

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE MONTES CLAROS

Luciano Sólida Násser

Alterações na síndrome de Waardenburg e anomalias oftalmológicas associadas
à fissura lábio palatina não sindrômica.

Montes Claros

2016

Luciano Sólía Násser

Alterações na síndrome de Waardenburg e anomalias oftalmológicas associadas à fissura
lábio palatina não sindrômica.

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

Área de Concentração: Mecanismos e Aspectos clínicos das doenças.

Orientador: Prof. Hercílio Martelli Júnior

Montes Claros

2016

N267a Nasser, Luciano Sólía.
Alterações na síndrome de Waardenburg e anomalias oftalmológicas associadas à fissura lábio palatina não sindrômica[manuscrito]/ Luciano SólíaNasser. –2016.
85f. : il.

Inclui bibliografia.

Tese (Doutorado) - Universidade Estadual de Montes Claros - Unimontes, Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde /PPGCS, 2016.

Orientador: Prof. Dr. Hercílio Martelli Júnior.

1.Síndrome de Waardenburg.2. Manifestações bucais. 3. Transtornos da visão.4. Hipertelorismo. 5.Fenda labial. 6.Fissura palatina.I. Martelli Júnior,Hercílio. II. Universidade Estadual de Montes Claros. III. Título.

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE MONTES CLAROS

Reitor: João dos Reis Canela

Vice-reitor: Antônio Alvimar Souza

Pró-reitor de Pesquisa: Virgílio Mesquita Gomes

Coordenadoria de Acompanhamento de Projetos: Karen Torres Correa Lafetá de Almeida

Coordenadoria de Iniciação Científica: Afrânio Farias de Melo Júnior

Coordenadoria de Inovação Tecnológica: Dario Alves de Oliveira

Pró-reitor de Pós-graduação: Hercílio Martelli Júnior

Coordenadoria de Pós-graduação *Stricto-sensu*: Maria de Fátima Rocha Maia

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS DA SAÚDE

Coordenador: Marise Fagundes Silveira

Coordenador Adjunto: Luiz Fernando Rezende



UNIVERSIDADE ESTADUAL DE MONTES CLAROS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS DA SAÚDE



CANDIDATA: LUCIANO SÓLIA NÁSSER

TÍTULO DO TRABALHO: "Alterações na síndrome de Waardenburg e anomalias oftalmológicas associadas à fissura lábio palatina não síndrômica".

ÁREA DE CONCENTRAÇÃO: Mecanismos e Aspectos Clínicos das Doenças.

LINHA DE PESQUISA: Clínica Diagnóstico e Terapêutica das Doenças.

BANCA (TITULARES)

PROF. DR. HERCÍLIO MARTELLI JÚNIOR - ORIENTADOR/PRESIDENTE

PROF. DR. ANTONIO LUIZ BARBOSA PINHEIRO

PROF^ª. DR^ª. ADRIANNE CALIXTO FREIRE DE PAULA

PROF^ª. DR^ª. MAGNA ADACI DE QUADROS COELHO

PROF. DR. SÍLVIO FERNANDO GUIMARÃES DE CARVALHO

ASSINATURAS

BANCA (SUPLENTE)

PROF. DR. MARIO SERGIO OLIVEIRA - SWERTS

PROF. DR. SÉRGIO HENRIQUE SOUZA SANTOS

PROF^ª. DR^ª. DESIRÉE SANT'ANA HAIKAL

PROF^ª. DR^ª. MARIA JOSÉ LAGES DE OLIVEIRA

ASSINATURAS

APROVADO(A)

REPROVADO(A)

Dedico este trabalho aos pesquisadores, aos pacientes e aos meus colaboradores que possibilitaram esta pesquisa.

AGRADECIMENTOS

Agradeço aos meus pais por me ensinarem os caminhos que chegam a Deus nos momentos em que preciso recorrer à sua luz e proteção.

À Rejane, por dividir comigo a maravilhosa tarefa de criar e educar um filho.

À minha filha, por me fazer tão feliz.

Aos pacientes que participaram desta pesquisa, passando por todo o processo investigativo com paciência e compreensão.

À colega e amiga, Prof^a. Dra. Sabina Pena Borges Pego que esteve sempre acessível, compartilhando seu conhecimento, inteligência e experiência comigo. Admiro sua competência.

À RADIOCENTER, na pessoa do Prof^o. Dr. Luis Antônio Nogueira dos Santos que contribui valiosamente na documentação imaginológica de minhas pesquisas, dando uma qualidade internacional ao meu trabalho.

À Unimontes que disponibilizou toda à sua estrutura física e humana para a realização de nossas pesquisas, beneficiando os pacientes de todo o norte de Minas.

Ao Magnífico Reitor e amigo Prof. João dos Reis Canela que, enquanto superintendente do HUCF, me tornei coordenador do Departamento de Oftalmologia e, enquanto Reitor, tornei-me Mestre em Ciências da Saúde pela Unimontes. Sinto-me honrado por nossas histórias se cruzarem no âmbito da Universidade Estadual de Montes Claros.

Aos amigos e colegas de serviço, em especial ao Luiz de Oliveira Filho que, por atitudes diretas ou orações, me ajudaram a conduzir este Doutorado. Vocês são muito importantes em minha vida.

Ao Prof. Hercílio Martelli Júnior, por permitir que eu fizesse parte do seu grupo de pesquisa onde tive o privilégio de crescer como pesquisador e fundamentalmente como pessoa. Quero continuar por perto de sua sabedoria e competência.

Ao CNPq- Edital Universal

Processo: 471098/2013

RESUMO

Síndrome de Waardenburg (SW; MIM #193500) é uma alteração do sistema melanocítico-pigmentário resultante de uma desordem na diferenciação, sobrevivência e migração dos melanócitos derivados da crista neural no período embriogênico. Fissuras lábio palatinas (FL/P; MIM #119.530) representam as anomalias congênitas mais comuns da face e sua etiologia é multifatorial. Apresentam-se como fenótipos isolados em 70% dos casos [fissuras lábio palatinas não-sindrômicas (FL/PNS)]. Hipertelorismo (MIM #145400) é uma condição incomum caracterizada pelo aumento da distância entre os olhos e que pode estar presente em diversas desordens do desenvolvimento facial. Os objetivos deste estudo foram avaliar as características clínicas em uma família do norte de Minas Gerais com a síndrome de Waardenburg com ênfase nas manifestações dentais e oculares, realizar uma revisão sistemática da literatura sobre as alterações oftalmológicas na FL/PNS e avaliar a frequência de hipertelorismo na FL/PNS. Foi realizado um exame físico completo nos pacientes e, a partir dos dados coletados, foi elaborado um banco com as informações destes pacientes, incluindo as imagens obtidas, de modo a auxiliar no melhor entendimento desta patologia. Foi descrito o padrão de herança e as características clínicas e imaginológicas em uma família portadora da SW tipo I com alterações dentais e oculares bastante significativas. Dos 29 descendentes da primeira família, 16 membros apresentaram a SW, destes, três apresentaram anormalidades dentais, caracterizadas por agenesia dental, dentes conóides e taurodontismo. Dez pacientes apresentaram iris despigmentada e um paciente apresentou significativa rarefação do epitélio pigmentado da retina. Também foi pesquisada mutação no gene *PAX3*, responsável pela síndrome de Waardenburg tipo I. Foi feito também uma análise através de uma revisão da literatura buscando evidência de associação entre as alterações oculares e FL/PNS. Foi realizada uma revisão da literatura em conformidade com o protocolo de colaboração Grupo Cochrane. Nesta revisão sistemática, a partir de 16 estudos acessados, 3 compuseram a amostra final. Todos os três estudaram alterações oculares em pacientes com FL/PNS. Um artigo encontrou alterações oculares em 6,21% dos pacientes. Um outro artigo encontrou em 17,54% dos pacientes e um outro encontrou alterações oculares em 1,03% dos pacientes. Também foi feito um estudo da presença de hipertelorismo em pacientes com FL/PNS do Centro de Reabilitação de Anomalias Craniofaciais de Alfenas, Minas Gerais, Brasil e comparou com pacientes normais na mesma faixa etária. Neste estudo não foi observada a presença de hipertelorismo nos pacientes fissurados. Não houve diferença estatisticamente significativa no índice cantal entre os pacientes fissurados e o grupo controle.

Entre os três tipos de fissura (labial, lábio palatina e palatina) também não houve diferença significativa do índice cantal. Conclui-se que embora não tenha sido possível estabelecer uma relação entre as expressivas alterações dentais e a SW, pesquisas envolvendo um maior número de pacientes podem esclarecer esta relação com bases genéticas e moleculares. Conclui-se também que foi encontrada na literatura médica a presença de significativas alterações oculares em pacientes com FL /PNS e que futuros estudos deverão explorar a possibilidade de que haja uma ocorrência preferencial de alterações oculares em indivíduos com FL/PNS, incluindo o hipertelorismo.

Palavras-chave: Síndrome de Waardenburg. Manifestações Bucais. Transtornos da visão. Hipertelorismo. Fenda Labial. Fissura Palatina

ABSTRACT

Waardenburg syndrome (WS; MIM # 193500) is a change of the resulting melanocytic-pigmentário system of a disorder in differentiation, survival and migration of melanocytes derived from the neural crest in embryogenic period. Cleft lip and or palate (CL/P; MIM # 119530) represent the most common congenital anomalies of the face and its etiology is multifactorial. They present as phenotypes isolated in 70% of cases [nonsyndromic cleft lip and palate (NSCL/P)]. Hypertelorism (MIM # 145400) is a rare condition characterized by increased distance between the eye and can be present in various disorders of facial development. The objectives of this study were to evaluate the clinical characteristics in a northern family of Minas Gerais with Waardenburg syndrome with emphasis on dental and ocular manifestations, conduct a systematic review of the literature about ocular changes in NSCL/P, and evaluate the frequency of hypertelorism in NSCL/P. A complete physical examination was performed in patients and, from the collected data, a database was prepared with the information of these patients, including the images obtained in order to contribute to a better understanding of this pathology. It described the inheritance pattern and clinical features and imaginological in a family with WS type I with dental and eye changes quite significant. Of the 29 descendants of the family, 16 members had the WS, these three had dental abnormalities, characterized by dental agenesis, conoides teeth and taurodontism. Ten patients had iris depigmented and one patient had significant thinning of the retinal pigment epithelium. It was also searched mutation in gene responsible for WS type I. It was also made an analysis through a review of the literature looking for evidence of an association between ocular and NSCL/P. A literature review was conducted in accordance with the cooperation protocol Cochrane Group. In this systematic review, from 16 accessed studies, 3 were included in the final sample. All three studied ocular abnormalities in patients with NSCL/P. An article found ocular changes in 6.21% of patients. Another article found em17.54% of patients and another found ocular em 1.03% of patients. It was also made a study of the presence of hypertelorism in patients with NSCL/P of Craniofacial Anomalies Rehabilitation Center of Alfenas, Minas Gerais, Brazil and compared with normal subjects of the same age. In this study it was not observed the presence of hypertelorism in cleft patients. There was no difference in cantal rate among cleft patients and the control group. Among the three types of cleft (lip, lip and palate and palate) also there was no significant different cantal index. It is concluded that although it was not possible to establish a relationship between the significant

dental changes and SW, research involving a larger number of patients may clarify this relationship with genetic and molecular basis, which was found in the medical literature the presence of significant ocular changes in patients with NSCL/P and that future studies should explore the possibility that there is a preferential occurrence of ocular abnormalities in patients with NSCL/P, including hypertelorism.

Keywords: Waardenburg Syndrome. Oral Manifestations. Vision Disorders. Hypertelorism. Cleft Lip. Cleft Palate.

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	13
1.1 Síndrome de Waardenburg.....	13
1.1.1 Critérios diagnósticos para a síndrome de Waardenburg.....	15
1.1.2 Manifestações clínicas da síndrome de Waardenburg.....	15
1.1.3 Manifestações bucais na síndrome de Waardenburg.....	18
1.1.4 Diagnóstico diferencial.....	18
1.1.5 Vitiligo.....	18
1.1.6 Esclerose tuberosa.....	19
1.1.7 Ptíriase alba.....	19
1.1.8 Piebaldismo.....	19
1.1.9 Características imaginológicas	20
1.1.10 Características genéticas.....	20
1.2 Fissura lábio palatina.....	23
1.2.1 Características gerais da fissura lábio palatina.....	23
1.2.2 Embriologia e desenvolvimento das fissuras lábio palatinas.....	24
1.2.3 Incidência das fissuras lábio palatinas não síndrômicas.....	27
1.2.4 Características clínicas e classificação das fissuras lábio palatinas.....	28
1.2.5 Fissura de lábio e/ou palato <i>versus</i> fissura de palato isolada.....	30
1.2.6 Fissuras lábio palatinas síndrômicas <i>versus</i> não síndrômicas.....	30
1.2.7 Subfênótipos em fissuras lábio palatinas não síndrômicas.....	31
1.2.8 Etiologia das fissuras lábio palatinas não síndrômicas.....	32

1.2.9 Fatores de risco das fissuras lábio palatinas.....	32
1.2.10 Alterações oftalmológicas na fissura lábio palatina não síndrômica.....	33
1.2.11 Hipertelorismo na fissura lábio palatina não síndrômica.....	34
2 OBJETIVOS.....	36
2.1 Objetivo geral.....	36
2.2 Objetivos específicos.....	36
3 METODOLOGIA	37
4 PRODUTOS.....	41
4.1 Artigo Científico I: <i>Waardenburg syndrome type I: dental phenotypes and genetic analysis of an extended family</i>	42
4.2 Artigo Científico II: <i>Ophthalmic changes in cleft lip and palate</i>	49
4.3 Artigo Científico III: <i>Evaluation of the presence of hypertelorism in cleft lip and palate</i>	54
5 CONCLUSÕES.....	59
6 CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	60
REFERÊNCIAS.....	61
APÊNDICES.....	73
ANEXOS.....	75

1 INTRODUÇÃO

1.1 Síndrome de Waardenburg

Em 1947, o oftalmologista holandês Petrus Johannes Waardenburg (1886-1979) apresentou três pacientes para discussão na Reunião da Sociedade Holandesa de Oftalmologia. Eram três pacientes surdos que apresentavam uma distopia dos cantos mediais dos olhos, a ponto de ocultar a região nasal da esclera, e um correspondente aumento da distância entre os pontos lacrimais inferiores, sem alteração da distância inter-pupilar (1). Logo em seguida, Waardenburg passou a receber mais casos semelhantes e novas características se tornaram evidentes, como a diferença de coloração entre os olhos (heterocromia de íris) e a presença de uma mecha de cabelos brancos na linha média do couro cabeludo frontal, mesmo em pacientes de idade precoce (1). Após contato e troca de informações com David Klein, em 1948, em Genebra, Suíça, quando lhe foram mostrados pacientes com as mesmas características, Waardenburg realizou um estudo em cinco instituições holandesas para surdos-mudos (2). De um total de 1.050 surdos, em que a grande maioria era crianças, foram identificados 13 pacientes que, além da típica anomalia palpebral, apresentaram manchas hipocrômicas disseminadas, indicando a existência de uma nova síndrome, a qual recebeu seu nome. Inicialmente, a síndrome de Waardenburg (SW) foi descrita como uma combinação de seis características principais:

1. Deslocamento lateral do canto medial dos olhos, bilateralmente (*dystopia canthorum*)
2. Raiz ampla e proeminente do nariz
3. Hipertricrose da região medial das sobrancelhas (*synophrys*)
4. Mecha branca de cabelo na região frontal (topete branco)
5. Heterocromia total ou parcial da íris
6. Surdez congênita bilateral em graus variáveis de intensidade

Neste mesmo estudo, Waardenburg fez inferências quanto ao componente genético envolvido e ao modo de herança da nova síndrome. Devido ao fato de não haver consanguinidade entre os pais dos pacientes afetados, a repetição da síndrome em sucessivas gerações e a não preferência por gênero, foi estabelecido um padrão de herança autossômico dominante com penetrância incompleta e expressividade variável (3).

