. No tumor-associated lesions were observed on MRI or during the surgical procedure, which is why the presence of a brain tumor associated with FAP (Turcot Syndrome)⁽¹¹⁾ was excluded. This patient is being carefully monitored.

DISCUSSION

FAP is responsible for about 1% of the cases of colorectal cancer (CCR). Despite the low representation of FAP alone as a cause of CCR, the lifetime risk of colorectal cancer (CRC) in left untreated patients approaches 100%⁽¹⁰⁾. CRC in these patients occurs at a mean age of 44 years⁽¹²⁾. Premature death in an *APC* mutation carrier can be prevented by prophylactic proctocolectomy before malignancy develops. However, symptoms of FAP may only appear when the disease is advanced. Furthermore, these may be non-specific^(13,14). Thus, individuals who do not have an index case in the family that triggers screening of relatives will rarely have a diagnosis of the disease before the onset of symptoms⁽¹⁴⁾, which ends up compromising the prognosis.

The family evaluated in this study had a clinical course consistent with these findings. Among 9 affected patients diagnosed with FAP by colonoscopy performed in the middle adulthood, all of them had no gastrointestinal symptoms until one or two years before diagnosis, with the onset of symptoms thus coinciding with the finding of extensive polypoid disease on colonoscopy or the presence of cancer, and intestinal bleeding being the main symptom in these cases (Figure 2). Other 3 teenage siblings who underwent colonoscopy during the present study were diagnosed with extensive polypoid disease at an early age, at 12, 14 and 17 years of age. Despite diffuse polyposis on colonoscopy, they had no significant symptoms related to intestinal involvement, except for occasional abdominal pain and episodes of diarrhea after feeding reported by the elder adolescent. In view of the advanced alterations, colectomy was indicated for the three adolescents, having been performed in 2 of them shortly after the colonoscopy, at 14 and 18 years old, respectively.

Since early diagnosis is essential for a satisfactory clinical evolution of patients with FAP, the evaluation of potential non-invasive and early phenotypic markers of the disease is of great clinical importance. Among the extracolonic manifestations, CHRPE is the most

considered phenotypic marker for use as screening. Its evaluation performed by ophthalmologic examination is easy to perform, safe (non-invasive method), relatively low cost, can be repeated periodically and is well accepted by patients, being less stigmatizing when compared to colonoscopy⁽¹⁾.

As a counterpoint, we have that CHRPE may not be present in all patients with FAP, since its manifestation is linked to mutations in some specific codons of the *APC* gene⁽¹⁵⁾. Nevertheless, the reported overall prevalence of CHRPE in individuals with the *APC* gene mutation has been as high as 90%^(15,16). Even so, to date, a negative evaluation of CHRPE in an individual does not exempt him from further investigation, through colonoscopy or genetic study⁽⁸⁾.

On the other hand, when considering CHRPE-positive families, the investigation of these lesions has proved to be an interesting method for screening family members at risk. The positive predictive value of CHRPE lesions in these at-risk family members was described as 100%⁽⁴⁾. In our study, despite the limited number of CHRPE-positive patients with confirmed disease, retinal lesions were found in all these patients. Likewise, in the 8 patients in whom FAP was excluded by normal colonoscopy, CHRPE lesions were absent.

Taking into account the children evaluated by funduscopy for research purposes, the retinal alteration was identified in a child with only 1 month of age, which is in agreement with the report by Rehan that in FAP patients CHRPE occurs in up to 80% of cases at birth or shortly thereafter⁽¹⁵⁾.

Regarding the characteristics of the lesions, particularities observed in all CHRPE-positive individuals evaluated in the study, such as bilaterality⁽⁸⁾ and presence of fish-tail depigmentation on one of the lesion margins, are described in patients with FAP and not in those CHRPE lesions that occurs sporadically in the general population, which confirms the clinical importance of this findings for the diagnostic suspicion of FAP, as evidenced in this

study. In addition, the presence of multiple lesions (cumulative total ≥ 3 in one or both eyes)^(15,17) and the lesion size⁽¹⁵⁾, with at least one lesion larger than 0.3 times the area of the optic disk⁽⁴⁾, are characteristics also described as significant for FAP that were observed in most of the patients evaluated in the study.

Another important pattern refers to the location of the FAP-associated CHRPE lesions in the retina. In a systematic literature review conducted by Bonnet et al, they described that, overall, 84% of the lesions are located in the retinal periphery, against to 16% within the posterior pole⁽⁸⁾. In line with these findings, in all CHRPE-positive patients in this study the lesions were located in the middle periphery or far periphery retina. Thus, no lesions were found in the posterior pole. Therefore, it seems that none of the lesions in these patients would be found if only a standard ophthalmologic evaluation had been performed, without a wide-field image of the retina^(18,19). This emphasizes the importance of discussing the inclusion of extended retinal assessment in the routine ophthalmologic consultation.

Regarding the finding of osteomas in the research patients, three individuals reported previous removal of the lesion (in 2 of them the lesion was on the face, and in another on the hard palate) and none of them was advised about the possibility of any associated systemic disease. In this context, as significant as the progress in performing genetic tests on these patients is the need to disseminate scientific knowledge among health professionals so that patients do not miss a unique opportunity, in many situations, to have a timely diagnosis and preventive treatment for your illness.

Another applicability of the finding of CHRPE in patients with FAP is to direct the investigation by genetic tests. In the literature, the presence of CHRPE has been associated with mutations between codon 463 and codon 1387^(8,15). The presence of osteomas (observed in some research patients) was described as associated with mutations in codons 767 to 1578⁽²⁰⁾. Considering that the retinal alteration was present in all patients with FAP in the study and that

osteomas were observed in some of them, it can be predicted that the mutation in this family is likely to be found between codons 767 to 1387.

CONCLUSION

The study performed confirmed the value of CHRPE lesions as a phenotypic marker for FAP and as an effective first-line screening method for at-risk family members of FAP patients who are CHRPE-positive. It allows an early diagnosis of FAP enabling appropriate management and timely prophylactic treatment for these patients.

As an occasional finding in a routine ophthalmologic evaluation, characteristics of lesions such as bilateralism, multiple oval shape and fish-tail depigmentation present at one of the lesion margins increase the specificity of CHRPE lesions for FAP and should guide the ophthalmologist for the probable diagnosis of FAP.

The location of the lesions in the peripheral retina reinforces the need to advancing the discussion to include an expanded assessment of the fundus of the eye in the routine ophthalmologic evaluation, which may allow the diagnosis of several systemic diseases, including FAP, with obvious benefits for patients.

REFERENCE

1. Nusliha A, Dalpatadu U, Amarasinghe B, Chandrasinghe PC, Deen KI. Congenital hypertrophy of retinal pigment epithelium (CHRPE) in patients with familial adenomatous polyposis (FAP); a polyposis registry experience. *BMC Research Notes*. 2014;7:734-7.
2. Coleman P, Barnard NA. Congenital hypertrophy of the retinal pigment epithelium: prevalence and ocular features in the optometric population. *Ophthalmic Physiol Opt*. 2007;27(6):547-55.
3. Mirinezhad SK, Mousavi F, Baghri M, Sepehri B, Ghavidel A, Ghojzadeh M, et al. Congenital Hypertrophy of Retinal Pigment Epithelium for Diagnosis of Familial Adenomatous Polyposis - the First FAP registry in Iran. *Asian Pac J Cancer Prev*. 2017;19(1):167-169.
4. Turet A, Parc C. Fundus lesions of adenomatous polyposis. *Curr Opin Ophthalmol*. 1999;10(3):168-72.
5. Liu EM, Rothman RJ. More Than Meets the Eye. *EyeNet*. 2015.
6. Cruz-Correa M, Giardiello FM. Familial adenomatous polyposis. *Gastrointest Endosc*. 2003;58(6):885-94.
7. Shields JA, Shields CL. Tumors and Related Lesions of the Pigmented Epithelium. *Asia Pac J Ophthalmol (Phila)*. 2017 Mar-Apr;6(2):215-223. doi: 10.22608/APO.201705. PMID: 28399346.
8. Bonnet LA, Conway RM, Lim LA. Congenital Hypertrophy of the Retinal Pigment Epithelium (CHRPE) as a Screening Marker for Familial Adenomatous Polyposis (FAP): Systematic Literature Review and Screening Recommendations. *Clin Ophthalmol*. 2022 Mar 15;16:765-774. doi: 10.2147/OPHTH.S354761. PMID: 35321042; PMCID: PMC8934868.