A partir das observações de Waardenburg em relação à *dystopia canthorum*, foram estabelecidos padrões para as medidas das distâncias entre os cantos mediais, entre as pupilas e entre os cantos laterais dos olhos, contribuindo substancialmente para o diagnóstico da

dystopia canthorum (4). Estabeleceram-se os seguintes valores normais para a distância entre os cantos mediais: homens adultos: menor ou igual a 38mm; mulheres adultas: menor ou igual a 37mm; meninos entre 6 a 16 anos: menor ou igual a 36mm; meninas entre 6 a 16 anos: menor ou igual a 34mm (Figura 1).

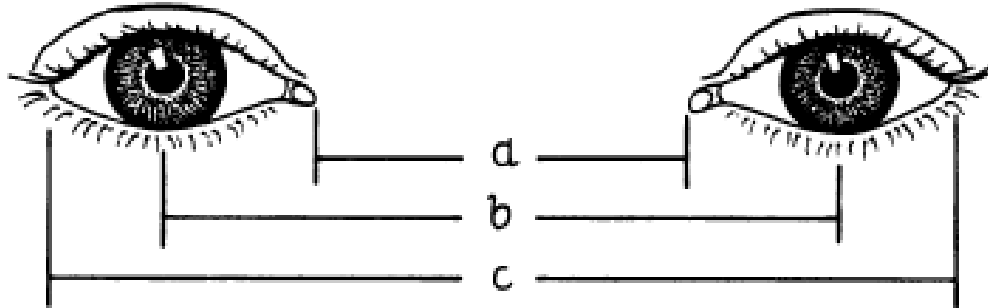


Figura 1: Medidas oculares para o diagnóstico da *dystopia canthorum*
Distância entre os cantos mediais (a), distância interpupilar (b), distância entre os cantos laterais (c).

Cálculo: $X = (a - 0,2119c - 3.909)/c$;

$Y = (a - 0,2479b - 3.909)/b$;

Índice $W = X + Y + a/b$.

Fonte: Partington. *Waardenburg's syndrome and heterochromia iridum in a deaf school population* (1964).

Corroborando com estes critérios, foi criado um índice, resultando da razão entre o valor da *dystopia canthorum* e o valor da distância inter-pupilar (índice de Partington = a/b). Estabeleceu o índice menor ou igual a 0,6 como normal (5). Entretanto, foi construído o índice W, resultante de uma análise discriminativa na qual estão envolvidas as três medidas acima mencionadas. O índice W se tornou o melhor critério diagnóstico da *dystopia canthorum*, ao resultar em um valor maior ou igual a 1,95 centímetros (2).

Após estudos sobre a heterogeneidade dos casos, a síndrome foi dividida em três tipos distintos baseados na principal característica clínica: tipo I: pacientes com *dystopia canthorum*, tipo II: pacientes sem a *dystopia canthorum*, porém, com distúrbios auditivos presentes e tipo III: pacientes com *dystopia canthorum* e com ptose palpebral unilateral. Este último tipo não foi aceito pela comunidade científica da época, pois faltaram pacientes com características semelhantes para formarem este subgrupo (6). Porém, foi mostrado que existiam pacientes classificados como tipo I que apresentavam anormalidades musculoesqueléticas como sindactilia e hipotrofia dos membros superiores e ou inferiores criando o tipo III, uma nova variante da síndrome de Waardenburg descrita originalmente (7).

De modo semelhante, foram descritos 12 recém-nascidos com a doença de Hirschsprung associada à presença de sobrançelas e topetes brancos. Estes pacientes não apresentavam *dystopia canthorum* e suas audições não foram avaliadas, pois todos morreram ainda no período neonatal (8). Estava criado o tipo IV da síndrome de Waardenburg, caracterizado pela presença dos sinais do tipo II associados à doença de Hirschsprung, uma entidade potencialmente fatal (Tabela 1).

Tabela 1: Classificação da síndrome de Waardenburg nos 4 tipos clássicos, padrões de herança e características clínicas.

TIPO SINDRÔMICO	HERANÇA	CARACTERÍSTICAS CLÍNICAS
I (SW-1)	AD	Distopia cantorum em 98% Hipoacusia (25%)
II (SW-2)	AD	Ausência de distopia cantorum Hipoacusia (50%)
III (Klein-Waardenburg)	AD e casos esporádicos	Distopia cantorum associada a alterações músculo-esqueléticas
IV (Shah- Waardenburg)	AR (maioria)	Presença da Doença de Hirschsprung associada à síndrome

Fonte: *Read et al.*: Waardenburg syndrome: Syndrome of the month (1997).

*AD: Autossômico dominante AR: Autossômico recessivo

1.1.1 Critérios diagnósticos para a síndrome de Waardenburg

Frente à variação clínica da SW, através do consenso da síndrome de Waardenburg realizado em Boston-EUA no ano de 1992, foram propostos os critérios diagnósticos para o tipo I da SW (Tabela 2). Para ser classificado como SW tipo I, o paciente deve apresentar dois critérios maiores ou um maior associado a dois menores (9). Em seguida, foram estabelecidos os critérios diagnósticos para os pacientes com SW tipo II (10). Para ser classificado como SW tipo II, o paciente deve apresentar dois critérios maiores, exceto a *dystopia canthorum* (Tabela 2).

Os critérios diagnósticos que formam o tipo III (síndrome de Klein-Waardenburg) são os mesmos para o tipo I acrescidos por anomalias musculoesqueléticas (11). A perda auditiva no tipo III é mais acentuada devido à intensa despigmentação da orelha interna em relação ao tipo I e outra característica marcante é a contratatura hipoplásica dos membros superiores (12).

A SW tipo IV (síndrome de Shah-Waardenburg) é a forma mais rara da doença, uma vez que a presença de doença de Hirschsprung, caracterizada pela aganglionose intestinal, é causa importante de óbito nos pacientes acometidos, ainda no período neonatal (2).

Tabela 2: Critérios diagnósticos para a síndrome de Waardenburg tipos I e II.

CRITÉRIOS MAIORES	CRITÉRIOS MENORES
1-Perda auditiva neuro-sensorial	1-Hipopigmentação da pele
2-Alterações na pigmentação da íris	2-Confluência dos super-cílios (<i>synophrys</i>)
3-Hipopigmentação do cabelo (topete branco ou cabelos grisalhos surgidos antes dos 30 anos de idade)	3-Base alta e alargada do nariz
4- <i>Dystopia canthorum</i>	4-Hipoplasia das asas do nariz

Fonte: *Read et al.*; Waardenburg syndrome: syndrome of the month (1997).

1.1.2 Manifestações clínicas da síndrome de Waardenburg

A SW é uma doença de distribuição universal, uma vez que ocorre em todo o mundo, sem predileção para raça e gênero (2). A prevalência estimada do tipo I, por Waardenburg, foi de 1:42.000 na população geral e 1:143 (1,43%) em portadores de surdez congênita (2).

A *dystopia canthorum* é a característica mais comum da SW tipo I, chegando a uma incidência de 99% neste sub-grupo (2). Este deslocamento lateral do canto interno dos olhos se tornou o recurso diagnóstico mais confiável para classificação do tipo I, devido a sua alta frequência (13). Raiz alta e alargada do nariz está presente com frequência variável tanto no tipo I quanto no tipo II (13). Já a hipertricose medial das sobrancelhas (*synophrys*) é muito mais frequente no tipo I (85%) do que no tipo II (25%) (11).

A heterocromia de íris pode ser completa ou parcial (10). Na forma completa, cada olho apresenta-se de uma cor, enquanto que, na parcial, existe a presença de cores diferentes em um mesmo olho, podendo ser unilateral ou bilateral. Foi encontrada heterocromia parcial em 4,2% dos indivíduos com SW tipo I e em 27,5% dos indivíduos com SW tipo II (10). A presença de heterocromia de íris completa ou parcial foi descrita em 30% dos indivíduos com SW tipo I e II (14). Iris extremamente azul bilateralmente pode fazer parte do quadro ocular de 10% de todos os pacientes com diagnóstico de SW e esta coloração é devida à intensa hipoplasia do seu epitélio pigmentado (13). Esta alteração da pigmentação da íris pode ser

acompanhada por uma rarefação e mobilização do epitélio pigmentado da retina no mesmo olho, correspondendo ao mesmo território alterado na íris (14).

Em relação à mecha branca, esta é usualmente descrita na região central da fronte, porém, pode ocorrer em qualquer parte do couro cabeludo, acometendo alguns fios apenas ou um grupo maior de fios. Pode estar presente desde o nascimento ou surgir na primeira infância, como também pode desaparecer com a idade adulta (2). Em 1992, ficou definido pelo consenso de Waardenburg que o surgimento de fios brancos antes dos 30 anos de idade (cabelos grisalhos) tornaria critério diagnóstico para identificar a SW, assim como o topete branco (9). A alteração da cor dos cabelos está presente em pelo menos um terço dos tipos I e II (13).

A hipopigmentação da pele, que acompanha o quadro clínico da SW, acomete preferencialmente os membros, face e tronco, podendo ocorrer adjacente ao topete branco (2). Manchas hiperpigmentadas foram descritas acometendo as áreas hipopigmentadas (3). Naqueles pacientes com manchas hipocrômicas e audição normal, deve-se fazer o diagnóstico diferencial com piebaldismo ou albinismo parcial (15). Alterações hipopigmentadas na pele dos pacientes com SW estão presentes em 10 a 20% dos casos (13).

A perda auditiva na SW é neurosensorial, ou seja, apesar do sistema de condução estar intacto, a função neurológica da orelha interna está comprometida. Além disto, é de caráter congênito, não progressivo, podendo ser uni ou bilateral e variar em níveis de intensidade (2). A penetrância da perda auditiva neurosensorial bilateral foi calculada, atingindo uma frequência de 25% para o tipo I e 50% para o tipo II (6). Um estudo posterior encontrou uma penetrância de perda auditiva neurosensorial na SW tipo I de 69% e de 87% na SW tipo II (16). O padrão mais predominante de acometimento auditivo tanto na SW tipo I quanto na SW tipo II é a surdez profunda bilateral, decorrente de uma degeneração cocleossacular e ausência completa de pigmentação na estria vascular da cóclea (17). Na ausência de melanócitos, a estria coclear fica anormalmente fina impedindo a geração do potencial endococlear, o que gera um colapso na membrana de Reissner, levando à destruição do órgão de Corti (18).

Anormalidades ósseas podem estar presentes em até 50% dos pacientes com SW (19). As anomalias músculo-esqueléticas encontradas no tipo III são caracterizadas por contratura e

hipotrofia dos músculos da parte proximal dos membros, além da presença de sindactílias (10). Porém não existem estudos que mostrem a incidência de tais alterações. O mesmo ocorre para a associação entre doença de Hirshprung e SW tipo IV (2).

1.1.3 Manifestações bucais na síndrome de Waardenburg

Há escassos relatos na literatura quanto às manifestações orais da SW. A agenesia dental isolada dos incisivos laterais inferiores foi identificada em pacientes afetados por essa desordem (20). Fissuras labiais e/ou palatinas também já foram descritas na SW (21-26), e ainda sugere-se que essas fissuras orofaciais são 8 vezes mais frequentes em pacientes afetados pela SW do que na população geral (6). Waardenburg (1) relatou uma microforma de fissura lábio-palatina, caracterizada pela ausência parcial de úvula, em dois irmãos afetados pela SW. Malformações mandibulares indefinidas (27,28) e prognatismo mandibular (29) foram descritas como possivelmente relacionadas à SW. Dentição irregular, anomalias do esmalte dentário (não especificadas), palato ogival e língua fissurada também compõem o espectro clínico de manifestações orais de pacientes afetados pela síndrome (23,30-32).

Embora as manifestações orais da SW tenham sido pouco exploradas e investigadas nos relatos clínicos presentes na literatura científica, elas são de grande relevância para o manejo clínico e interferem na qualidade de vida dos pacientes afetados por essa condição. Portanto, um estudo criterioso e detalhado dessas alterações orais justifica-se pelo melhor entendimento da SW, bem como na contribuição efetiva para um adequado plano de tratamento e acompanhamento desses pacientes.

1.1.4 Diagnóstico diferencial

1.1.5 Vitiligo

Vitiligo é uma desordem cutânea presente em cerca de 1 a 2 % da população, sem predileção por gênero e raça (33). Apesar de estar relacionada com mecanismos genéticos, neuro-imunológicos e autodestrutivos, sua etiopatologia ainda é desconhecida (34). Diversas teorias já foram formuladas e a mais aceita é a teoria autoimune, a qual se baseia na associação desta dermatose com doenças de autoimunidade (35). Clinicamente, aparece como máculas hipocrômicas que evoluem para acrômicas, com aspecto marfínico, bem delimitadas, de tamanho variado e com borda hiperemiada. O acometimento ocorre geralmente no dorso da

mão, face, maléolos, punhos, umbigo, face anterolateral das pernas, axilas, dedos, genitália e pescoço (33). Sua evolução clínica, em geral, é de progressão lenta no início com posterior estabilização (36). Histopatologicamente, o vitiligo se caracteriza pela ausência de melanócitos na região da epiderme afetada (36). O diagnóstico diferencial de vitiligo inclui outros distúrbios de hipopigmentação, incluindo-se a SW, ptíriase alba, hipopigmentação pós-inflamatória, piebaldismo, morféia, hanseníase, esclerose tuberosa e líquen esclero-atrófico, além do vitiligo induzido quimicamente com catecóis, fenóis alquilados e aldeído cinâmico (37). Devem-se observar as bordas da lesão (limites irregulares ou bem demarcados), pois o vitiligo tem uma despigmentação completa com bordas bem delimitadas. A diferença com SW é que, nesta, as lesões são congênicas e estáveis durante toda a vida do indivíduo, isto é, não mudam de padrão e de localização com o desenvolvimento, além de estarem associadas com as outras manifestações clínicas que compõem o quadro da SW (38).

1.1.6 Esclerose tuberosa

A esclerose tuberosa é uma doença neurocutânea autossômica dominante, em que há hipopigmentação localizada em quase todos os casos. Mancha hipopigmentada focal de formato característico que se apresenta tipicamente no tronco é característica desta doença. Embora até 4% da população geral tenha mácula hipopigmentada, lesões múltiplas sugerem fortemente esclerose tuberosa, principalmente quando associadas aos angiofibromas, o que não acontece na SW (39).

1.1.7 Ptíriase alba

A ptíriase alba apresenta-se como máculas hipopigmentadas ovais nas bochechas, tronco e membros de crianças, principalmente as de pele mais escura, as quais são, provavelmente, uma forma de perda de pigmento pós-inflamatória. Diferentemente das manchas hipocrômicas da SW, na ptíriase alba estas não são congênicas e apresentam boa resposta ao tratamento específico (36).