9. Campos FG, Habr-Gama A, Kiss DR, Atuí FC, Katayama F, Gama-Rodrigues J. Extracolonic manifestations of familial adenomatous polyposis: incidence and impact on the disease outcome. *Arq Gastroenterol.* 2003;40(2):92-8.
10. Talseth-Palmer B. The genetic basis of colonic adenomatous polyposis syndromes. *Hered Cancer Clin Pract.* 2017;15: 5.
11. Khattab A, Monga DK. Turcot Syndrome. [Updated 2021 Jul 2]. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2022. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK534782/>
12. Potter JD. Colorectal cancer: molecules and populations. *J Natl Cancer Inst.* 1999;91(11):916-32.
13. Familial Adenomatous Polyposis | Johns Hopkins Medicine. Available from: <https://www.hopkinsmedicine.org/health/conditions-and-diseases/familial-adenomatous-polyposis>.
14. Croner RS, Brueckl WM, Reingruber B, Hohenberger W, Guenther K. Age and manifestation related symptoms in familial adenomatous polyposis. *BMC Cancer.* 2005;5(24). Available from: <https://doi.org/10.1186/1471-2407-5-24>
15. Rehan S, Aye K. In patients with a positive family history of familial adenomatous polyposis can the condition be diagnosed from the presence of congenital hypertrophy of the retinal pigment epithelium detected. Via an eye examination: A systematic review. *Clin Experiment Ophthalmol.* 2020;48(1):98-116.
16. Wallis YL, Macdonald F, Hulten M, et al. Genotype phenotype correlation between position of constitutional APC gene mutation and CHRPE expressed in FAP. *Hum Gen.* 1994;94:543-548.

17. Touriño R, Conde-Freire R, Cabezas-Agrícola JM, Rodríguez-Aves T, López-Valladares MJ, Otero-Cepeda JL, Capeans C. Value of the congenital hypertrophy of the retinal pigment epithelium in the diagnosis of familial adenomatous polyposis. *Int Ophthalmol*. 2004 Mar;25(2):101-12. doi: 10.1023/b:inte.0000031739.62559.ac. PMID: 15290889.
18. Quinn N, Csincsik L, Flynn E, Curcio CA, Kiss S, Sadda AR, et al. The clinical relevance of visualising the peripheral retina. *Prog Retin Eye Res*. 2019;68:83-109.
19. Venters SJ, Mikawa T, Hyer J. Central and peripheral retina arise through distinct developmental paths. *PloS One*. 2013;8(4):e61422.
20. Groen EJ, Roos A, Muntinghe FL, Enting RH, Vries J, Kleibeuker JH, et al. Extra-Intestinal Manifestations of Familial Adenomatous Polyposis. *Ann Surg Oncol*. 2008;15(9):2439-50.

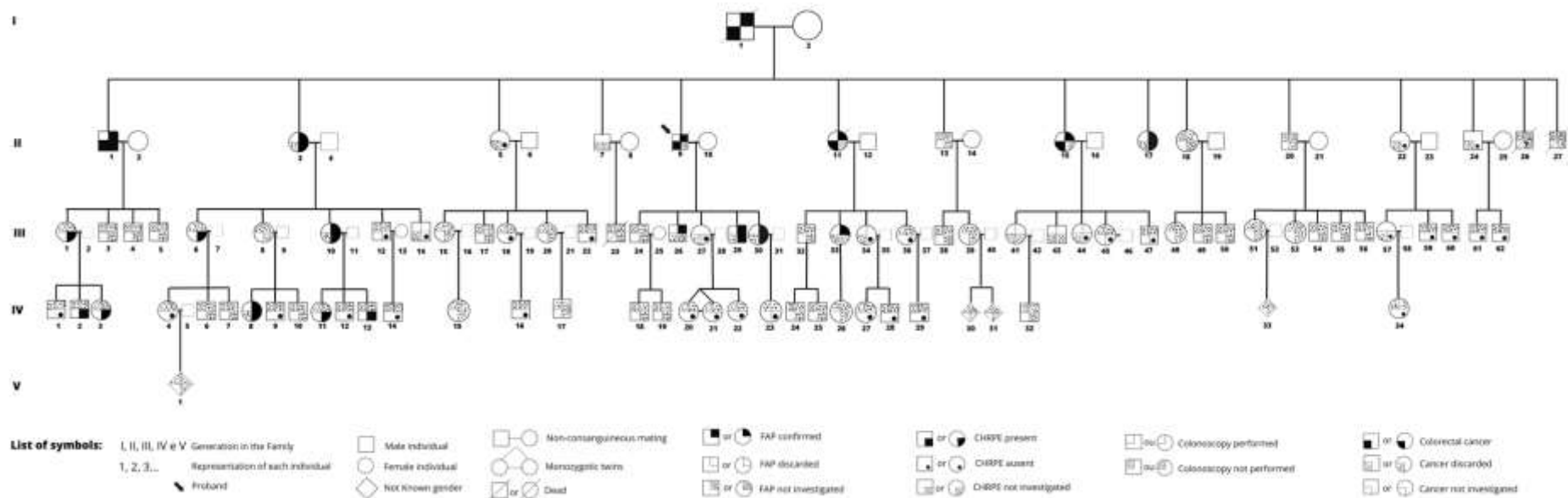


Figure 1. Family pedigree with FAP. A five-generation family consisting of 95 members from the north of Minas Gerais, Brazil, was recruited in the present study. The black arrow denotes the proband. In total, 13 (out of 25 investigated) family members with a confirmed diagnosis of familial adenomatous polyposis. CHRPE was investigated in 45 individuals, and was found to be present in 13 of them. The square (male) and circle (female) symbols were divided into 4 quadrants, each representing a defined situation: FAP carrier (or not, or not investigated); presence of CHRPE lesion (or not, or not investigated); colorectal cancer (or not, or not investigated); colonoscopy performed (or not). Symbols with diagonal lines, represent deceased.



Figure 2. Surgical specimen from a patient with FAP belonging to the family studied after total colectomy - thousands of polyps in the colon (patient III-10 in the family pedigree)

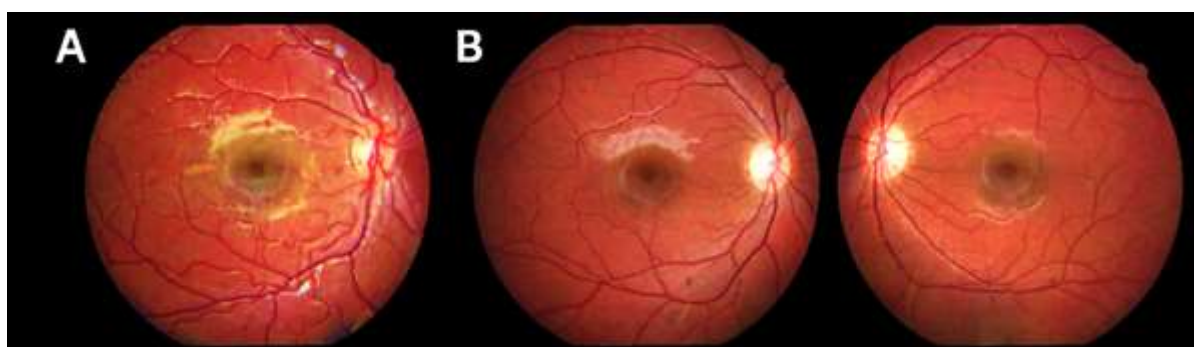


Figure 3. Fundus photographic images on the multifocal electroretinogram of patients evaluated in the research. A - normal retinal fundus image. B - punctual CHRPE lesions in both eyes (dot lesions) (patient IV-2 in the family pedigree).