1.1.8 Piebaldismo

O piebaldismo ou albinismo parcial é uma genodermatose rara, autossômica dominante, sem preferência por cor ou raça caracterizada por mutações no gene *KIT* (*V-KIT Hardy-*

Zuckerman 4 Feline Sarcoma Viral Oncogene Homolog). Este gene codifica a proteína transmembrana que regula a migração dos melanoblastos da crista neural até a epiderme e sua diferenciação em células produtoras de melanina (36). A lesão clínica mais característica do piebaldismo é a mecha branca frontal, presente em cerca de 90% dos casos (15). As despigmentações cutâneas são bastante distintas, sempre presentes ao nascimento, caracterizam-se por rigorosa simetria e afetam predominantemente a face, porção anterior do abdômen e tórax, braços, antebraços, pernas e coxas (40). Outro detalhe que merece destaque é a presença de máculas hiperpigmentadas nas lesões leucodérmicas, que auxiliam na diagnose diferencial com vitiligo (41). Histologicamente, o piebaldismo se assemelha ao vitiligo, pois ocorre uma ausência de melanócitos nas áreas afetadas (36). Relatos atuais concordam que estas alterações devem ser consideradas expressões variáveis da SW, e o termo piebaldismo devem ser empregados quando as lesões se restringem a pele e pelos (42).

1.1.9 Características imaginológicas

Existem poucos estudos relatando as alterações imaginológicas associadas à SW. Esta pode estar associada a outras alterações ainda não descritas na literatura de uma forma consistente. Existem poucos relatos de alterações dentárias (agenesia dental, fissura lábio-palatina e língua fissurada) em pacientes portadores de SW, porém sem uma associação estabelecida entre estas características (43). O mesmo ocorre para as lesões hipocrômicas do fundo do olho. A observação e o exame clinicoimaginológico detalhado, aliados ao conhecimento, são os melhores métodos semiológicos para documentar tais alterações e programar uma abordagem terapêutica direcionada (44).

1.1.10 Características genéticas

Em 1988, um estudo histológico envolvendo pacientes com SW tipo II descreveu a ausência de células derivadas da crista neural em áreas isoladas do dermatomo humano (45). Um ano após, foi descrito um caso esporádico de SW tipo I no qual foi observada uma alteração na sequência de bases do cromossomo 2, sugerindo que o locus para a SW tipo I localizava-se na região 2q35 (46).

Um trabalho experimental mostrou que camundongos geneticamente modificados com silenciamento do gene *PAX3* (*Paired Box Gene 3*), localizado no cromossomo 2q35

apresentaram graves defeitos do tubo neural e dos membros (47). Mutações no gene *PAX3* foram identificadas em 6 pacientes com SW tipo I de diferentes famílias (48). Desde então, numerosos estudos identificaram várias mutações no gene *PAX3* relacionadas com a SW tipo I, II e III (49-52). O gene *PAX3* codifica um fator de transcrição pertencente à família de proteínas-pareadas (paired-box) cujo papel está na manutenção de células pluripotenciais, proliferação, migração e apoptose destas células, ainda no período embrionário (13). Esse gene tem sido identificado no desenvolvimento da orelha, dos olhos, dos músculos estriados e no desenvolvimento facial. O gene *MITF* (*Microphthalmia-associated Transcription Factor*), localizado no cromossomo 3 desempenha um papel importante no desenvolvimento de vários tipos de células, incluindo os melanócitos derivados da crista neural e o epitélio pigmentado da retina, derivado do cálice óptico. Mutações neste gene estão associadas à etiologia de melanomas humanos (53). Mutações no gene *MITF* foram identificadas em indivíduos afetados em duas famílias com SW tipo II (55). Também foi demonstrado que o gene *MITF* é capaz de ativar o gene para a tirosinase, uma enzima essencial para a melanogênese, e que está criticamente envolvida na diferenciação dos melanócitos e em suas funções na audição neuro-sensorial. Portanto, hipopigmentação e perda auditiva em SW tipo II podem ser resultantes de uma anomalia da diferenciação de melanócitos causados por mutações no gene *MITF* (56). O gene *PAX3* é o regulador do *MITF* e foi evidenciado que mutações no *PAX3* causa perda desta regulação, resultando em áreas de hipopigmentação e perda auditiva em diferentes intensidades nos indivíduos com SW tipo I (57). Estimam-se que mutações no gene *MITF* ocorrem em aproximadamente 15% dos pacientes com SW tipo II (2). O gene *EDN3* (*Endothelin-3*), localizado no cromossomo 20, e o *EDNRB* (*Endothelin receptor type B*), no cromossomo 13, codificam endotelinas que desempenham papel essencial no desenvolvimento da crista neural no período correspondente à migração e diferenciação do sistema nervoso entérico (58). Animais geneticamente modificados, com silenciamento do gene *EDNRB*, apresentam manchas brancas pelo corpo e aganglionose intestinal com megacólon, um quadro potencialmente fatal e fenotipicamente compatível com SW tipo IV (59). Mutações homozigóticas no gene *EDN3* foram identificadas em um paciente com SW tipo IV (60). Mutações heterozigóticas no gene *EDN3* foram identificadas em uma criança com SW tipo IV (13). O gene *SOX10* (*Sry-related HMG-Box Gene 10*), localizado no cromossomo 22, tem papel importante em todas as fases que envolvem a migração de células da crista neural, atuando principalmente na sobrevivência destas células (61). Além disso, o gene *SOX10* exerce um papel crucial na manutenção da migração e diferenciação de células

progenitoras entéricas (32). Foram identificadas 4 mutações neste gene em pacientes com SW tipo IV (62).

Apesar da SW tipo II apresentar a maior heterogeneidade genética comparada com os outros subtipos, mutações no gene *SNAI2* (*Neural Crest Transcription Factor SLUG*) localizado no cromossomo 8 tem sido encontradas em frequência crescente nos estudos mais recentes (13). O gene *SNAI2*, localizado no cromossomo 8, pertence à família de genes produtores de fator de transcrição do zinco, molécula fundamental na formação do mesoderma em vertebrados e invertebrados (63). Deleções no gene *SNAI2* foram detectadas em pacientes com SW tipo II e gene *MITF* inalterado. Dessa forma, *SNAI2* foi associado à fisiopatogenia da SW tipo II (64). Todos estes seis genes estão envolvidos dentro de uma rede complexa que determinam falhas na embriogênese das células da crista neural e caracterizam a diversidade clínica da SW (13). Existe uma sinergia entre os genes *PAX3* e *SOX10* que modulam a expressão do gene *MITF* (65). Além dessa interação, proteínas derivadas dos genes *SOX10* e *MITF* agem sinergicamente para ativar a produção dos melanócitos e suas migrações (66). De modo semelhante, foi demonstrada a presença de regulação exercida pelo gene *MITF* sobre o gene *SNAI2* (64). Também foi evidenciado que o gene *SOX10* exerce ação reguladora sobre o gene *EDNRB* durante o desenvolvimento dos melanócitos derivados da crista neural (67). A interação entre os diversos genes envolvidos na SW está esquematizada na figura 2.

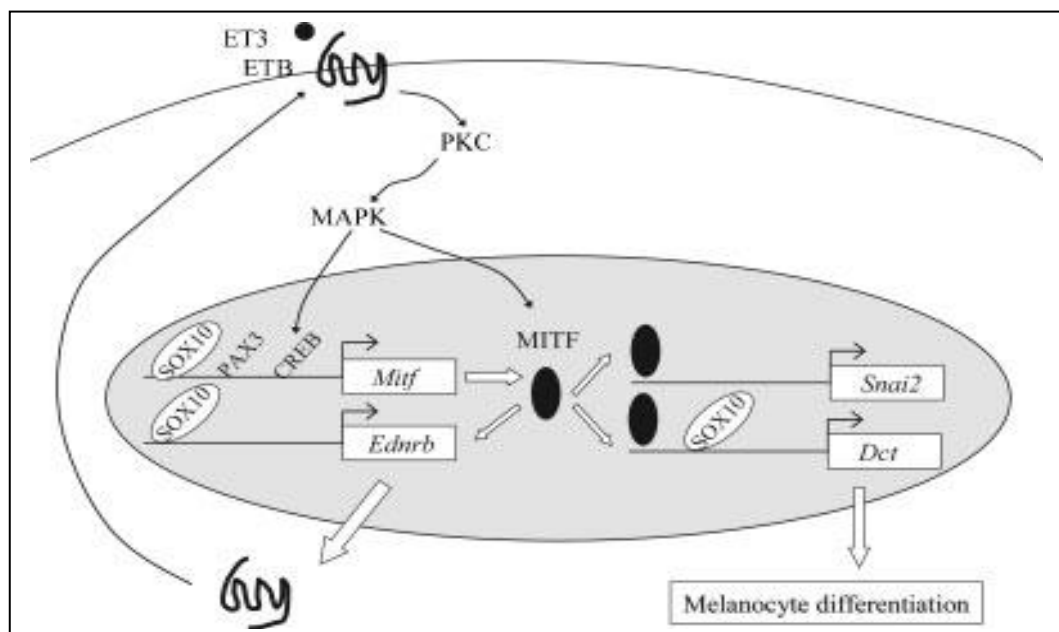


Figura 2: Interação entre os diversos genes envolvidos na síndrome de Waardenburg.

Fonte: Pingault: Review and Update of Mutations Causing Waardenburg Syndrome (2010).

Embora os estudos moleculares na SW tipo I e III sejam bastante conclusivos, os demais subtipos apresentam uma enorme heterogeneidade genética. Na SW tipo II, mutações nos genes *MITF* e *SOX10* correspondem a aproximadamente 15% dos casos e nos genes *EDNRB* e *EDN3*, a prevalência é bem pequena, o mesmo valendo para o gene *SNAI 2* (13). Na SW tipo IV, mutações no gene *SOX10* correspondem a 50% dos casos contra 20 a 30% de mutações nos genes *EDNRB* e *EDN3* (13).

1.2 Fissura lábio palatina

1.2.1 Características gerais das fissuras lábio palatinas

A presença documentada das fissuras tem acompanhado a existência humana desde o primeiro século da Era Cristã, quando primeiras evidências de fissuras labiais foram observadas em uma escultura indígena e o primeiro tratamento cirúrgico realizado quase 300 anos depois, no ano 390 D.C., na China (68). Os primeiros estudos de prevalência demonstram historicamente a preocupação com as fissuras.

Durante o período de 1833 a 1864, Frobellius, já havia encontrado 118 casos entre 180.000 crianças em um hospital de *St. Petersburg*. Em pesquisas realizadas em dezessete estados americanos a relação encontrada foi de 1:961 nativos; em Paris foi 1:950; em Washington 1:543 e 1:94 nas Filipinas (69-73). No Brasil, os estudos são escassos, destacando-se o de Fonseca & Rezende (1973), que registraram uma relação de 1:673 em São Paulo; Menezes (1988) que encontrou, em Recife, uma relação de 1:557; Capellozza Filho & Silva Filho (1992) que encontraram, em Bauru, uma relação de 1:650 nascimentos, e, Martelli-Júnior *et al.* (2006) que relataram a ocorrência de 1,46 de FL/P para cada 1.000 nascimentos anuais em Alfenas, sul de Minas Gerais (74-77). Evidências subsequentes permitiram inferir que as FL/P seriam mais prevalentes entre mongóis, rara entre negros e com posição intermediária entre caucasóides (78).

Pelo impacto que as FL/P podem causar, os pacientes devem ser acompanhados por uma equipe multidisciplinar, desde o nascimento até a idade adulta, propiciando o necessário ajustamento à sociedade (79-81). Essa abordagem terapêutica multiprofissional e interdisciplinar envolve a participação de médicos, psicólogos, fonoaudiólogos, nutricionistas, assistentes sociais, fisioterapeutas e cirurgiões dentistas (81). Entretanto, o acesso limitado aos centros multiprofissionais especializados no tratamento das deformidades craniofaciais,

no Brasil, pode dificultar e impedir a correção completa e satisfatória das FL/P, sendo essa reabilitação feita, geralmente, de modo parcial e inadequado, por profissionais muitas vezes não qualificados (82,83).

As FL/P são consideradas relevantes para o desenvolvimento anatômico, funcional, social e afetivo, e, desde o nascimento, as crianças com FL/P e seus familiares podem experimentar um significativo estresse crônico (84,85). Pacientes com FL/P apresentam maior morbidade e mortalidade quando comparados a indivíduos sem fissura (86, 87).

1.2.2 Embriologia e desenvolvimento das fissuras lábio palatinas

As fissuras lábio palatinas são malformações congênitas que se desenvolvem durante estágios precoces da embriogênese. Acontecem devido a falhas no desenvolvimento ou na maturação dos processos embrionários, ocorridos entre a 4^a e a 8^a semana de vida intra-uterina (88,89).

As regiões do lábio e do palato são desenvolvidas a partir do palato primário e secundário. O palato primário contribui para a formação do lábio e a porção pré-maxilar da maxila. O palato secundário é o primórdio das partes dura e mole do palato. Sabe-se que as formações do lábio superior e do palato são temporalmente diferentes. Durante a quarta semana de gestação, células da crista neural provenientes do tubo neural anterior migram para formar a primórdia facial. Dela surge o processo nasal medial e lateral que se fundem ao processo maxilar para formar a parte central do lábio superior, o palato primário e o nariz. O palato secundário começa a ser formado na sexta semana de gestação, quando, inicialmente, suas placas palatinas aparecem como duas extensões no lado interno da maxila, ao longo da superfície lateral da língua (90) (Figura 3).

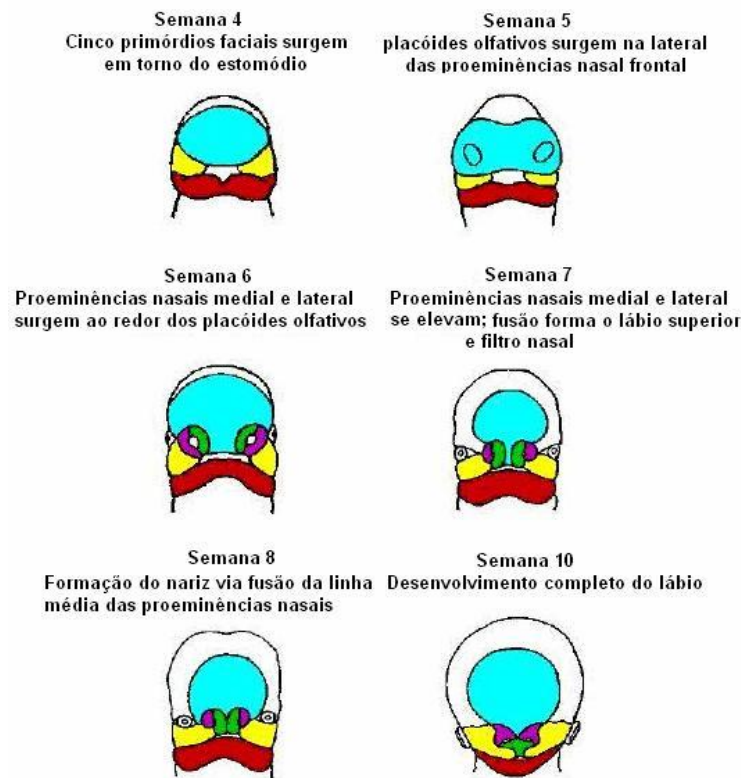


Figura 3: Desenvolvimento normal das estruturas da face em humanos. As cores representam as seguintes proeminências: azul=frontonasal; amarelo=maxilares; vermelho=mandibulares; roxo=nasais laterais e verde=nasais mediais. Fonte: <http://www.biomed2.man.ac.uk/ugrad>.

Por volta da nona semana, ambas as placas palatinas sofrem uma rápida transformação horizontal, movendo-se sobre a língua e fusionando-se uma com a outra e com o septo nasal (88,89). Posteriormente, ocorre a diferenciação do mesênquima palatino que se diferencia em elementos musculares e ósseos, correlacionando-se, respectivamente, com a posição dos palatos mole e duro. Esse processo se completa na décima semana da embriogênese, com a finalização dos processos fusionados provenientes do palato primário e secundário e do septo nasal (Figura 4). Assim, o desenvolvimento do palato secundário em mamíferos divide o espaço oronasal em cavidades oral e nasal, permitindo que a mastigação e a respiração sejam realizadas simultaneamente (90).

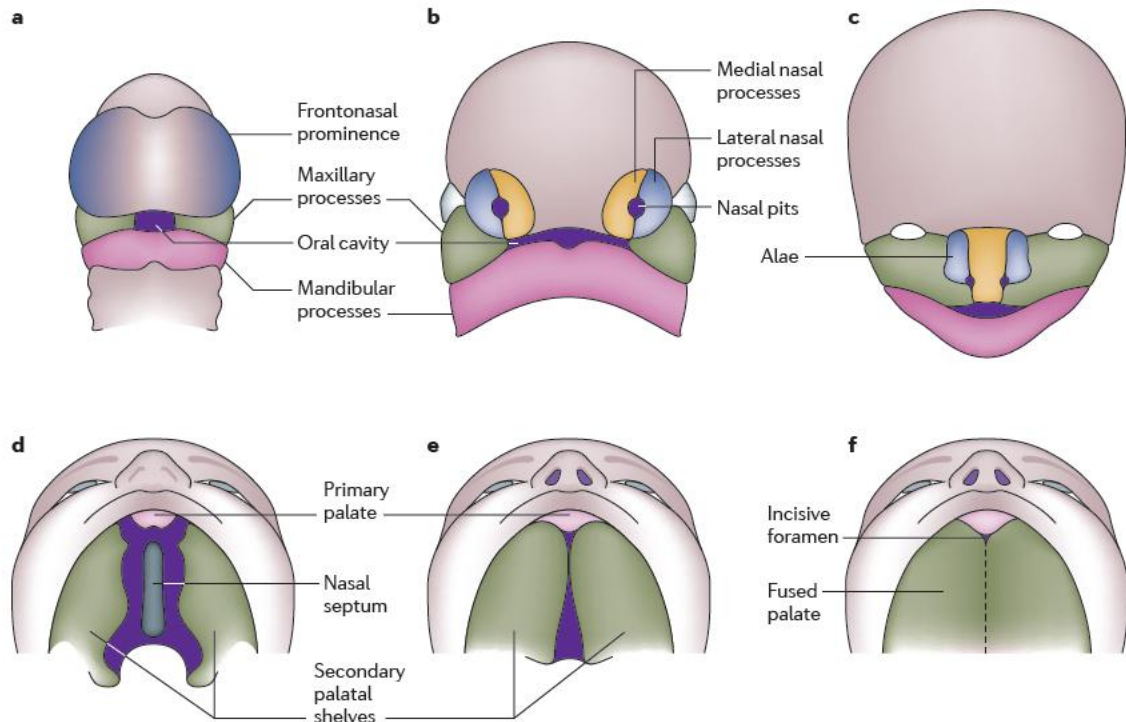


Figura 4: Desenvolvimento do Lábio e Palato: Diagramas esquemáticos do desenvolvimento do lábio e palato em seres humanos. **a** | Desenvolvimento da proeminência frontonasal, processos maxilar e mandibulares da cavidade oral primitiva, na quarta semana de desenvolvimento embrionário. **b** | Formação dos processos nasais mediais e laterais, na quinta semana. **c** | Fusão dos processos nasais mediais e maxilares para formar, respectivamente, o lábio superior e palato primário, até ao final da sexta semana. Os processos nasais laterais formam a aleta nasal. Da mesma forma, os processos mandibulares se fundem para formar o maxilar inferior. **d** | Durante a sexta semana da embriogênese, o palato secundário desenvolve-se crescendo verticalmente para baixo ao lado da língua. **e** | Posteriormente, as prateleiras palatais elevam para uma posição horizontal acima da língua, entrando em contato um com o outro, iniciando-se a fusão. **f** | Fusão de prateleiras palatais, finalmente, divide o espaço oronasal em cavidades orais e nasais (91). **Fonte:** (Thomason & Dixon, 2009).

O desenvolvimento do lábio e do palato envolve uma cascata de eventos de alta complexidade, coordenados pela interação de fatores de transcrição e sinalizadores moleculares, juntamente com interações célula-célula e aquisição de polarização celular que são essenciais para o desenvolvimento normal da face durante a embriogênese (90,91). Os distúrbios ocorridos durante esses processos de formação teciduais ou na fusão deles, assim como os distúrbios nos genes controladores desses mecanismos e/ou a inibição desses genes, por agentes teratogênicos podem resultar na ocorrência de FL/P (92). Esses eventos biológicos de formação facial são controlados por diversos genes, como a família de genes *homeobox*, *SHH* (*sonic hedgehog*), *OXT* (*orthodontical*), *GSC* (*gosecoid*), *DLX* (*distalless*), e

MSX (muscle segment homeobox). Esses genes, em condições normais, são derivados da crista neural e são expressos no ectomesênquima. Assim, muitos desses genes têm sido associados à patogênese das FL/P (92).

Como manifestação clínica da alteração embriológica, as FL/P podem ser categorizadas em 3 grupos distintos, representados pelas FL, FLP e FP. Desta forma, alterações na fusão das proeminências maxilares e nasal média e/ou das placas palatinas resultam nas fissuras em suas respectivas áreas (93). FL/P aparece comumente como FL com ou sem FP ou FP isolada. Essa subdivisão é validada pela constatação de que, na maioria dos casos, FL com ou sem FP e FP isolada não segregam na mesma família (90). Adicionalmente, há evidências de que FP isolada comporta-se como uma entidade distinta geneticamente da FL e FL/P (94).

1.2.3 Incidência das fissuras lábio palatinas não sindrômicas

A incidência de FL/PNS na população varia de acordo com a origem étnica, localização geográfica, gênero e *status* socioeconômico (95,96). Verifica-se que indígenas americanos e asiáticos apresentam a maior incidência (1/500 nascimentos) seguida pelos caucasianos (1/1000 nascimentos), enquanto que os africanos apresentam a menor incidência (1/2500 nascimentos) (95-97).

Considerando os aspectos epidemiológicos das FL/PNS, estudos foram realizados tanto no âmbito nacional como internacional. Fogh-Andersen (1961) avaliou dados de 2355 pacientes e constatou relação de aproximadamente 1 caso em cada 1000 nascimentos (98). Gregg *et al.* (1994), na Irlanda do Norte, entre 1980 e 1990, constataram incidência de 1,28 casos por 1000 nativos (99). No Brasil, Nagem-Filho *et al.* (1968), observaram ocorrência de 1:650 nascimentos, na cidade de Bauru, São Paulo (100). Ainda no Brasil, Arce *et al.* (1968), em regiões urbanas e rurais do estado de Minas Gerais, verificaram incidência de aproximadamente 0,82 casos em cada mil nascimentos (101). Martelli-Júnior *et al.* (2006), estudando a população do município de Alfenas, Minas Gerais, entre os anos de 1986 a 1998, verificaram a incidência de 1,46 FLP para cada 1.000 nativos (77).

Alguns estudos indicam que filipinos e chineses nascidos nos Estados Unidos, com uma melhor condição socioeconômica, têm uma menor incidência de FL/P e FL/PNS do que aqueles nascidos em seus próprios países (95,102,103). Estes dados dão suporte aos achados

de que indivíduos nascidos em condições socioeconômicas mais baixas têm um risco aumentado para FL/PNS (104). As diferenças observadas entre os diferentes *status* socioeconômicos podem estar relacionadas a fatores ambientais como ingestão de vitaminas, nutrição ou assistência médica disponível (80).

Estudos indicam que existe diferença entre a incidência das FL/PNS entre o gênero masculino e feminino. As FL/PNS, de um modo geral, são mais frequentes no gênero masculino comparado ao feminino (2:1) (105,106). Estima-se que de 60% a 80% dos portadores de FL/P sejam do gênero masculino (108). Sabe-se ainda que quanto mais grave o defeito, maior a predileção pelos homens (108). Quando as FL/PNS são analisadas separadamente, também existem diferenças entre os gêneros. Para FL observa-se uma relação entre o gênero masculino e feminino de 1,5:1; e para FLP, uma razão de 2:1, respectivamente entre masculino e feminino (108,109). Por outro lado, a FP é mais comum no gênero feminino, ocorrendo numa razão de 1,5:1 (106). Existem evidências de que esta razão entre gênero masculino e feminino para FP aumenta de acordo com a gravidade do fenótipo (104).

1.2.4 Características clínicas e classificação das fissuras lábio palatinas

As FL/P constituem as anomalias congênitas mais comuns da área craniofacial. Em várias partes do mundo, a ocorrência de FL/P é maior que a frequência de defeitos do tubo neural e da síndrome de Down (78). Clinicamente, as FL/P são decorrentes da falta de fusão embrionária do lábio e/ou palato. Surgem na vida pré-natal, quando a formação da face representa um dos complexos eventos do desenvolvimento embrionário, associado aos fatores filo e ontogenéticos (110). A forma de apresentação clínica das FL/P varia, consideravelmente, apresentando-se desde a fissura submucosa ou úvula bífida até FL/P bilateral completa (111).

Em relação à extensão anatômica, 80% dos casos de FL são unilaterais, e 20% bilaterais. Aproximadamente 70% das FL ocorrem no lado esquerdo (107). A razão entre as FL unilaterais esquerda, fissuras unilaterais direita e fissuras bilaterais é de 6:3:1, respectivamente (112). Estudo realizado no Brasil evidenciou maior ocorrência de FL/P, seguidas respectivamente, pelas FL e FP, isoladas (81).

Em função das diferentes apresentações clínicas das FL/P, existem diversos critérios de classificação, baseando-se em aspectos variados como, por exemplo, características morfológicas (121) e embrionárias (113,114). A partir das classificações de Davis & Ritche (1923) e Veau (1971) surgiram diversas classificações, destacando-se a de Spina *et al.* (1972) e Spina (1973), que possui como referência anatômica o forame incisivo (115,116). Essa classificação mostra-se simples e prática para equipes multiprofissionais atuarem, sendo dividida em três diferentes grupos (117) (Figura 5).

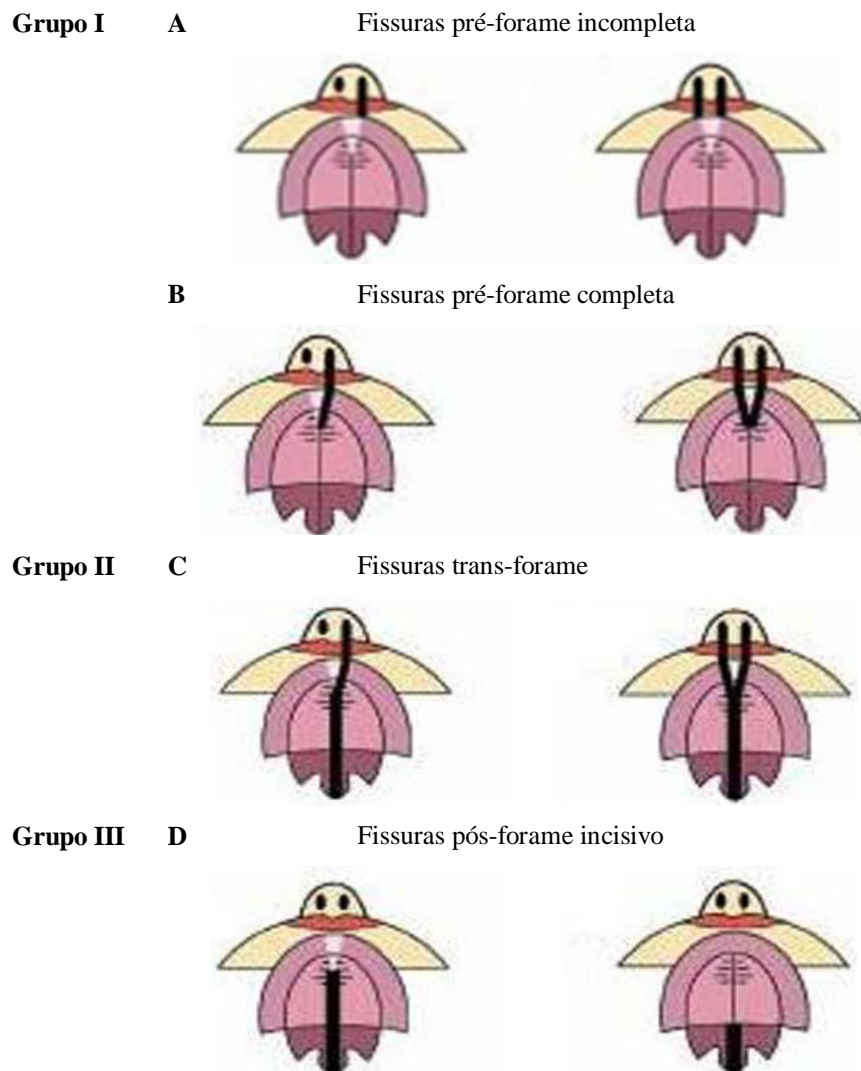


Figura 5: Representação esquemática das fissuras segundo a localização do forame incisivo.

Fonte: (Spina, 1973).

As fissuras pré-forame são aquelas que atingem o lábio, uni ou bilateralmente (incompleta) podendo chegar até o forame incisivo (incluindo fissura do palato primário), quando então são

chamadas de completa. As fissuras pós-forame são aquelas que atingem o palato secundário, podendo atingir somente a parte mole (incompleta) como também as partes mole e dura do palato secundário (completa). As fissuras que atingem apenas a úvula também são chamadas de pós-forame. As fissuras trans-forame são aquelas que têm início no lábio, passam pelo forame incisivo e atingem o palato secundário (117).

Além das fissuras descritas, existem as fissuras raras da face representadas pela fissura facial lateral, fissura facial oblíqua, fissura mediana do lábio superior, fissuras medianas alveolares anteriores da maxila, fissura mentoniana, entre outras (119,121).

1.2.5 Fissura de lábio e/ou palato *versus* fissura de palato isolada

Embriologicamente devem ser distinguidas as FL e FLP das FP, uma vez que o desenvolvimento e o mecanismo fisiopatológico de ambas são distintos (85). A FLP é mais comum que a FL ou FP isoladas, correspondendo a aproximadamente 50% dos casos contra 25% de FL e 25% da FP (122). Sabe-se ainda que FL, FLP e FP podem ter causas genéticas distintas quando se observou que indivíduos com FL e FLP raramente tinham parentes com FP. Se a FL e a FLP e a FP fossem geneticamente relacionadas, seria esperada a ocorrência mais frequente de ambas em famílias com vários indivíduos afetados. Além disso, nenhum dos pares de gêmeos, especialmente os monozigóticos, apresentou ambas as fissuras, reforçando a idéia de que são grupos genéticos distintos. Por essa razão, as FL e FLP são estudadas separadamente das FP quando se trata de fatores genéticos (69).

1.2.6. Fissura lábio palatina *sindrômica versus* não *sindrômica*

Aproximadamente 1 em cada 500 a 2.500 nativos apresenta algum tipo de fissura orofacial, podendo estar associada ou não a síndromes (122). Nesse contexto, as FL/P podem ocorrer isoladamente ou em conjunto com outras alterações que caracterizam uma síndrome como, por exemplo, anomalias estruturais, atraso de desenvolvimento ou características dismórficas. Estudos sugerem que aproximadamente 70% dos casos de FL/P e 50% de FP não são *sindrômicas*, ou seja, não estão associados a qualquer outra anomalia física e/ou do desenvolvimento (123,124).