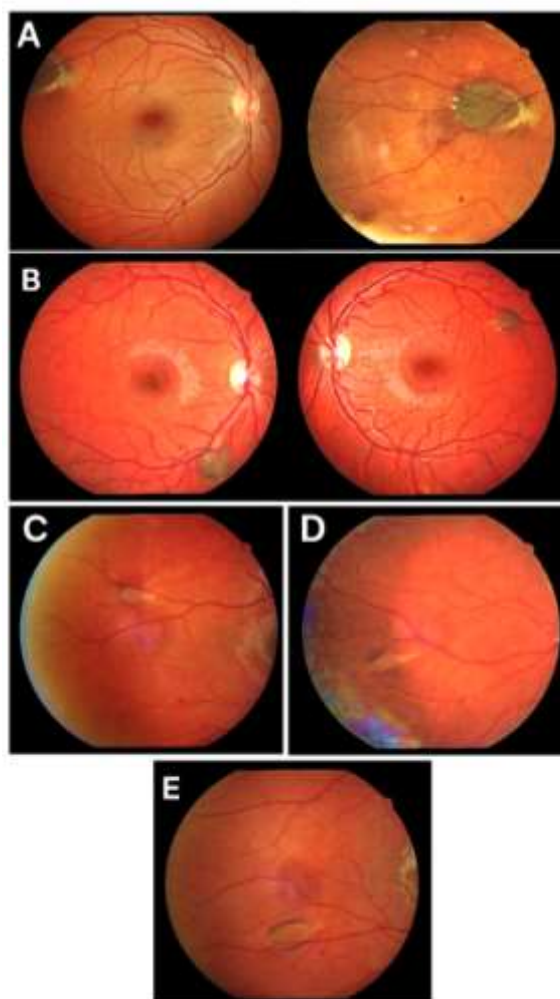


Figure 4. Fundus photographic images on the multifocal electroretinogram of patients evaluated in the research. A, B — hyperpigmented CHRPE lesions with fish-tail depigmentation at one margin of the lesion (patients II-17, IV-13 in the family pedigree). C, D - hypopigmented CHRPE lesions with fish-tail depigmentation at one margin of the lesion (patients III-1, IV-2 in the family pedigree). E - hypopigmented CHRPE lesion with fish-tail depigmentation at one margin of the lesion and hyperpigmented halo (patients IV-13 in the family pedigree).

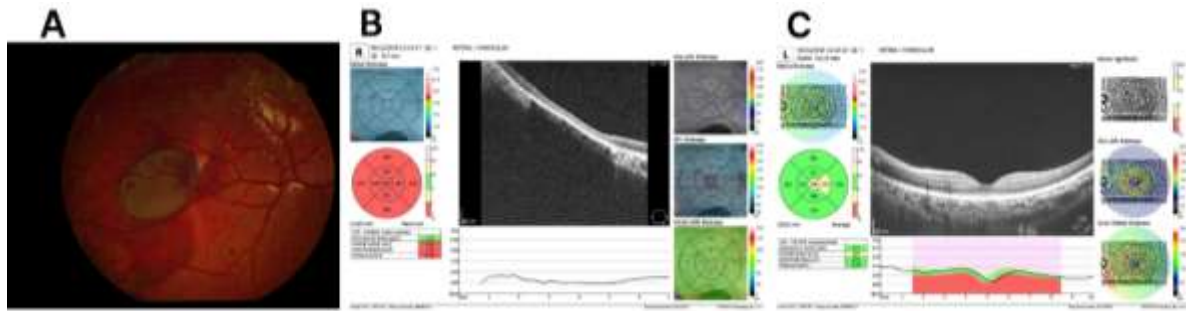


Figure 5. Fundus photographic image on the multifocal electroretinogram of a research patient (patient III-30 in the family pedigree). A, B - large hyperpigmented lesion on the periphery of the retina requiring a differential diagnosis with melanoma (view from two different angles). C - Image of the computed tomography lesion performed on the same patient.

6 CONCLUSÕES

Após a realização do presente estudo, e de acordo com os objetivos específicos propostos, pôde-se concluir que:

1. A presença de mancha café-com-leite ao exame físico de um paciente deve ser um sinal clínico de alerta para a presença de determinadas síndromes genéticas. Em pacientes apresentando alterações congênitas craniofaciais e/ou orodentais, o achado de manchas café-com-leite como parte do fenótipo pode sugerir o diagnóstico clínico específico de uma síndrome genética, ou mesmo direcionar a análise molecular.
2. O achado de alterações progeróides em idade precoce da vida, deve sempre ser valorizado e investigado. Análise molecular direcionada (a partir da suspeita clínica) objetivando diagnóstico específico é muito importante, considerando que as doenças do grupo podem apresentar manifestações clínicas similares e superpostas, apesar de tratamento e prognóstico diferentes.
3. O estudo realizado destacou o valor da pesquisa da hipertrofia congênita do epitélio pigmentar da retina (CHRPE) na triagem de familiares de pacientes com polipose adenomatosa familiar que são CHRPE-positivo. Como achado ocasional em uma avaliação de rotina, características observadas em todas as lesões (exceto nas lesões pigmentadas em “ponto”), como a forma ovalada e a despigmentação em forma de cauda de peixe presente em uma das margens da lesão, constituem importante marcador clínico e devem orientar o oftalmologista para o diagnóstico provável de polipose adenomatosa familiar.

7 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os resultados dos estudos realizados evidenciaram a relevância de se explorar o fenótipo, e todo seu potencial, no diagnóstico de síndromes genéticas raras.

Apesar dos avanços científicos e tecnológicos dos últimos anos, a prática clínica, em alguns momentos, deve se reportar às suas origens, ou ao menos não se distanciar delas, e ser pautada em suas premissas, o método clínico de conhecer e intervir na realidade: “estudar para examinar, examinar para diagnosticar, diagnosticar para tratar”. Realizar a avaliação completa do paciente, com todos os seus significados. A principal vertente das ciências da saúde é e deve prosseguir sendo a humanitária e não a técnica, nem a econômica.

8 REFERÊNCIAS

1. Porcionatto MA. Projeto Genoma Humano: Uma Leitura Atenta do Livro da Vida? *Circumscribere: International Journal for the History of Science*. 2007;2: 51-63.
2. Shendure J, Findlay GM, Snyder MW. Genomic Medicine-Progress, Pitfalls, and Promise. *Cell*. 2019;177(1): 45-57. doi:10.1016/j.cell.2019.02.003
3. Almeida LP, Pimentel CP. A vida do livro e o livro da vida: escrita, leitura e biotecnologias. *Revista Psicologia, Universidade Federal Fluminense*. 2017;29(3): 239-51. doi: 10.22409/1984-0292/v29i3/1389
4. Góes ACS, Oliveira BVX. Projeto Genoma Humano: um retrato da construção do conhecimento científico sob a ótica da revista *Ciência Hoje*. *Ciênc Educ*. 2014;20(3) doi: 10.1590/1516-73132014000300004
5. Oliveira BVX. Ecos Deterministas na Divulgação Científica: um retrato do Projeto Genoma Humano na revista *Ciência Hoje* [Monografia - Curso de Licenciatura Plena em Ciências Biológicas]. Rio de Janeiro (RJ): Instituto de Biologia Roberto Alcântara Gomes da Universidade do Estado do Rio de Janeiro; 2011.
6. Viana MM. Contribuição do fenótipo para o diagnóstico de síndromes de microdeleções por meio de metodologia adequada à realidade brasileira [tese]. Minas Gerais: Universidade Federal de Minas Gerais, Faculdade de Medicina; 2013. Doutorado em Saúde da Criança e do Adolescente.
7. Raskin S. “Doenças raras representam importante causa de mortalidade em crianças de até 5 anos”. Sociedade Brasileira de Pediatria (SBP). 2021 fev 11. Disponível em: <https://www.sbp.com.br/imprensa/detalhe/nid/doencas>
8. Iriart JAB. Medicina de precisão/medicina personalizada: análise crítica dos movimentos de transformação da biomedicina no início do século XX. *Cad Saúde Pública*, 2019;35(3). doi: 10.1590/0102-311X00153118
9. Hamm H, Emmerich K, Olk J. Pigmentierte Flecken als mögliche Frühzeichen genetischer Syndrome. *Hautarzt*. 2019;70: 506-13. doi: 10.1007/s00105-019-4416-6
10. Shah KN. The Diagnostic and Clinical Significance of Café-au-lait Macules. *Pediatr Clin North Am*. 2010;57(5): 1131-53. doi: 10.1016/j.pcl.2010.07.002
11. Fistarol SK, Itin PH. Disorders of pigmentation. *J Dtsch Dermatol Ges*. 2010;8(3): 187-201. doi: 10.1111/j.1610-0387.2009.07137.x
12. Anderson S. Café au Lait Macules and Associated Genetic Syndromes. *J Pediatr Health Care*. 2020;34(1): 71-81. doi: 10.1016/j.pedhc.2019.05.001
13. Santos ACE, Heck B, Camargo B, Vargas FR. Prevalence of Café-au-Lait Spots in children with solid tumors. *Genet Mol Biol*. 2016;39(2): 232-8. doi:10.1590/1678-4685-GMB-2015-0024

14. Baxter LL, Pavan WJ. The etiology and molecular genetics of human pigmentation disorders. *Wiley Interdiscip Rev Dev Bio.* 2013;2(3): 379-92. doi: 10.1002/wdev.72
15. Cichorek M, Wachulska M, Stasiewicz A, Tymińska A. Skin melanocytes: biology and development. *Postepy Dermatol Alergol.* 2013;30(1): 30-41. doi: [10.5114/pdia.2013.33376](https://doi.org/10.5114/pdia.2013.33376)
16. Oiso N, Fukai K, Kawada A, Suzuki T. Piebaldism. *J Dermat.* 2013;40(5): 330-5. doi: 10.1111/j.1346-8138.2012.01583.x
17. Zhang J, Li M, Yao Z. Molecular screening strategies for NF1-like syndromes with café-au-lait macules (Review). *Mol Med Rep.* 2016;14: 4023-9. doi: 10.3892/mmr.2016.5760
18. Tajan M, Paccoud R, Branka S, Edouard T, Yart A. The RASopathy Family: Consequences of Germline Activation of the RAS/MAPK Pathway. *Endocr Rev.* 2018;39(5): 676-700. doi: 10.1210/er.2017-00232
19. Cao H, Alrejaye N, Klein OD, Goodwin AF, Oberoi S. A review of craniofacial and dental findings of the RASopathies. *Orthod Craniofac Res.* 2017;20(1): 32-8. doi: 10.1111/ocr.12144
20. Reith W. Phakomatosen. *Radiologe.* 2013;53: 1075-6. doi: 10.1007/s00117-013-2532-3
21. Martin GM. Genetic syndromes in man with potential relevance to the pathobiology of aging. *Birth Defects Orig Artic Ser.* 1978;14(1): 5-39. PMID: **147113**
22. Hennekam RCM. Pathophysiology of premature aging characteristics in Mendelian progeroid disorders. *Eur J Med Genet.* Agosto 2020b;63(11): 104028. doi: 10.1016/j.ejmg.2020.104028
23. Hennekam RCM. The external phenotype of aging. *Eur J Med Genet.* Julho 2020a;63(11): 103995. doi: 10.1016/j.ejmg.2020.103995
24. Winter, R.M., Baraitser, M., 1987. The London Dysmorphology database. *J. Med. Genet.* 24, 509–510.
25. Online Mendelian Inheritance in Man, OMIM®: authoritative compendium of human genes and genetic phenotypes. McKusick-Nathans Institute of Genetic Medicine, Johns Hopkins University (Baltimore, MD). Available at: <https://omim.org/>
26. Carrero D, Soria-Valles C, Lopez-Otin C. Hallmarks of progeroid syndromes: lessons from mice and reprogrammed cells. *Dis Models Mech.* 2016; 9: 719–35. doi: [10.1242/dmm.024711](https://doi.org/10.1242/dmm.024711)
27. Foo MXR, Ong PF, Dreesen O. Premature aging syndromes: From patients to mechanism. *J Dermatol Sci.* 2019; 96(2): 58-65. doi: 10.1016/j.jdermsci.2019.10.003

28. Gargiuli C, Schena E, Mattioli E, Columbaro M, D'Apice MR, Novelli G, et al. Lamins and bone disorders: current understanding and perspectives. *Oncotarget*. 2018; 9(32): 22817-31. doi: 10.18632/oncotarget.25071
29. Camozzi D, Capanni C, Cenni V, Mattioli E, Columbaro M, Squarzone S, et al. Diverse lamin-dependent mechanisms interact to control chromatin dynamics. Focus on laminopathies. *Nucleus*. 2014; 5(5): 427-40. doi: 10.4161/nucl.36289
30. 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: 261-4. doi: 10.1038/nature21382
31. Zhironkina OA, Kurchashova SY, Pozharskaia VA, Cherepanynets VD, Strelkova OS, Hozak P, et al. Mechanisms of nuclear lamina growth in interphase. *Histochem Cell Biol*. 2016; 145(4): 41932. doi: 10.1007/s00418-016-1419-6
32. Shimi T, Pflieger K, Kojima S, Pack C, Solovei I, Goldman AE, et al. The A- and B-type nuclear lamin networks: microdomains involved in chromatin organization and transcription. *Genes Dev*. 2008;22: 3409-21. doi:10.1101/gad.1735208
33. Evangelisti C, Cenni V, Lattanzi G. Potential therapeutic effects of the MTOR inhibitors for preventing ageing and progeria-related disorders. *Br J Clin Pharmacol*. 2016; 82: 1229-44. doi: 10.1111/bcp.12928
34. Shevelyov YY, Ulianov SV. *Review* The Nuclear Lamina as an Organizer of Chromosome Architecture. *Cells*. 2019; 8(2):136. doi:10.3390/cells8020136
35. Worman HJ. Nuclear lamins and laminopathies. *J Pathol*. 2012;226(2): 316-25. doi: 10.1002/path.2999
36. Lin F, Worman HJ. Structural organization of the human gene (LMNB1) encoding nuclear lamin B1. *Genomics*. 1995;27: 230-36. doi: 10.1006/geno.1995.1036
37. Cabanillas R, Cadiñanos J, Villameytide JA, Pérez M, Longo J, Richard JM, et al. Néstor-Guillermo progeria syndrome: a novel premature aging condition with early onset and chronic development caused by BANF1 mutations. *Am J Med Genet A*. 2011;155A(11): 2617-25. doi: 10.1002/ajmg.a.34249
38. Bikkul MU, Clements CS, Godwin LS, Goldberg MW, Kill IR, Bridger JM. Farnesyltransferase inhibitor and rapamycin correct aberrant genome organisation and decrease DNA damage respectively, in Hutchinson-Gilford progeria syndrome fibroblasts. *Biogerontology*. 2018;19(6): 579-602. doi: 10.1007/s10522-018-9758-4