Os casos *sindrômicos* podem ser subdivididos entre as mais de 400 síndromes mendelianas conhecidas, agrupadas em síndromes de herança não caracterizada, síndromes monogênicas,

formas associadas a distúrbios cromossômicos (especialmente a trissomia do 13) e aquelas resultantes de ação teratogênica (embriopatia da rubéola, talidomida e anticonvulsivantes) (125,126). Dentre as síndromes associadas com as FL/P, a síndrome de Van der Woude (SVW) (OMIM #119300), também conhecida como síndrome das fossetas labiais e FL/P (127), é a forma sindrômica mais comum de fissuras orais, afetando aproximadamente 1 em cada 40.000 a 100.000 nativos (128,129).

Outra anomalia bem reconhecida como caracterizada por FP é a seqüência de Pierre Robin e pode ocorrer como um fenômeno isolado ou estar associada à ampla variedade de síndromes ou outras anomalias. Além disso, aproximadamente 5% das deleções e duplicações autossômicas que resultam em defeitos congênitos têm presença de FL ou FLP (130).

A busca por mutações em genes envolvidos nos casos sindrômicos de FL/P ou FP pode ajudar a desvendar o papel dos mesmos na etiologia das FL/PNS (130).

1.2.7 Subfenótipos em fissuras lábio palatinas não síndrômicas

A acurácia fenotípica é essencial para compreensão da epidemiologia e da etiologia de qualquer malformação congênita, pois o poder de detectar efeitos é enfraquecido quando grupos heterogêneos são tratados como uma entidade única. Embora fissuras do lábio e palato mostrem uma gama de expressão fenotípica, elas geralmente são definidas como características qualitativas (ou seja, afetados ou não afetados). Entretanto, dividir FL/P desta forma simplista potencialmente pode resultar em perda de informações importantes.

Uma atenção especial a fenótipos é um instrumento importante para aprofundar a compreensão da heterogeneidade genética subjacente da FL/PNS (131). Além disso, numerosas linhas de evidência atuais sugerem que o espectro fenotípico de FL/PNS é ainda mais complexo e deve incluir uma variedade de características fenotípicas subclínicas, observadas no indivíduo com ou sem FL/P e/ou em seus parentes (132). Fenótipos subclínicos podem incluir ainda alterações em estruturas menores incluindo, “pits/prints” (falhas no esmalte dentário) em lábio (133), anomalias dentárias (134), defeitos do músculo oral e orbicular (132,133) e baixo quociente de inteligência (135).

1.2.8 Etiologia das fissuras lábio palatinas

A etiologia e a patogênese das FL/P, particularmente as não sindrômicas, ainda são pouco conhecidas. Isso reflete a complexidade e a diversidade dos mecanismos moleculares que ocorrem durante a embriogênese, somado aos fatores genéticos e ambientais que influenciam a ocorrência das fissuras. Fogh-Andersen, baseado em estudo de população na década de 40, do século passado, relatou que as FL/PNS têm forte componente genético (69). Warkany, nessa mesma década, propôs que anomalias craniofaciais poderiam ser causadas também por exposição a fatores ambientais (137). Desde então, vários estudos com modelos animais, estudos genéticos e epidemiológicos têm sido usados para identificar fatores envolvidos no desenvolvimento facial, em particular nas dismorfologias craniofaciais (138). Além disso, investigações científicas têm estimado que cerca de 3 a 14 genes possam interagir e estar envolvidos na etiologia das FL/P (139). Evidências sugerem que as FL/P resultam de fatores múltiplos, genéticos e não genéticos, cada um deles causando uma pequena perturbação do desenvolvimento (140).

1.2.9 Fatores de risco das fissuras lábio palatinas

A identificação dos fatores etiológicos envolvidos em uma doença é de grande importância, porque, conhecendo-os, é possível melhorar a compreensão da doença e estabelecer medidas de prevenção (141). Particularmente, as FL/P são multifatoriais, apresentando fatores de risco ambientais e genéticos (142). Entre os fatores de risco ambientais para FL/P destacam-se, entre outros, o fumo, o álcool, a idade materna e paterna avançadas, uso de certos medicamentos, a ordem de paridade, o intervalo interpartal e as deficiências de ácido fólico (141,143). Sugere-se ainda como fatores de risco ambientais, doenças infecciosas, agentes químicos, dieta deficiente e uso de drogas no período pré-natal; além dos fatores de risco genéticos, incluindo mutações gênicas, interações entre genes e entre genes e ambiente (144). É importante ressaltar que o nível do ácido fólico, exposição ao tabaco e o uso do álcool são de especial interesse na etiologia das FL/PNS, uma vez que poderiam ser controlados pela mãe durante a gestação (145). A variável idade materna e paterna tem sido considerada como fator de risco para as FL/P, embora numa meta-análise realizada por Vieira *et al.* (2002) os resultados apresentem-se contraditórios (143).

Um fator associado para as FL/P é a baixa escolaridade (146). Populações de países em desenvolvimento apresentam características sociais, políticas e econômicas muito particulares para a compreensão de potenciais riscos teratogênicos, às quais uma mulher grávida pode estar exposta (147). Essas características incluem baixos níveis educacionais e econômicos da população, incidência significativa de doenças infecciosas e carenciais, além da prática freqüente da automedicação, pela facilidade de obtenção de medicações que deveriam estar submetidas à prescrição médica. Pode somar-se ainda, uma qualidade ambiental precária ou mesmo condições de trabalho insalubres durante a gravidez (146). Entre diversos fatores relatados como de risco para FL/P destacam-se ainda o baixo peso ao nascer e variação sazonal (148-150).

Vários estudos mostraram que a taxa de concordância entre os gêmeos monozigóticos é de aproximadamente 40% enquanto que nos gêmeos dizigóticos esta taxa é aproximadamente 5%. Se a etiologia das FL/PNS fosse apenas genética, a taxa de concordância entre gêmeos monozigóticos deveria ser de 100%. Entretanto, essas taxas sugerem que existe o fator genético, mas, também existem fatores ambientais envolvidos (151,152).

1.2.10 Alterações oftalmológicas na fissura lábio palatina

A patogênese das alterações oculares associadas as FL/P é de difícil compreensão. A explicação mais provável é a ocorrência de defeitos durante a organogênese no período embrionário precoce, quando estão sendo formadas todas as estruturas da face, do segmento anterior do olho e das pálpebras (153). O mecanismo envolvendo o movimento e o processo de fusão dos tecidos mesodérmicos têm sido estudados extensivamente nas fissuras orofaciais, mas os resultados podem ser aplicados a outros tipos de fissuras (154,155).

Uma regulação genética eficiente é crítica para a embriogênese ocular bem sucedida. Os dois genes que foram descritos como os mais importantes no desenvolvimento ocular são o gene *PAX6* (cromossomo 11p13) e o gene *Rx* (cromossomo 18). Ambos os genes pertencem a uma grande família de fatores que estão relacionados com a região da proteína de homeodomínio emparelhado *Drosophila* (homeobox). Indução precoce de ambos os genes causa uma série de ativações ou inibições em outros genes que são equivalentes para o desenvolvimento normal do globo ocular e seus anexos. *Rx* e *PAX6* são ambos expressos por células em fase de proliferação. Mutações do *PAX6* levaram a defeitos de aniridia, catarata congênita, anomalia

de Peter, e defeitos de fusão da linha média da face. A ausência deste gene leva ao grave quadro anofthalmia. O gene *Rx* é associado com doenças vasoproliferativas da retina, entre estas as degenerações relacionadas à idade e tumores vasculares (156). Os defeitos no aparelho visual podem ser vistos em modelos de defeito do movimento e fusão dos tecidos mesenquimais. Entre a 17^a e 22^a semanas, três migrações de tecidos mesodérmicos ocorrem a partir da borda do cálice óptico (157). Por sua vez, eles formam o endotélio da córnea, as células do estroma da córnea e a porção da íris mesodérmica. Estas migrações tem o efeito adicional de separar a lente intraocular da córnea. Migrações mesodermiais defeituosas da borda superior do cálice óptico seriam responsáveis por alterações de desenvolvimento da córnea, erros na separação da lente intraocular e graus variados de aniridia. Ao mesmo tempo, as pálpebras estão sendo formadas acima e abaixo dos olhos como uma camada de mesoderma coberta por ectoderme nos dois lados e avançam para a sua fusão na frente da córnea central (157).

O coloboma da pálpebra pode representar uma fusão inadequada do epitélio associada à morte celular. Doenças caracterizadas por FL/P e coloboma de pálpebra são chamadas de fissuras orais (153). De acordo com os estágios Carnegier, as principais malformações congênicas do olho e seus anexos ocorrem entre a quarta e oitava semanas do período embrionário, enquanto as FL/P ocorrem entre sexta e oitava semanas. Ou seja, existe um período embrionário comum da sexta até a oitava semana de gestação em que ocorrem tanto alterações visuais quanto orofaciais (157).

1.2.11 Hipertelorismo na fissura lábio palatina

Os olhos comandam um alto grau de importância em termos de função e estética e podem estar envolvidos em mal formações faciais. As cavidades orbitais ocupam uma posição estratégica interpostas entre o crânio e a face média. A localização anormal das órbitas torna-se um problema que carece atenção especializada (158).

O termo hipertelorismo define o aumento da distância entre os olhos como um sinal encontrado em diversas malformações craniofaciais, como fissuras complexas, displasias frontonasais, craniossinostoses e fissuras lábio palatinas (159). Vários autores se propuseram a criar métodos para diagnosticar e mensurar o hipertelorismo e Gunther (1933) criou o índice cantal, método de diagnóstico clínico mais aceito para o hipertelorismo (160). O termo

hipertelorismo passou a ser definido como o aumento da distância entre as órbitas medidas a partir da porção mais medial de suas paredes internas (161).

Hipertelorismo pode ser de causa heterogênea, associado a síndromes ou estar isolado, embora diferentes causas não levam a uma via patogênica comum. Ele pode ser visto em uma grande variedade de patologias, entre elas, as fissuras carnofaciais, displasias frontonasais e craniossinostoses com as síndromes de Apert e Crouzon (162). Várias teorias sobre a patogenia do hipertelorismo tem sido aventadas, porém, a mais aceita atualmente é a decorrente do aumento do seio do osso etmóide para as laterais (160).

Alguns autores mostraram um aumento da distância interorbital em pacientes com fissura orofacial não-sindrômica (163,164). Aduss (1971) mostrou que ocorre um aumento maior que 1 desvio padrão na distância interorbital em fissuras labiais com ou sem fissura palatina associada, porém, não encontrou aumento da distância interorbital nas fissuras palatinas isoladas (165). O mecanismo resultante da associação entre fissura orofacial e hipertelorismo é desconhecido. Moss (1965) sugere que um defeito inespecífico na cápsula nasal pode estar relacionada à fissura orofacial e ao aumento da distância interorbital (160).

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo geral

- Avaliar as características clínicas, imaginológicas e genéticas na síndrome de Waardenburg e analisar a presença de alterações oftalmológicas na fissura lábio palatina não sindrômica.

2.2 Objetivos específicos

- Descrever as características clínicas e imaginológicas dos membros de uma família com a síndrome de Waardenburg.
- Avaliar as características oftalmológicas dos pacientes com a síndrome de Waardenburg, incluindo a medida da acuidade visual, a pesquisa de *dystopia canthorum*, estudo da coloração da íris e mapeamento de retina.
- Analisar a presença de mutação no gene *PAX3*, causador da síndrome de Waardenburg.
- Realizar uma revisão sistemática da literatura sobre as alterações oftalmológicas na fissura lábio palatina não sindrômica.
- Avaliar a frequência de hipertelorismo em pacientes com fissura lábio palatina não sindrômica.

3 METODOLOGIA

Os três estudos que serão apresentados como produtos deste trabalho decorreram da elaboração de dois projetos de pesquisa: “*Avaliação clínica, imaginológica e genética da síndrome de Waardenburg*”, “*Avaliação de hipertelorismo nas fissuras lábio palatinas não sindrômicas*” e uma revisão sistemática de literatura. A seguir são descritas características metodológicas referentes aos dois projetos:

3.1 Delineamentos dos estudos

3.1.1 Projeto “*Avaliação clínica, imaginológica e genética da síndrome de Waardenburg*”.

Trata-se de um estudo descritivo que avaliou as características clínicas, imaginológicas e genéticas de uma família com a síndrome de Waardenburg.

3.1.2 Projeto “*Avaliação de hipertelorismo nas fissuras lábio palatinas não sindrômicas*”

Trata-se de um estudo caso-controle pesquisou e comparou a presença ou não de hipertelorismo em um grupo de pacientes com fissura labial e/ou palatina não sindrômica com o grupo controle.

3.2 População

3.2.1 Projeto “*Avaliação clínica, imaginológica e genética da síndrome de Waardenburg*”

Participaram deste estudo todos os membros (afetados e não afetados) de uma família previamente identificada com características sugestivas de síndrome de Waardenburg, residente no município de Patis, localizado no norte de Minas Gerais, a 100 km do município de Montes Claros.

3.2.2 Projeto “*Avaliação de hipertelorismo nas fissuras lábio palatinas não sindrômicas*”

Foram estudados 150 pacientes com fissura labial e/ou palatina não sindrômica do Centro de Reabilitação de Anomalias Craniofaciais de Alfenas, Minas Gerais, Brasil e 206 pacientes

normais pareados por gênero e idade, freqüentadores do departamento de odontologia da Universidade de Alfenas.

3.3- Coleta de dados:

3.3.1 Projeto “*Avaliação clínica, imaginológica e genética da síndrome de Waardenburg*”

Os membros da família de Patis foram reunidos na unidade de saúde de Patis, onde a equipe do projeto, formada por médicos e dentistas, explicou em linguagem fácil e acessível o estudo a ser realizado. A avaliação médica consistiu em anamnese e exame físico completo, preenchendo o formulário médico (Anexo A). O estudo oftalmológico abordou a medida da acuidade visual, presença de distopia cantorum, análise da coloração da íris e mapeamento de retina. A avaliação odontológica consistiu em verificar a presença de alterações orais e faciais, preenchendo o formulário odontológico (Anexo B). Os indivíduos que apresentaram alterações físicas associadas à síndrome, exemplificados pelas mechas brancas no cabelo, *distopia cantorum*, áreas de hipopigmentação na pele e alterações buco-maxilo-faciais foram submetidos a fotografias para documentação dos casos. Foi construído um heredograma abrangendo o maior número de componentes da família para determinar o padrão de herança da síndrome. Os familiares acometidos por alterações clínicas, dermatológicas, otológicas e oftalmológicas foram encaminhados para o respectivo departamento médico, no Hospital Universitário Clemente de Faria da Unimontes, Montes Claros. Pacientes apresentando alterações odontológicas foram encaminhados para exames imaginológicos na clínica especializada Radiocenter, em Montes Claros. A avaliação audiológica completa foi realizada nos membros que previamente foram detectadas alterações na primeira avaliação. Esse exame constou de uma otoscopia, audiometria e impedanciometria. O estudo dermatológico detalhado, também para os que apresentaram os sinais clínicos da despigmentação, foi conduzido por uma dermatologista e consistiu na análise clínica e caracterização diagnóstica das lesões na pele e cabelo dos pacientes. Os pacientes de Patis foram recepcionados em Montes Claros pela equipe do estudo, que os acompanhou durante toda a realização dos exames.

A avaliação genética constou da construção de um heredograma, comportando o máximo de gerações possíveis da família, a fim de se identificar o padrão de herança da síndrome, a

variabilidade da expressão fenotípica, bem como a penetrância da doença. Também foi feita a extração do DNA para a pesquisa de mutação. O DNA foi extraído a partir de células de mucosa oral, obtidas através de bochecho. Análise do exon 2-8 do gene *PAX3* foi realizada usando primers específicos. Os produtos de PCR foram sujeitos a análise de sequência bi-direccional usando o ABI Prism 3500 Genetic Analyser (Applied Biosystems, Foster City, CA, EUA).