39. Ziskind MJ, Kotze MJ, Grobbelaar JJ. The relationship between congenital hypertrophy of the retinal pigment epithelium (CHRPE) and germline mutations in the adenomatous polyposis coli (APC) gene. *Ophthalmic Genet.* 1999;20(1): 53-6. doi: 10.1076/opge.20.1.53.2295
40. Blair NP and Trempe CL. Hypertrophy of the retinal pigment epithelium associated with Gardners syndrome. *Am J Ophthalmol.* 1980;90: 661–67. doi: 10.1016/s0002-9394(14)75133-5
41. Coleman P, Barnard NA. Congenital hypertrophy of the retinal pigment epithelium: prevalence and ocular features in the optometric population. *Ophthalmic Physiol Opt.* 2007;27(6): 547-55. doi: 10.1111/j.1475-1313.2007.00513.x
42. Liu EM and Rothman RJ. More Than Meets the Eye. *Eyenet.* 2015;53-4.
43. Buettner H. Congenital hypertrophy of the retinal pigment epithelium. *Am J Ophthalmol.* 1975;79: 177-89. doi: 10.1016/s0161-6420(90)32464-8
44. Nusliha A, Dalpatadu U, Amarasinghe B, Chandrasinghe PC, Deen KI. Congenital hypertrophy of retinal pigment epithelium (CHRPE) in patients with familial adenomatous polyposis (FAP); a polyposis registry experience. *BMC Res Notes.* 2014;7: 734. doi: 10.1186/1756-0500-7-734
45. Pereira JAB, Camarota IS. Atrofia essencial da íris associada à hipertrofia congênita do epitélio pigmentar da retina. *Ver Bras Oftalmol.* 2011; 70 (3):185-7.
46. Rehan S, Aye K. In patients with a positive family history of familial adenomatous polyposis can the condition be diagnosed from the presence of congenital hypertrophy of the retinal pigment epithelium detected via an eye examination: A systematic review. *Clin Exp Ophthalmol.* 2020;48(1): 98-116. doi: 10.1111/ceo.13643.
47. Touriño R, Conde-Freire R, Cabezas-Agrícola JM, Rodríguez-Aves T, López-Valladares MJ, Otero-Cepeda JL, et al. Value of the congenital hypertrophy of the retinal pigment epithelium in the diagnosis of familial adenomatous polyposis. *Int Ophthalmol.* 2004;25(2): 101-12. doi: [10.1023/b:inte.0000031739.62559.ac](https://doi.org/10.1023/b:inte.0000031739.62559.ac)
48. Talseth-Palmer B. The genetic basis of colonic adenomatous polyposis syndromes. *Hered Cancer Clin Pract.* 2017;15: 5. doi 10.1186/s13053-017-0065-x
49. D'Elia G, Caliendo G, Casamassimi A, Cioffi M, Molinari AM, Vietri MT. *APC* and *MUTYH* Analysis in FAP Patients: A Novel Mutation in *APC* Gene and Genotype-Phenotype Correlation. *Genes.* 2018;9(7): 322. doi: 10.3390/genes9070322
50. The UMD-APC Mutations Database. Disponível em: <http://www.umd.be/APC/> (acessado em 12 Dez. 2021).
51. Pang M, Liu Y, Hou X, Yang J, He X, Hou N, et al. A novel APC mutation identified in a large Chinese family with familial adenomatous polyposis and a brief literature review. *Mol Med Rep.* 2018;18: 1423-32. doi: 10.3892/mmr.2018.9130

52. Lister Hill National Center for Biomedical Communications, U.S. National Library of Medicine, National Institutes of Health and Department of Health & Human Services. APC gene. Genetics Home Reference - Your Guide to Understanding Genetic Conditions. Last reviewed: March 2013. Last updated: August 2020. <https://ghr.nlm.nih.gov/gene/APC>
53. Kheirelseid EAH, Miller N, Kerin MJ. Molecular biology of colorectal cancer: Review of the literature. *Am J Mol Biol.* 2013;(3): 72-80. doi: [10.4236/ajmb.2013.32010](https://doi.org/10.4236/ajmb.2013.32010)
54. Mirinezhad SK, Mousavi F, Baghri M, Sepehri B, Ghavidel A, Ghojzadeh M, et al. Congenital Hypertrophy of Retinal Pigment Epithelium for Diagnosis of Familial Adenomatous Polyposis - the First FAP registry in Iran. *Asian Pac J Cancer Prev.* 2018;19(1): 167-69. doi:10.22034/APJCP.2018.19.1.167
55. Fearon ER. Molecular genetics of colorectal cancer. *Annu Rev Pathol.* 2011;6:479-507. doi: [10.1146/annurev-pathol-011110-130235](https://doi.org/10.1146/annurev-pathol-011110-130235)
56. Knudsen AL, Bisgaard ML, Bulow S. Attenuated familial adenomatous polyposis (AFAP). A review of the literature. *Fam Cancer.* 2003;2(1): 43-55. doi: [10.1023/a:1023286520725](https://doi.org/10.1023/a:1023286520725)
57. Campos FGCM. Polipose Adenomatosa Familiar – Bases do Diagnóstico, Tratamento e Vigilância. Sociedade Brasileira de Coprologia. 1ª ed. Brasil: Yendis; 2010. 424 p.
58. Nieuwenhuis MH, Vasen HFA. Correlations between mutation site in APC and phenotype of familial adenomatous polyposis (FAP): A review of the literature. *Crit Rev Oncol Hematol.* 2007;61: 153-61. doi: [10.1016/j.critrevonc.2006.07.004](https://doi.org/10.1016/j.critrevonc.2006.07.004)
59. Campos FG, Habr-Gama A, Kiss DR, Atui FC, Katayama F, Gama-Rodrigues J. Extracolonic manifestations of familial adenomatous polyposis: incidence and impact on the disease outcome. *Arq Gastro enterol.* 2003;40(2): 92-8. doi: [10.1590/s0004-28032003000200006](https://doi.org/10.1590/s0004-28032003000200006)
60. Groen EJ, Roos A, Muntinghe FL, Enting RH, Vries J, Kleibeuker JH, et al. Extra-Intestinal Manifestations of Familial Adenomatous Polyposis. *Ann Surg Oncol.* 2008;15(9): 2439-50. doi:10.1245/s10434-008-9981-3

APÊNDICES

APÊNDICE A– Termo de Consentimento Livre e Esclarecido



UNIVERSIDADE ESTADUAL DE MONTES CLAROS

PRÓ-REITORIA DE PESQUISA



CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

PARA PARTICIPAÇÃO EM PESQUISA

Título da pesquisa: Polipose adenomatosa familiar: avaliação fenotípica e genotípica em famílias brasileiras.

Instituição promotora: Universidade Estadual de Montes Claros/MG.

Patrocinador: Próprios pesquisadores

Coordenador: Prof. Hercílio Martelli Júnior

Atenção:

Antes de aceitar participar desta pesquisa, é importante que você leia e compreenda a seguinte explicação sobre os procedimentos propostos. Esta declaração descreve o objetivo, metodologia/procedimentos, benefícios, riscos, desconfortos e precauções do estudo. Também descreve os procedimentos alternativos que estão disponíveis a você e o seu direito de sair do estudo a qualquer momento. Nenhuma garantia ou promessa pode ser feita sobre os resultados do estudo.

1- Objetivo: avaliar a possível correlação entre a apresentação clínica e as alterações genéticas em famílias com Polipose Adenomatosa Familiar.