3.3.2 Projeto "*Avaliação de hipertelorismo nas fissuras lábio palatinas não sindrômicas*"

Os pacientes com fissura labial e/ou palatina não sindrômica e os do grupo controle foram submetidos ao exame das medidas das distâncias orbitárias com uma régua rígida milimetrada na posição primária do olhar. Foram obtidas as medidas da distância entre os cantos externos dos olhos e cantos internos dos olhos. Após a obtenção das medidas foi calculado o índice cantal resultante da razão entre o valor da distância cantal interna (CI) pela distância cantal externa (CE) multiplicado por 100.

$C = CI/CE \times 100$. Um valor maior ou igual a 48 é diagnóstico para hipertelorismo (160).

3.4 Análise dos resultados

As medidas obtidas foram organizadas em um banco de dados. Tabelas e gráficos foram construídos para permitir melhor clarividência das análises.

3.5 Aspectos éticos

Os projetos foram desenvolvidos de acordo com os preceitos determinados pela Resolução 466/2012 do Conselho Nacional de Saúde do Ministério da Saúde. O projeto "*Avaliação clínica, imaginológica e genética da síndrome de Waardenburg*" foi submetido à análise ao Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Estadual de Montes Claros, sendo favorável à sua execução – parecer consubstanciado, tendo recebido parecer favorável nº 2791/2011 (Anexo C). Já o projeto "*Avaliação de hipertelorismo nas fissuras lábio palatinas não sindrômicas*" foi submetido ao Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade José do Rosário Velano, sendo favorável à sua execução – parecer consubstanciado nº

311.756/2013 (Anexo D). Todos os indivíduos participantes dos estudos foram devidamente informados a respeito dos mesmos e consentiram sua participação através da assinatura do Termos de Consentimento Livre e Esclarecido para Participação em Pesquisa (Apêndices A e B).

4.1 Artigo 1: *Waardenburg syndrome type I: dental phenotypes and genetic analysis of an extended family*, publicado no periódico *Med Oral Patol Oral Cir Bucal*.

4.2 Artigo 2: *Ophthalmic changes in cleft lip and palate*, publicado no periodico *Revista Brasileira de Oftalmologia*.

4.3 Artigo 3: *Evaluation of the presence of hypertelorism in cleft lip and palate (Letter to Editor)*, redigido para submissão ao periódico *Acta Ophthtalmogica*.

Journal section: Oral Medicine and Pathology
 Publication Types: Research

doi:10.4317/medoral.20789
<http://dx.doi.org/doi:10.4317/medoral.20789>

Waardenburg syndrome type I: Dental phenotypes and genetic analysis of an extended family

Luciano Sólía-Nasser ¹, Sibeles-Nascimento de Aquino ², Lívia-Marís-R. Paranaíba ³, Andreia Gomes ³, Pedro dos-Santos-Neto ¹, Ricardo-D. Coletta ⁴, Aline-Francoise Cardoso ¹, Ana-Cláudia Frota ⁵, Hercílio Martelli-Júnior ^{1,3}

¹ Health Science Program, State University of Montes Claros, Unimontes, Montes Claros, Minas Gerais State, Brazil

² Dental School, Federal University of Juiz de Fora, Governador Valadares, Minas Gerais, Brazil

³ Dental School, State University of Montes Claros, Unimontes, Montes Claros, Minas Gerais State, Brazil

⁴ Oral Pathology, School of Dentistry, State University of Campinas, Piracicaba, São Paulo, Brazil

⁵ Faculty of Medicine, State University of Montes Claros, Unimontes, Montes Claros, Minas Gerais State, Brazil

Correspondence:

Rua Walter Ferreira Barreto, 57
 Zip Code: 39401-347
 Montes Claros
 Minas Gerais, Brazil
solianasser@gmail.com

Sólía-Nasser L, de Aquino SN, Paranaíba LMR, Gomes A, dos-Santos-Neto P, Coletta RD, Cardoso AF, Frota AC, Martelli-Júnior H. Waardenburg syndrome type I: Dental phenotypes and genetic analysis of an extended family. Med Oral Patol Oral Cir Bucal. 2016 May 1;21 (3):e321-7. <http://www.medicinaoral.com/medoralfree01/v21i3/medoralv21i3p321.pdf>

Received: 23/04/2015
 Accepted: 27/01/2016

Article Number: 20789 <http://www.medicinaoral.com/>
 © Medicina Oral S. L. C.I.F. B 96689336 - pISSN 1698-4447 - eISSN: 1698-6946
 eMail: medicina@medicinaoral.com
 Indexed in:
 Science Citation Index Expanded
 Journal Citation Reports
 Index Medicus, MEDLINE, PubMed
 Scopus, Embase and Emcare
 Índice Médico Español

Abstract

Background: The aim of this study was to describe the pattern of inheritance and the clinical features in a large family with Waardenburg syndrome type I (WS1), detailing the dental abnormalities and screening for PAX3 mutations.

Material and Methods: To characterize the pattern of inheritance and clinical features, 29 family members were evaluated by dermatologic, ophthalmologic, otorhinolaryngologic and orofacial examination. Molecular analysis of the PAX3 gene was performed.

Results: The pedigree of the family, including the last four generations, was constructed and revealed non-consanguineous marriages. Out of 29 descendants, 16 family members showed features of WS1, with 9 members showing two major criteria indicative of WS1. Five patients showed white forelock and iris hypopigmentation, and four showed dystopia canthorum and iris hypopigmentation. Two patients had hearing loss. Dental abnormalities were identified in three family members, including dental agenesis, conical teeth and taurodontism. Sequencing analysis failed to identify mutations in the PAX3 gene.

Conclusions: These results confirm that WS1 was transmitted in this family in an autosomal dominant pattern with variable expressivity and high penetrance. The presence of dental manifestations, especially tooth agenesis and conical teeth which resulted in considerable aesthetic impact on affected individuals was a major clinical feature. **Clinical relevance:** This article reveals the presence of well-defined dental changes associated with WS1 and tries to establish a possible association between these two entities showing a new spectrum of WS1.

Key words: Waardenburg syndrome, hearing loss, oral manifestations, mutation.

Introduction

Waardenburg syndrome type 1 (WS1; MIM #193500) is a rare autosomal dominant disorder characterised by congenital sensorineural hearing loss, dystopia canthorum and depigmentation of the hair (white forelock), skin and iris (heterochromic or hypochromic iris) (1). Musculoskeletal abnormalities of the limbs, Hirschsprung disease and neurological defects may also be observed (2). The prevalence of WS is estimated at 1:42 000, and is responsible for 1-3% of all congenital deafness cases (2). Although first described in northern Europeans (3), the disease has frequently been reported to occur in other ethnic and racial groups (4,5).

Waardenburg syndrome (WS) is classified into four types depending on the additional symptoms present: WS1, WS2, WS3 and WS4. Type I (WS1; MIM #193500) is the classic form of WS with dystopia canthorum (lateral displacement of the inner canthi), whereas type II (WS2; MIM #193510) is characterized by the presence of unpigmented tissue and deafness without dystopia canthorum. Type III (WS3 or Klein-Waardenburg syndrome; MIM #148820) is similar to type 1 WS with additional musculoskeletal abnormalities, and type IV (WS4 or Shah-Waardenburg syndrome or Waardenburg-Hirschsprung disease; MIM #277580) is characterized by the presence of an aganglionic megacolon. A neurological variant of WS4 is a complex neurocristopathy comprised of four distinct syndromes: peripheral dysmyelination neuropathy, central dysmyelination, WS and Hirschsprung disease (PCWH; OMIM 609136), and is a potentially fatal disease (6). The diagnosis of WS1 requires the presence of at least two major criteria, or one major and two minor criteria (Table 1).

The six genes associated with WS (PAX3, SOX10, MITF, SNAI2, EDN3 and EDNRB) are involved in a network of interactions, and mutations in these genes determine faults in embryogenesis derived from neural crest cells and characterise the phenotypic diversity of WS (1). Mutations in PAX3 (paired box 3 transcription factor) have been found in WS type I and II in numerous studies (7,8).

Oral manifestations of the syndrome have been described in several studies as dental agenesis, cleft lip

and/or palate, tooth enamel malformations and fissured tongue (9-13). In this article, a Brazilian family affected by WS1 is reported, and the dental phenotypes, which are very uncommon in this disorder, are detailed. Mutational analysis of the PAX3 gene was also performed.

Material and Methods

- Patients

The proband (individual IV-2); a 16-year-old girl, was referred to the Stomatology Clinic of the Dental School at the State University of Montes Claros (Minas Gerais state, Brazil) with a chief complaint of incomplete formation of the teeth. Dental evaluation showed a conical appearance of 6 teeth, oligodontia of 16 teeth and taurodontism in 1 tooth (Fig. 1). Due to the presence of clinical abnormalities such as a white forelock, achromatic spots in the abdominal region and lower limbs, as well as changes in eye colour (Fig. 2), an assessment was requested from the Department of Dermatology and Ophthalmology, which resulted in the diagnosis of WS1.

A study of the patient's extended family, which comprised 29 members, was undertaken to determine the inheritance pattern, clinical phenotypes of the disease and expressivity of the syndrome. The family pedigree, including the last four generations, was constructed (Fig. 3). The examination of the eyes involved the measurement of visual acuity, research of dystopia canthorum with a rigid ruler, colour analysis of the iris with a slit lamp and retinal mapping. Imaging analysis, including pictures of the dystopia canthorum, hypopigmentation of the iris and retina (fundus photography), changes in pigmentation of the hair and skin and dental changes was performed. Audiological assessment included otoscopy, as well as tonal and vocal audiometry. The degree of hearing loss was determined according to the method of Lloyd and Kaplan [1978], which classifies hearing loss as follows: 0-25: normal, 26-40: mild, 41-55: moderate, 56-70: moderately severe, 71-90: severe, and above 90: profound hearing loss.

- Dental analysis

Dental evaluation was performed by an experienced dentist who also investigated the presence of environmental factors as related to dental agenesis. Panoramic

Table 1. Diagnostic criteria for Waardenburg syndrome types I and II.*

MAJOR CRITERIA	MINOR CRITERIA
1-Congenital sensorineural hearing loss	1- Skin hypopigmentation
2-Pigmentary disturbances of iris	2-Medial eyebrow flare (Synophrys)
3-Hair hypopigmentation (White forelock)	3-Broad and high nasal root
4-Dystopia canthorum	4-Hypoplasia of nasi alae

radiographs and an oral cone-beam computerised tomography scan were performed (Fig. 4). Ethical approval was obtained from the Ethics Committee of the University. Informed consent was obtained from each participant before inclusion in the study.

- DNA extraction and mutational analysis

DNA was extracted from oral mucosa cells as previously described (14). Analysis of exon 2-8 of the PAX3

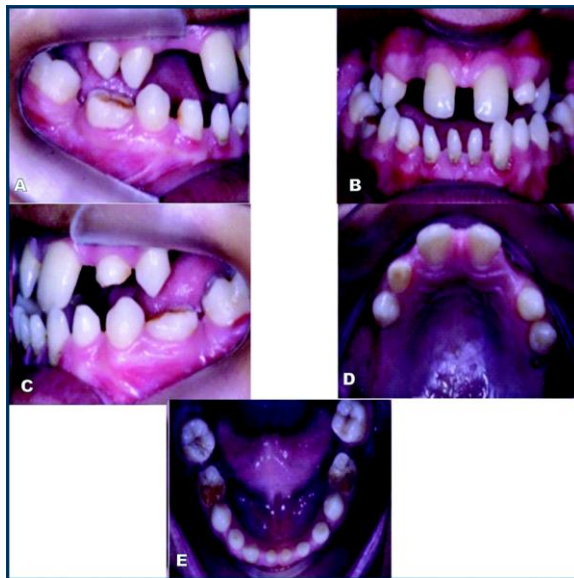


Fig. 1. Intraoral manifestations of proband affected by Waardenburg syndrome showing a conoid appearance of 6 teeth and oligodontia of 16 teeth.

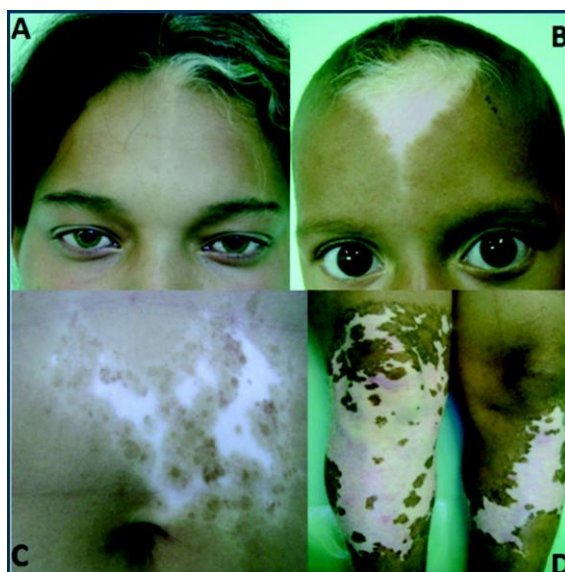


Fig. 2. Affected members of family with various clinical associations of the syndrome: white forelock in association with hypopigmented iris and white spots on skin in one of the members of the family, or white forelock and a white spot on the face.

gene was performed using specific primers to include intron-exon boundaries as previously described (15). PCR products were subjected to bi-directional sequence analysis using the ABI Prism 3500 Genetic Analyser (Applied Biosystems, Foster City, CA, USA).

Results

Clinical examination of the family members revealed that of the 29 investigated (17 males, 12 females), 16 (55.17%) presented with features of WS1, as described by Read and colleagues [1997] (Table 1). The gender distribution of the 16 symptomatic patients was 6 males (37.5%) and 10 females (62.5%). The affected patients were aged from 1 to 42 years (mean 17.93 years). Nine patients showed two major criteria (dystopia canthorum and hypopigmentation of the iris, or white forelock and hypopigmentation of the iris) and six members (I-1, II-4, III-10, IV-3, IV-4 and IV-8) showed only one major manifestation, or one major associated with minor manifestations related to WS1 as described in table 2.

There was no history of consanguinity in the family, and it was not possible to examine the earliest generation, although second-generation members stated that their mother (I-1) had a white forelock. All subsequent generations had affected members, with both males and females affected. Segregation of WS1 in this family was consistent with the autosomal dominant mode of inheritance with penetrance appearing to be complete. Clinical analysis demonstrated that the mode of expression varied. Dystopia canthorum (average of 1.96 in affected individuals), which is considered to be the main differential diagnostic criteria for WS1, appears in the third and fourth generations and in seven individuals (III-3, IV-1, IV-2, VI-3, IV-4, IV-5 and IV-10) including the proband (IV-2). The most frequent clinical manifestation was an association of the white forelock, white spots on the skin and a hypopigmented iris (Fig. 2). Two patients had hearing loss (III-3 and III-4).