2- Metodologia/procedimentos: pretendemos realizar um estudo onde serão avaliados pacientes diagnosticados com Polipose Adenomatosa Familiar e familiares afetados e não afetados. Todos os pacientes e familiares serão entrevistados, examinados, submetidos a exames propedêuticos e, posteriormente, à análise genética. A presença da doença e a sua associação com câncer colorretal serão avaliadas por colonoscopia e exame anatomopatológico. As manifestações extra-colônicas serão avaliadas pelos seguintes exames complementares: tomografia de abdome total, endoscopia digestiva, ultrassom de tireoide, tomografia de crânio, radiografia de crânio, mandíbula e de ossos da face, exame de fundo de olho. A investigação genética será realizada mediante a coleta de amostras de saliva dos participantes da pesquisa.

3- Justificativa: a Polipose Adenomatosa do Cólon têm representado um importante foco de investigação e estudo, pela sua relevância no desenvolvimento de câncer colorretal e pelo seu potencial preventivo. Diagnóstico precoce dos indivíduos afetados, seguido da realização de exames de rastreamento e colectomia profilática é a recomendação terapêutica para prevenção do câncer colorretal. Buscaremos, com este estudo, identificar possíveis marcadores diagnósticos precoces da doença, com grande impacto na evolução da doença nos pacientes acometidos, o que denota a importância social do estudo. Ressaltamos, ainda, a relevância científica do presente estudo ao caracterizar o perfil genético de famílias brasileiras acometidas por esta doença.

4- Benefícios: como benefício social desta pesquisa, salientamos a possibilidade de identificação de marcadores diagnósticos precoces da doença, o que teria grande impacto na evolução da doença nos pacientes acometidos. Este objetivo da pesquisa visa contribuir para mudança no cenário atual da doença, caracterizado pelo diagnóstico tardio, muitas vezes em fase de câncer avançado, o que limita as possibilidades de tratamento. Além disso, o presente estudo irá contribuir para ampliar o conhecimento do perfil genético de famílias brasileiras acometidas pela doença. No âmbito das famílias acometidas pela doença participantes da pesquisa, o estudo irá proporcionar ganho considerável, uma vez que muitos dos indivíduos envolvidos não realizaram sequer a propedêutica mínima indicada. Ao realizar a avaliação clínica, os exames propedêuticos indicados, a análise genética e direcionamento para tratamento, nos casos indicados, estaremos influenciando o prognóstico destes pacientes.



UNIVERSIDADE ESTADUAL DE MONTES CLAROS

PRÓ-REITORIA DE PESQUISA



5- Desconfortos e riscos: os riscos envolvidos são mínimos. Em relação aos exames propedêuticos a serem realizados como objetivo da pesquisa, importante considerar que todos eles são exames de realização obrigatória na abordagem das pessoas acometidas pela doença e de seus familiares. No caso dos testes genéticos, não há riscos envolvidos, pois refere-se apenas à coleta de saliva. A realização dos exames diagnósticos poderá causar desconforto temporário a alguns dos indivíduos participantes da pesquisa, ao evidenciar o diagnóstico da doença em pessoas que desconheciam este fato. No entanto, vale salientar que o diagnóstico precoce da doença é determinante para evolução satisfatória do paciente acometido, o que, então, ao final se delinea como ganho.

6- Danos: não observamos danos maiores às pessoas envolvidas. Como dano transitório, evidenciamos o impacto emocional causado pelo diagnóstico da doença em indivíduos que desconheciam este fato. Toda a abordagem dos participantes e avaliação propedêutica serão realizadas dentro de padrões éticos e técnicos que minimizem qualquer possibilidade de danos.

7- Metodologia/procedimentos alternativos disponíveis: não se aplica

8- Confidencialidade de informações: este estudo será conduzido de acordo com os preceitos determinados pela resolução 466/12 do Conselho Nacional de Saúde do Ministério da Saúde. Todos os participantes ou responsáveis legais pelo mesmo assinarão um Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE) concordando em participar da investigação científica. Os indivíduos participantes da pesquisa terão a sua identidade resguardada em absoluto sigilo; somente os dados serão utilizados para fins de pesquisa científica.

9- Compensação/indenização: não haverá compensação ou indenização aos indivíduos participantes da pesquisa, que assinarão o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE) concordando em participar da investigação científica.

10- Outras informações pertinentes: não se aplica

11- Consentimento: li e entendi as informações precedentes. Tive oportunidade de fazer perguntas e todas as minhas dúvidas foram respondidas a contento. Este formulário está sendo assinado voluntariamente por mim, indicando meu consentimento para participar nesta pesquisa, até que eu decida o contrário. Receberei uma cópia assinada deste consentimento.

_____	_____	____/____/____
Nome do participante	Assinatura do participante	Data

_____	_____	____/____/____
Nome da testemunha	Assinatura da testemunha	Data

		____/____/____
Nome do coordenador da pesquisa	Assinatura do coordenador da pesquisa	Data

ENDEREÇO DO COORDENADOR DA PESQUISA: Avenida Dr. Rui Braga s/n – Campus universitário Prof. Darcy Ribeiro. Vila Mauricéia. Montes Claros -MG. CEP: 39.401-089. TELEFONE: (38) 3229-8294

Campus Universitário "Professor Darcy Ribeiro" – Reitoria – Prédio . Caixa Postal No 06 – Montes Claros/ MG – CEP: 39.401-089. www.unimontes.br – e-mail: comite.etica@unimontes.br. Telefone: (38) 3229-8182

APÊNDICE B – Termo de Consentimento Livre e Esclarecido



UNIVERSIDADE ESTADUAL DE MONTES CLAROS
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA

**TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO - TCLE****PARA PARTICIPANTES DE PESQUISA MAIORES DE 18 ANOS E LEGALMENTE CAPAZES**

Título da pesquisa: Mutação missense de *LMDA* causando um fenótipo grave de displasia mandibuloacral tipo A.

Instituição promotora: Hospital Universitário Clemente de Faria/UNIMONTES

Coordenadora: Adriana Amaral Carvalho

Atenção: Antes de aceitar participar desta pesquisa, é importante que você leia e compreenda a seguinte explicação sobre os procedimentos propostos. Esta declaração descreve o objetivo, metodologia/procedimentos, benefícios, riscos, desconfortos e precauções do estudo. Também descreve os procedimentos alternativos que estão disponíveis a você e o seu direito de sair do estudo a qualquer momento. Nenhuma garantia ou promessa pode ser feita sobre os resultados do estudo.

1- Objetivo: relatar o caso de uma paciente com Síndrome de Progeria, internada em um Hospital Universitário, no ano de 2019.

2- Metodologia/procedimentos: estudo observacional, descritivo, retrospectivo, com análise do prontuário médico da criança acometida pela doença. Serão utilizados exames de imagem, laboratoriais e registro fotográfico da paciente, relacionado às alterações.

3- Justificativa: trata-se de uma doença rara, com poucos casos descritos, motivo pelo qual a publicação do caso tem grande relevância científica. A descrição das características apresentadas pela paciente, do resultado dos exames de imagem e laboratoriais, e do estudo genético tornam-se importantes para um melhor conhecimento das características clínicas esperadas por pacientes portadores desta doença, com a finalidade de colaborar para diagnóstico e tratamento precoce de crianças acometidas pela doença.

4- Benefícios: o diagnóstico específico da síndrome possibilitará melhor definição terapêutica e de prognóstico, além de guiar medidas de suporte indicadas, melhorando as condições de vida da criança. Além disso, a coordenadora da pesquisa, na condição de médica pediatra, se apresenta como disponível para acompanhar e prestar assistência à criança, dentro dos seus limites de atuação, durante o desenvolver da pesquisa e também depois deste período.

5- Desconfortos e riscos: toda pesquisa envolve riscos. A pesquisa envolve riscos de identificação da paciente, de desvios de informações, rasura de documento físico. No entanto, o pesquisador responsável se compromete por resguardar todas as condições para minimizar a ocorrência destes riscos.

6- Danos: a não identificação da criança não poderá ser garantida pois os dados serão relacionados unicamente a ela e as fotografias facilitarão o reconhecimento. Entretanto, será resguardado o nome, endereço e filiação, e o pesquisador se compromete a utilizar os dados coletados somente para pesquisa e os resultados serão veiculados através de artigos científicos em revistas especializadas e/ou em encontros científicos e congressos.

7- Metodologia/procedimentos alternativos disponíveis: nenhum.

8- Confidencialidade das informações: pretende-se divulgar os resultados desta pesquisa apenas no meio científico. Fotografias da criança serão divulgadas, porém sem identificar o nome.

9- Compensação/indenização: nenhuma.

10- Consentimento:

Li e entendi as informações precedentes. Tive oportunidade de fazer perguntas e todas as minhas dúvidas foram respondidas a contento. Este formulário está sendo assinado voluntariamente por mim, indicando meu consentimento para a minha filha _____ participar nesta pesquisa, até que eu decida o contrário. Receberei uma cópia assinada deste consentimento.

Nome do participante:

Nome/assinatura do responsável pelo paciente:

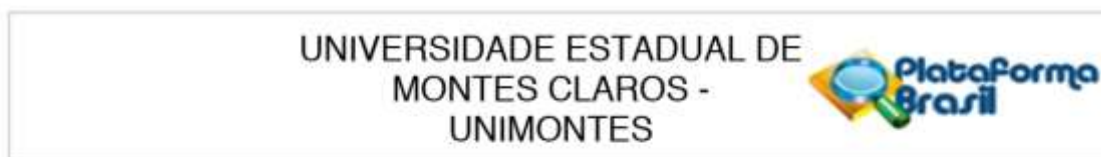
Nome/assinatura do coordenador da pesquisa:

**ENDEREÇO COMPLETO DO(A) PESQUISADOR(A): Rua Porto Seguro, 1.100. Bairro Ibituruna.
Montes Claros/MG – CEP: 39.401-290 TELEFONE: (38) 99102 7101
E-MAIL: adrianaamaral.carvalho@gmail.com**

Campus Universitário “Professor Darcy Ribeiro” – Reitoria – Prédio 05. Caixa Postal No 06 – Montes Claros/
MG – CEP: 39.401-089 www.unimontes.br – e-mail: comite.etica@unimontes.br Telefone: (38) 3229-8182

ANEXOS

ANEXO A – Parecer do Comitê de Ética e Pesquisa



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: Polipose Adenomatosa Familiar: avaliação fenotípica e genotípica em famílias brasileiras

Pesquisador: Hercilio Martelli Junior

Área Temática:

Versão: 1

CAAE: 97635318.6.0000.5146

Instituição Proponente: Universidade Estadual de Montes Claros - UNIMONTES

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 2.896.759

Apresentação do Projeto:

Busca-se, com este estudo, a partir da caracterização fenotípica de pacientes acometidos, identificar sinais clínicos de manifestação extra-colônica que possam até mesmo anteceder o aparecimento dos pólipos e, assim, servirem de marcadores diagnósticos precoces da doença, com grande impacto na evolução da doença nos pacientes acometidos. Além disso, existem poucos estudos em famílias brasileiras e as análises e comparações até agora realizadas no Brasil são baseadas, em sua maioria, em dados de literatura internacional. Ressaltamos, então, a relevância científica do presente estudo ao caracterizar o perfil genético de famílias brasileiras acometidas por esta doença.

Objetivo da Pesquisa:

-Objetivo geral

Avaliar a possível correlação fenotípica-genotípica em famílias com Polipose Adenomatosa Familiar.

Objetivo Secundário:

•Avaliar a apresentação fenotípica (manifestações intestinais e extra-intestinais) em pacientes portadores de Polipose Adenomatosa Familiar.

•Realizar o sequenciamento de locus no gene APC em pacientes acometidos e não acometidos,

Endereço: Av. Dr Rui Braga s/n-Camp Univers Profª Darcy Rib
Bairro: Vila Mauricélia **CEP:** 39.401-089
UF: MG **Município:** MONTES CLAROS
Telefone: (38)3229-8180 **Fax:** (38)3229-8103 **E-mail:** smelocosta@gmail.com

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE
MONTES CLAROS -
UNIMONTES



Continuação do Parecer: 2.896.759

buscando identificar mutações.

- Objetivos Específicos

- Avaliar a apresentação fenotípica (manifestações intestinais e extra-intestinais) em pacientes portadores de Polipose Adenomatosa Familiar.
- Realizar o sequenciamento de locus no gene APC em pacientes acometidos e não acometidos, buscando identificar mutações.
- Estabelecer a relação entre o fenótipo e genótipo dos pacientes estudados, correlacionando os aspectos clínicos com os moleculares.

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Riscos:

Os riscos envolvidos são mínimos. Em relação aos exames propedêuticos a serem realizados como objetivo da pesquisa, importante considerar que todos eles são exames de realização obrigatória na abordagem das pessoas acometidas pela doença e de seus familiares. No caso dos testes genéticos, não há riscos envolvidos, pois refere-se apenas à coleta de saliva. A realização do screen diagnóstico poderá causar desconforto temporário a alguns dos indivíduos participantes da pesquisa, ao evidenciar o diagnóstico da doença em pessoas que desconheciam este fato. No entanto, vale salientar que o diagnóstico precoce da doença é determinante para evolução satisfatória do paciente acometido, o que, então, ao final se delinea como ganho. A realização deste estudo também possibilitará a detecção precoce de possíveis neoplasias malignas.

Benefícios:

Como benefício social desta pesquisa, salientamos a possibilidade de identificação de marcadores diagnósticos precoces da doença, o que teria grande impacto na evolução da doença nos pacientes acometidos. A compreensão das manifestações clínicas e possível correlação fenotípicogenotípica pode contribuir, também, para um melhor entendimento da doença.

No âmbito das famílias acometidas pela doença participantes da pesquisa, o estudo irá proporcionar ganho considerável, uma vez que muitos dos indivíduos envolvidos não realizaram sequer a propedêutica mínima indicada. Ao realizar a avaliação clínica, os exames propedêuticos indicados, a análise genética e direcionamento para tratamento, nos casos indicados, estaremos influenciando, de maneira decisiva, o prognóstico destes pacientes.

Endereço: Av. Dr Rui Braga s/n-Camp Univers Profª Darcy Rib
Bairro: Vila Mauricéia **CEP:** 39.401-089
UF: MG **Município:** MONTES CLAROS
Telefone: (38)3229-8180 **Fax:** (38)3229-8103 **E-mail:** smelocosta@gmail.com

**UNIVERSIDADE ESTADUAL DE
MONTES CLAROS -
UNIMONTES**



Continuação do Parecer: 2.896.759

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

Trata-se de pesquisa de relevância social e biomédica, contribuindo para o entendimento do tema e para a abordagem qualificada do diagnóstico precoce.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Todos os termos apresentados correspondem às orientações do CNS e do CEP Unimontes.

Recomendações:

Enviar Relatório Final ao término da pesquisa, na Plataforma Brasil em 'notificação'.

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Projeto Aprovado.

Considerações Finais a critério do CEP:

O projeto respeita os preceitos éticos da pesquisa em seres humanos, sendo assim somos favoráveis à aprovação do mesmo.