Dental anomalies such as dental agenesis and conical teeth were identified in three individuals (III-6, IV-2 and IV-4). Patient IV-4 displayed four deciduous conical canines associated with oligodontia of seven teeth. Patient III-6 displayed upper and lower conical canines, and an absence of 18 teeth. The proband (IV-2) displayed a conical appearance in the four lower incisors and two lower canines, and oligodontia of 16 teeth. Additionally, it was observed a radiolucent lesion associated with periapical region of the lower left first molar (Fig. 4). The lesion was submitted to surgical exploration, which did not reveal the presence of liquid or purulent material. The clinical and histopathological aspects were compatible with an idiopathic cavity (simple bone cyst) and was observed bone remodeling in follow up. Taurodontism was identified in two patients, IV-2 (inferior second molar of the right side) and III-6 (first upper

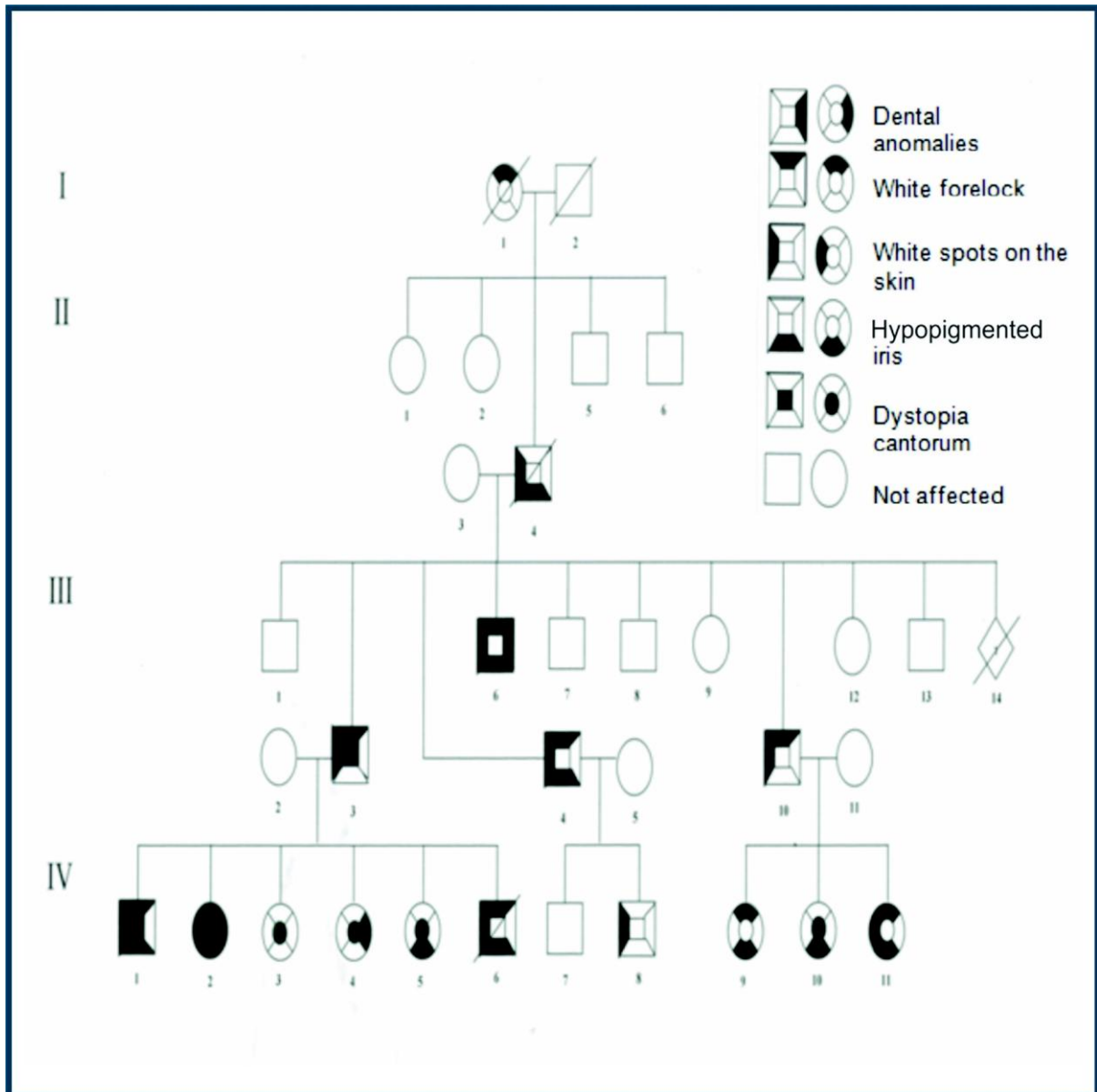


Fig. 3. Familial pedigree revealed non-consanguineous marriages and an autosomal dominant pattern of transmission affecting 16 individuals with type 1 Waardenburg syndrome.

and lower molars of the left side) as described in table 2. Sequencing analysis failed to identify mutations in the PAX3 gene in the DNA isolated from the members of this family studied.

Discussion

WS is an inherited disorder characterised by varying degrees of hearing loss and pigmentary anomalies affecting the eye, hair and skin (16). This syndrome is clinically heterogeneous and has been classified into four major types, although 10 subtypes have been reported (17). Specifically, WS1 presents with a typical phenotype called dystopia canthorum (an outward displacement of

the inner canthus of the eyes) as well as the main features of WS1. Here, one family is reported with individuals manifesting features of WS1, in which the transmission occurred as an autosomal dominant trait with a variable phenotype and high penetrance. There was no history of consanguinity in the family to suggest an autosomal recessive inheritance. The variable phenotype identified in this family, including individuals presenting with an isolated feature, is common in WS1 (18). The penetrance of the white forelock, white spots on skin and iris hypopigmentation was very high, but the penetrance of hearing loss was low, and was only observed in 2 (III-3 and III-6) of the 29 family members.

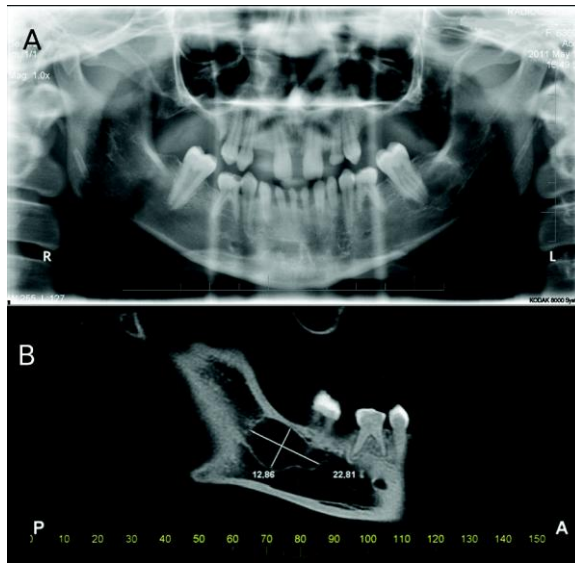


Fig. 4. A: Panoramic radiograph of the proband showed dental agenesis, conoid teeth, taurodontism and a radiolucid image of the periapical region of the first inferior molar on the left side. B: Cone beam tomography evidence detailing the radiolucid image of the periapical region of the first inferior molar on the left side, compatible with an idiopathic cavity (simple bone cyst).

All or most WS type I cases are caused by mutations at the PAX3 locus (8,15). Approximately 70 different PAX3 point mutations have been identified (1). Missense and nonsense mutations, frame shifts, small in-frame insertions or deletions and splice alterations have been described (1). About half of the mutations reported

are missense mutations, and half are truncating variations (15). In WS type I, about 95% of PAX3 mutations are located throughout exons 2-6, with the highest rate of mutation found in exon 2 (1). In addition, partial or total gene deletions in PAX3 have been described, and may represent the 10% of cases without identified point mutations (15). PAX3 encodes a transcription factor belonging to the protein-matched (pairedbox) family, and has been implicated in the development of the ear, eye, striated muscles and face (1). PAX3 is also strongly expressed during tooth development (7). Persistent PAX3 expression causes cranioskeletal defects including cleft or shortened palates that result in neonatal lethality (7). In this study, mutations in PAX3 were not found in the DNA isolated from this family. However, genes less commonly associated with WS type I such as SOX10, MITF and SNAI2 were not evaluated.

There are few reports in the literature regarding the oral manifestations of WS. Bandyopadhyay and co-workers (1999) identified only dental agenesis of the lower lateral incisors in patients affected by this disorder (11). Cleft lip and/or palate have also been described in WS (19,20) and undefined jaw malformations and mandibular prognathism were described as possibly being related to WS (10-12). Irregular teeth, abnormalities of the tooth enamel (not specified), a high palate and a fissured tongue also have been included as part of the clinical spectrum of the oral manifestations of patients affected by the syndrome (21,22). In this study, a number of oral alterations such as dental agenesis, taurodontism and conical teeth were found to be related to WS. The simple

Table 2. Clinical features of the reported patients with type I Waardenburg syndrome.

Clinical features	PATIENTS															
	I-1	II-4	III-3	III-4	III-6	III-10	IV-1	IV-2	IV-3	IV-4	IV-5	IV-6	IV-8	IV-9	IV-10	IV-11
Age (Years)	?	?	39	35	29	?	17	15	13	9	7	?	14	10	8	1
Gender	F	M	M	M	M	M	M	F	F	F	F	M	M	F	F	F
Hypopigmentation of the iris		+		+	+		+	+			+	+		+	+	+
Hypopigmentation of the skin		+	+	+	+	+	+	+				+	+			+
Hypopigmentation of the hair	+		+	+		+	+	+				+		+		+
Dystopia cantorum			+				+	+	+	+	+				+	
Hearing loss				+	+											
Oral Manifestations																
Conoid teeth					+			+		+						
Dental agenesis					+			+		+						
Taurodontism					+			+								

bone cyst observed was not considered as characteristic of the syndrome, as it is found in the general population, and has not been described in WS previously and has a possible traumatic etiology.

Agenesis of one or several teeth (oligodontia) is the most common disorder in human tooth development. Dental agenesis has been noted as a multifactorial condition with genetic, environmental, pathological and evolutionary influences (23). No environmental factors were identified in the present study as being related to dental agenesis, and despite the small number of individuals in the affected family, autosomal dominant inheritance with incomplete penetrance and variable expressivity can be identified. The prevalence of tooth agenesis varies according to the class of the tooth, and permanent dentition has been shown to be more affected than deciduous dentition (23). The prevalence of multiple dental agenesis (the absence of four or more teeth, other than the third molars) is estimated to be approximately 0.25% of the population (24). Studies involving the Caucasian population have shown that the second premolar and lateral incisor are the most commonly missing teeth (25,26). In this study, the majority of missing teeth were upper lateral incisors (12.19%) followed by lower lateral incisors, lower central incisors, upper and lower second premolars, second molars and third molars, each with a frequency of 9.75%. It was also observed that agenesis of the maxillary lateral incisors surpassed that of the third molars in this family. Epidemiologic studies have shown that dental agenesis can manifest one or as part of a syndrome (27,28). There are more than 60 syndromes associated with dental anomalies categorised in Online Mendelian Inheritance in Man (OMIM), implying that common molecular mechanisms may be responsible for changes in teeth and other organs (<http://ncbi.nlm.nih.gov/OMIM>). In this study, the presence of multiple tooth agenesis was observed in three members of the family exhibiting WS1; one member of the third generation and two of the fourth.

Conical teeth have a prevalence of approximately 1% in the general population (29). The upper lateral incisors form the class of teeth that is most affected by this change, and this is most common in females (30). In this study, the lower canine teeth were most frequently conoid (42.85%), followed by the lower incisors and canines, both with a frequency of 28.58%, characteristics that contradict the main studies on conical teeth. Females prevailed with a 2:1 ratio. Conical teeth are often associated with agenesis, and also have an autosomal dominant pattern of inheritance (30). They are often found associated with genetic disorders such as the ectodermal dysplasias, Rieger syndrome, incontinence, onicodermal and dento-pigmented syndrome (28). Phenotypic heterogeneity has been significant among families showing variable expression, and this

is characteristic of WS. The presence of strongly expressed dental alterations, especially conical teeth and tooth agenesis, results in considerable aesthetic impact on affected individuals, and this requires a multidisciplinary approach for all family members. Moreover, early diagnosis of these alterations can help to improve the quality of life of affected patients.

Conclusions

The results presented here confirm that WS1 was transmitted in this family via an autosomal dominant pattern with variable expressivity and high penetrance. The presence of mutations in the PAX3 gene was not detected in this family. It was not possible to establish a clear association between dental alterations and WS1 in the present study. Research involving larger samples, with a focus on other genes associated with WS, is required to improve the understanding of the mechanisms involved in the clinical manifestations of this rare syndrome. This will allow medical professionals to offer patients a careful genetic counselling regime and a more complete treatment.

References

1. Pingault V, Ente D, Dastot-Le Moal F, Goossens M, Marlin S, Bondurand N. Review and update of mutations causing Waardenburg syndrome. *Hum Mutat.* 2010;31:1-16.
2. Read AP, Newton VE. Waardenburg syndrome. *J Med Genet.* 1997;34:656-65.
3. Waardenburg PJ. A new syndrome combining developmental anomalies of the eyelids, eyebrows and nose root with pigmentary defects of the iris and head hair and with congenital deafness. *Am J Hum Genet.* 1951;3:195-253.
4. Otman SG, Abdelhamid NI. Waardenburg syndrome type 2 in an African patient. *Indian J Dermatol Venereol Leprol.* 2005;71:426-7.
5. Morin M, Vinuela A, Rivera T, Villamar M, Moreno-Pelayo MA, Moreno F, et al. A de novo missense mutation in the gene encoding the SOX10 transcription factor in a Spanish sporadic case of Waardenburg syndrome type IV. *Am J Med Genet.* 2008;146:1032-7.
6. Inoue K, Khajavi M, Ohyama T, Hirabayashi S, Wilson J, Reggin JD, et al. Molecular mechanism for distinct neurological phenotypes conveyed by allelic truncating mutations. *Nat Genet.* 2004;36:361-9.
7. Wu M, Li J, Engleka KA, Zhou B, Lu MM, Plotkin JB, et al. Persistent expression of Pax3 in the neural crest causes cleft palate and defective osteogenesis in mice. *J Clin Invest.* 2008;118:2076-87.
8. Chen H, Jiang L, Xie Z, Mei L, He C, Hu Z, et al. Novel mutations of PAX3, MITF, and SOX10 genes in Chinese patients with type I or type II Waardenburg syndrome. *Biochem Biophys Res Commun.* 2010;397:70-4.
9. Silan F, Demirci L, Egeli A, Egeli E, Onder HI, Ozturk O, et al. Syndromic etiology in children at schools for the deaf in Turkey. *Int J Pediatr Otorhinolaryngol.* 2004;68:1399-406.
10. Fisch L. Deafness as part of a hereditary syndrome. *J Laryngol Otol.* 1959;73:355-82.
11. Bandyopadhyay S, Prasad S, Singhanian PK. Partial anodontia in a case of Waardenburg's syndrome. *J Laryngol Otol.* 1999;113:672-4.
12. Sommer A, Bartholomew DW. Craniofacial-deafness-hand syndrome revisited. *Am J Med Genet A.* 2003;123:91-4.
13. Salvatore S, Carnevale C, Infussi R, Arrico L, Mafriaci M, Platzer AM, et al. [Waardenburg Syndrome: a review of literature and case reports]. *Clin Ter.* 2012;163:e85-94.