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_PROJETO_1151957.pdf	04/09/2018 19:24:41		Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	Assentimento_completo_pdf.pdf	04/09/2018 19:19:42	Hercilio Martelli Junior	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	Consentimento_completo_pdf.pdf	04/09/2018 19:19:24	Hercilio Martelli Junior	Aceito
Folha de Rosto	Rosto.pdf	06/06/2018 18:18:44	Hercilio Martelli Junior	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	Polipose_Adenomatosa_Familiar.docx	05/06/2018 17:46:47	Hercilio Martelli Junior	Aceito
Declaração de Pesquisadores	Termo_De_Responsabilidade.jpg	05/06/2018 17:28:27	Hercilio Martelli Junior	Aceito

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Endereço: Av. Dr Rui Braga s/n-Camp Univers Profº Darcy Rib
Bairro: Vila Mauricéla **CEP:** 39.401-089
UF: MG **Município:** MONTES CLAROS
Telefone: (38)3229-8180 **Fax:** (38)3229-8103 **E-mail:** smelocosta@gmail.com

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE
MONTES CLAROS -
UNIMONTES



Continuação do Parecer: 2.896.759

Não

MONTES CLAROS, 15 de Setembro de 2018

Assinado por:
SIMONE DE MELO COSTA
(Coordenador)

Endereço: Av. Dr Rui Braga s/n-Camp Univers Profª Darcy Rib
Bairro: Vila Mauricéia **CEP:** 39.401-089
UF: MG **Município:** MONTES CLAROS
Telefone: (38)3229-8180 **Fax:** (38)3229-8103 **E-mail:** smelocosta@gmail.com

ANEXO B– Parecer do Comitê de Ética e Pesquisa

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE
MONTES CLAROS -
UNIMONTES



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: MUTAÇÃO MISSENSE DE LMDA CAUSANDO UM FENÓTIPO GRAVE DE DISPLASIA MANDIBULOACRAL TIPO A

Pesquisador: ADRIANA AMARAL CARVALHO

Área Temática:

Versão: 2

CAAE: 46996421.6.0000.5146

Instituição Proponente: HOSPITAL UNIVERSITARIO CLEMENTE DE FARIA

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 4.753.298

Apresentação do Projeto:

As informações elencadas nos campos "Apresentação do projeto", "Objetivos da pesquisa" e "Avaliação de riscos e benefícios" foram retiradas de documentos inseridos na Plataforma Brasil.

Estudo observacional, do tipo descritivo, retrospectivo, com análise do prontuário médico e utilização de resultado de exames laboratoriais e de imagem, além de registro fotográfico da criança obtido com autorização dos pais.

Objetivo da Pesquisa:

Objetivo Primário:

Relatar o caso de uma paciente que apresenta uma síndrome progeroide, internada em um Hospital Universitário, no ano de 2019.

Objetivos Secundários:

- Realizar uma revisão de literatura sobre síndromes progeróides;
- Acessar dados do prontuário medico, visando compreender e descrever a evolução da doença, características clínicas e alterações observadas nos exames realizados.

Endereço: Av. Dr Rui Braga s/n-Camp Univeris Profº Darcy Rib

Bairro: Vila Mauricéia

CEP: 39.401-089

UF: MG

Município: MONTES CLAROS

Telefone: (38)3229-8180

Fax: (38)3229-8103

E-mail: smelocosta@gmail.com

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE
MONTES CLAROS -
UNIMONTES



Continuação do Parecer: 4.753.298

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Conforme os pesquisadores, o projeto envolve os seguintes riscos e benefícios:

Riscos:

Toda pesquisa envolve riscos, ainda que os dados sejam secundários. A pesquisa envolve riscos de identificação do paciente, desvio de informações, rasura de documento físico. No entanto, o pesquisador responsável se compromete por resguardar todas as condições para minimizar a ocorrência destes riscos, em consonância com a resolução 466/2012.

Benefícios:

O diagnóstico específico da síndrome possibilitará melhor definição terapêutica e de prognóstico, além de guiar medidas de suporte indicadas, melhorando as condições de vida da criança do estudo. Além disso, a coordenadora da pesquisa, na condição de médica pediatra, se apresenta como disponível para acompanhar e prestar assistência à criança, dentro dos seus limites de atuação, durante o desenvolver da pesquisa

e também depois deste período.

Outro benefício deste estudo será contribuir para aprimorar o diagnóstico e a abordagem terapêutica de pacientes com esta patologia, colaborando para uma melhor qualidade de vida para o paciente e sua família.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

Pesquisa relevante, uma vez que, os resultados esperados poderão contribuir com melhor definição terapêutica e de prognóstico, além de guiar medidas de suporte.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Foram apresentados e estão adequados: TCLE, Termo de autorização para uso de imagens, Termo de Responsabilidade para uso/manuseio de dados do sigilo profissional (prontuário de saúde).

Recomendações:

- 1- Apresentar como relatório final da pesquisa, a publicação científica, por meio da Plataforma Brasil, em "enviar notificação".
- 2 - O CEP da Unimontes deverá ser informado de todos os efeitos adversos ou fatos relevantes.
- 3- O TCLE e autorização para uso de imagens, impressos, deverão ser obtidos em duas vias, uma ficará com o pesquisador e a outra com o participante da pesquisa.
- 4 - O registro do TCLE e termo de autorização para uso de imagens, assinados, deverão ser arquivados por cinco anos, conforme orientação da CONEP na Resolução 466/12: "manter os

Endereço: Av. Dr Rui Braga s/n-Camp Univers Profº Darcy Rib
Bairro: Vila Mauricéia **CEP:** 39.401-089
UF: MG **Município:** MONTES CLAROS
Telefone: (38)3229-8180 **Fax:** (38)3229-8103 **E-mail:** smelocosta@gmail.com

**UNIVERSIDADE ESTADUAL DE
MONTES CLAROS -
UNIMONTES**



Continuação do Parecer: 4.753.298

dados da pesquisa em arquivo, físico ou digital, sob sua guarda e responsabilidade, por um período de 5 anos após o término da pesquisa".

5- A folha de rosto com assinatura da instituição deverá ser anexada após período de isolamento social devido a pandemia pelo Covid-19, como notificação.

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Não há pendências ou inadequações no projeto.

Considerações Finais a critério do CEP:

O projeto de redação de relato de caso respeita os preceitos éticos da pesquisa envolvendo seres humanos, sendo assim somos favoráveis à aprovação do mesmo.

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_PROJETO_1747876.pdf	02/06/2021 10:27:38		Aceito
Outros	Termo_autorizacao_imagem.pdf	31/05/2021 15:27:10	ADRIANA AMARAL CARVALHO	Aceito
Declaração de Pesquisadores	Termo_Responsabilidade2.pdf	31/05/2021 14:51:15	ADRIANA AMARAL CARVALHO	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLE_TALE.pdf	17/05/2021 22:55:43	ADRIANA AMARAL CARVALHO	Aceito
Folha de Rosto	Folha_rosto.pdf	11/05/2021 21:20:40	ADRIANA AMARAL CARVALHO	Aceito
Declaração de concordância	Declaracao_instituicao.pdf	11/05/2021 21:13:46	ADRIANA AMARAL CARVALHO	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	Projeto_pesquisa_MADA.pdf	11/05/2021 21:10:53	ADRIANA AMARAL CARVALHO	Aceito

Situação do Parecer:

Aprovado

Endereço: Av Dr Rui Braga s/n-Camp Univers Profª Darcy Rib
Bairro: Vila Mauricéia **CEP:** 39.401-089
UF: MG **Município:** MONTES CLAROS
Telefone: (38)3229-8180 **Fax:** (38)3229-8103 **E-mail:** smelocosta@gmail.com

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE
MONTES CLAROS -
UNIMONTES



Continuação do Parecer: 4.753.298

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

MONTES CLAROS, 03 de Junho de 2021

Assinado por:
SIMONE DE MELO COSTA
(Coordenador(a))

Endereço: Av. Dr. Rui Braga s/n - Camp. Univers. Prof. Darcy Rib
Bairro: Vila Maucéia **CEP:** 39.401-089
UF: MG **Município:** MONTES CLAROS
Telefone: (38)3229-8180 **Fax:** (38)3229-8103 **E-mail:** smelocosta@gmail.com