14. Aidar M, Line SR. A simple and cost-effective protocol for DNA isolation from buccal epithelial cells. *Braz Dent J.* 2007;18:148-52.
15. Pandya A, Xia X, Landa B. Phenotypic variation in Waardenburg syndrome: mutational heterogeneity, modifier genes or polygenic background?. *Hum Mol Genet.* 1996;5:497-502.
16. Newton VE. Clinical features of the Waardenburg syndromes. *Adv Otorhinolaryngol.* 2002;61:201-8.
17. Wang J, Li S, Xiao X, Wang P, Guo X, Zhang Q. PAX3 mutations and clinical characteristics in Chinese patients with Waardenburg syndrome type 1. *Mol Vis.* 2010;16:1146-53.
18. Arias S, Mota M. Apparent non-penetrance for dystopia in Waardenburg syndrome type I, with some hints on the diagnosis of dystopia canthorum. *J Genet Hum.* 1978;26:103-31.
19. Tay CH. Waardenburg's syndrome and familial periodic paralysis. *Postgrad Med J.* 1971;47:354-60.
20. Asher JH Jr, Friedman TB. Mouse and hamster mutants as models for Waardenburg syndromes in humans. *J Med Genet.* 1990;27:618-26.
21. Bondurand N, Dastot-Le Moal F, Stanchina L, Collot N, Baral V, Marlin S. Deletions at the SOX10 gene locus cause Waardenburg syndrome types 2 and 4. *Am J Hum Genet.* 2007;81:1169-85.
22. Dourmishev AL, Dourmishev LA, Schwartz RA, Janniger CK. Waardenburg syndrome with facial palsy and lingua plicata: is that a new type of disease. *Cutis.* 1999;63:139-41.
23. Vastardis H. The genetics of human tooth agenesis: new discoveries for understanding dental anomalies. *Am J Orthod Dentofacial Orthop.* 2000;117:650-6.
24. Sarnäs KV, Rune B. The facial profile in advanced hypodontia: a mixed longitudinal study of 141 children. *Eur J Orthod.* 1983;5:133-43.
25. Larmour CJ, Mossey PA, Thind BS, Forgie AH, Stirrups DR. Hypodontia-a retrospective review of prevalence and etiology. Part I. *Quintessence Int.* 2005;36:263-70.
26. Dechkunakorn S, Chaiwat J, Sawaengkit P. Congenital absence and loss of teeth in an orthodontic patient group. *J Dent Assoc Thai.* 1990;40:165-76.
27. Jorgenson RJ. Clinician's view of hypodontia. *J Am Dent Assoc.* 1980;101:283-6.
28. Li X, Venugopalan SR, Cao H, Pinho FO, Paine ML, Snead ML, et al. A model of molecular underpinnings of tooth defects in Axenfel-Rieger syndrome. *Hum Mol Genet.* 2014;23:194-208.
29. Bäckman B, Wahlin YB. Variations in number and morphology of permanent teeth in 7-year-old Swedish children. *Int J Paediatr Dent.* 2001;11:11-7.
30. Alvesalo L, Portin P. The inheritance of missing, peg-shaped and strongly mesiodistally reduced upper lateral incisors. *Acta Odontol Scand.* 1969;27:563-75.

Acknowledgments

This work was supported by grants from Fundação de Amparo a Pesquisa do Estado de Minas Gerais - FAPEMIG, Belo Horizonte, Brazil and from the National Council for Scientific and Technological Development-CNPq, Brazil.

Conflicts of Interest

No conflicts of interest are declared concerning the publication of this article.

Ophthalmic changes in cleft lip and palate

Alterações oftalmológicas na fissura lábio palatina

Luciano Sólía Násser¹, Daniella Reis Barbosa Martelli¹, Mário Sérgio Oliveira Swerts², Daniela Araújo Veloso Popoff¹, Letícia Monteiro de Barros², Hercílio Martelli Júnior^{1,2}

ABSTRACT

The current study aimed to analyze through a literature review evidence of association between ocular changes and non-syndromic cleft lip and/or palate (NSCL/P). A literature review was carried out in accordance with the Cochrane Collaboration Group protocol. PubMed, Scopus, Academic Google and ISI Web of Science databases were systematically searched. A total of 16 studies were accessed, and three made up the final sample. All three studied ocular abnormalities in patients with NSCL/P. The articles found ocular abnormalities in 6.21%, 17.54% and 1.03% of patients respectively. The presence of ocular abnormalities in patients with NSCL/P was significant in this systematic review, but the articles all agreed that future studies should explore the possibility of a greater occurrence of ocular changes in individuals with NSCL/P.

Keywords: Vision disorders; Eye manifestations; Coloboma; Cleft palate; Cleft lip

RESUMO

O presente estudo teve como objetivo analisar evidências de associação entre as alterações oculares e fissuras lábio palatinas não sindrômicas (FL/PNS), através de uma revisão da literatura. Foi realizada a revisão da literatura com pesquisa sistemática, observando o protocolo de colaboração com o Grupo Cochrane. PubMed, Scopus, Google Acadêmico e ISI-Web of Science. A partir de 16 estudos acessados, 3 compuseram a amostra final. Todos os trabalhos da amostra final relataram alterações oculares em pacientes com FL/PNS. Os artigos relataram respectivamente alterações oculares em 6,21%, 17,54% e 1,03% dos pacientes. A presença de alterações oculares em pacientes com FL/PNS foi significativa nesta revisão sistemática, mas todos os três artigos sugerem que futuros estudos deverão explorar a possibilidade de que haja um aumento de alterações oculares em indivíduos com FL/PNS.

Descritores: Transtornos da visão; Manifestações oculares; Coloboma; Fissura palatina; Fissura labial

¹ Health Science Programme, Universidade Estadual de Montes Claros, Montes Claros, MG, Brazil.

² Centre for Rehabilitation of Craniofacial Anomalies, Universidade José do Rosário Vellano, Alfenas, MG, Brazil. Institution: Universidade Estadual de Montes Claros, Montes Claros, MG, Brazil.

The authors declare no conflict of interest.

Received for publication 09/11/2015 - Accepted for publication 11/12/2015

INTRODUCTION

Orofacial malformations are the most common form of congenital anomalies in the world⁽¹⁾. Among them, the most prevalent is the cleft lip with or without cleft palate (CL/P)⁽²⁻⁵⁾, which may occur more commonly in an isolated and non-syndromic form as a specific phenotype or, more rarely, composing several associations or syndromes^(6,7). Embryologically, clefts result from primary fusion defects of the craniofacial processes that form the primary and secondary palate in the first intrauterine trimester⁽⁸⁾. The incidence of CL/P varies according to geographical location, racial and ethnic groups, environmental exposures, and socioeconomic status, affecting approximately 1/700 live births with wide variability across geographic origin. Generally, Asian and Amerindian populations have the highest reported birth prevalence rates, often as high as 1/500, European-derived populations have intermediate prevalence rates at about 1/1,000, and African-derived populations have the lowest prevalence rates at about 1/2,500^(5,9,10).

According to Vieira⁽⁷⁾, the last decade was crucial in clarifying issues concerning the etiology of CL/P when compared to other defects observed at birth. As this is a multifactorial trait, environmental risk factors such as smoking, alcohol, parental age, medications, birth order, inter-pregnancy interval, and folic acid deficiency are listed as modifiers. Risk factor identification is the first step to better understanding and preventing such craniofacial changes^(7,11).

CL/P could be associated with many other structural abnormalities of the adjacent vital structures of the face like the ears, eyes, nose, teeth and brain. CL/P are inherently known to produce functional problems affecting the oropharynx (feeding and breathing), hearing, vision and speech; in addition, they have a negative cosmetic effect⁽¹²⁾. Almost all skeletal and soft tissue components of the craniofacial area are unbelievably derived from the neural crest cells⁽¹²⁾. Because eyes originate as an extension of the forebrain, malformations involving ocular structures invariably accompany those of the face and brain and vice versa⁽¹²⁾.

The current study aimed to provide additional evidence by means of review of the literature.

METHODS

The present review was carried out in accordance with the Cochrane Collaboration Group protocol for systematic reviews⁽¹³⁾, including a literature search strategy, selection of papers through the inclusion and exclusion criteria, data extraction, and quality assessment.

Literature search strategy

Our review was performed in July 2014 in order to obtain literature regarding NSCL/P and ocular changes. PubMed, Scopus, Google and ISI - Web of Science databases were systematically searched using the following approaches: the search strings "ocular changes" AND "cleft lip and palate", "ocular findings" AND "cleft lip and palate", "ocular features" AND "cleft lip and palate", "ocular disorders" AND "cleft lip and palate". The same happened with the terms "oral clefts" and "orofacial clefts" for studies published up to that time.

Selection of papers through the inclusion and exclusion criteria

The selection of papers is diagrammatically explained in Figure 1. Of the 16 studies originally found through the literature

search strategy and the references of the potential studies retrieved, three studies were excluded (for being in a language other than English with no full text available), and another was excluded because it did not describe the ocular abnormalities found. A further nine studies involving syndromic oral clefts were subsequently excluded. After wards, only articles presenting ocular changes with NSCL/P were included in the present study. Thus, three studies were selected (Figure 1).

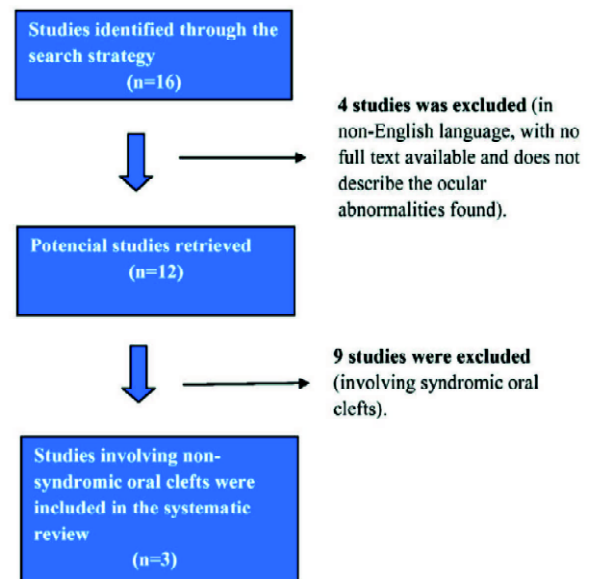


Figure 1: Flowchart of the studies included and excluded

Data extraction

Title and abstract screening was performed by two reviewers (LSN and HMJ) who worked independently to identify potentially relevant papers for which full text publications were retrieved. If, however, there was any discrepancy of opinion, the reviewers reexamined the paper together and arrived at a joint final decision. A standardized form was used to extract information, such as author and year of publication of the paper, origin of participants, study design, sample size, type of oral clefts and type of ocular changes associated with non-syndromic oral clefts.

RESULTS

The initial database search identified 16 citations published between 1977 and 2013. After screening, nine studies were excluded (because they described ocular changes in patients with syndromic CL/P), leaving seven papers. A second screening was performed on the remaining papers and four studies were excluded (three articles were in a language other than English with no full text available and one article did not describe the ocular changes found). Thus, three papers were selected for the systematic review.

The characteristics of the three selected papers are presented in Table 1. All three used a prospective study design and reported the frequency of ocular changes associated to

NSCL/P. The sample sizes and the population investigated varied considerably among the studies, not being homogeneous: one studied 322 patients, one studied 57 and the other studied 622 patients. Concerning the country of origin of articles: one was from the United States, one from Turkey and one from India (Table 1). Each study has its own classification of cleft type: one classified the clefts as unilateral or bilateral, one as CL, CP or CL/P and one did not separate the types of clefts. All three studied ocular abnormalities in patients with NSCL/P. The type of population studied was different among the three articles: one studied the ocular changes in patients with cleft lip and palate attending the three departments of K. S. Hegde Charitable Hospital, namely, Maxillofacial, Ophthalmology and Pediatrics. One studied patients with cleft lip and/or palate who sought orthodontic help at the Dental Hospital, Izmir, Turkey and one studied children admitted at the Jubilee Mission Medical College, Trichur for cleft lip or cleft palate repair. The age of the patients was similar in the three studies: one studied patients over the age of 20, one over 18 and the other over 19. Regarding ocular changes in each article, all classified them according to the modified anatomical region of the eye and its annexes (Table 2).

Two articles carried out a categorization relating to cleft type with associated ocular abnormalities^(12,14). An article found 48.14% of ocular manifestations in patients with bilateral CL/P, 18.5% of changes in patients with unilateral CL/P, 7.4% in patients with facial clefts, 7.40% in patients with clefts with alveolus and 18.5% in patients with recognizable syndromes⁽¹²⁾. The other

article found 64% of ocular manifestations in patients with bilateral CL/P, 16% in patients with unilateral CL/P, 10.5% in patients with isolated cleft palate and 8,7% in isolated cleft lip⁽¹⁴⁾.

An article⁽¹²⁾ found ocular abnormalities in 6.21% of patients. Changes in the eyelid were the most frequent (30%), followed by orbital defects (20%), abnormalities of the lacrimal duct (10%), limb defects (10%), cataract (5%) and retinal coloboma (5%). Furthermore the article found refractive error in 15% of patients.

The other article⁽¹⁴⁾ found ocular abnormalities in 17.54% of patients. The most frequent ocular disease was congenital nasolacrimal duct obstruction (50%), followed by bilateral iris coloboma (20%), eyelid (10%), dermoid tumor (10%), and esophoria (10%). The other article⁽¹⁵⁾ found ocular changes in 1.03% of patients. The most frequent ocular disease was coloboma (57.14%), followed by eyelid (14.28%), congenital nasolacrimal duct obstruction (14.28%) and congenital esotropia (14.28%).

DISCUSSION

This literature review assessed available studies describing ocular changes in patients with non-syndromic oral clefts. We demonstrated that there is a shortage of literature about ocular changes in patients with NSCL/P. Our results also demonstrated that the published studies disagree on the frequency of non-syndromic oral clefts. One article says: cleft lip and palate represents the second most frequently occurring congenital deformity after clubfoot deformity⁽¹²⁾. Another article says: cleft

Table 1
Main characteristics of the three selected papers

First author, year of publication	Country of study	Cleft classification	Frequency of ocular abnormalities %	Study design	Number of patients evaluated	Age of patients
Anchlia et al., 2011	EUA	Bilateral CLP, unilateral CLP	6.21	Prospective	322	Up to 20 year
Yaman et al., 2009	Turkey	CL, CP, CLP	17.54	Prospective	57	Up to 18 years
Shobha et al., separating the	India	CLP, without sub-types	1.03	Prospective	674 to 19 years	2011

Table 2
Ocular changes in each of the three articles selected.

Author	Ocular changes %	Total %	Eyelid defects %	Squint abnormalities %	Orbital dermoids %	Nasolacrimal %	Limbal %	Cataract %	Colobomas %
Anchlia et al., 2011	6.21	30	20	20	10	10	5	5	
Yaman et al., 2011	17.54	10	10		50	10		20	
Shobha et al., 2011	1.03	14.28		14.28		14.28			57.14

lip and/or cleft palate are among the common congenital anomalies of the head and neck region⁽¹⁴⁾. The other article says: cleft lip and palate are common birth defects formed due to failure of fusion of the maxillary and mandibular processes between the fifth and ninth weeks of pregnancy. They are found in one in every 1,000 newborns⁽¹⁵⁾.

Other studies about CL/P demonstrated that the studies published agree that non-syndromic oral clefts are one of the most common human malformations, with an average prevalence of 1 per 700 or 1,000 live births^(2,4,5,7,16), as well as that its incidence varies according to gender: 2:1 being the ratio of males to females for cleft lip and palate and 1:2 the approximate ratio of males to females for isolated cleft palate^(1,10).

Other common information between the studies about CL/P is the fact that unilateral clefts are more common than bilateral clefts, and of the unilateral cases of non-syndromic cleft lip and palate, left-sided cleft lips occur more frequently than right-sided cleft lips^(4,5,16,17). Many studies have also demonstrated that genetic factors may play a role in the cause of non-syndromic oral clefts in addition to certain environmental and/or stochastic factors, meaning that this malformation is a multifactorial trait^(2,16,18). Similarly, studies have shown that cleft lip, with or without cleft palate, is entirely different from isolated cleft palate from both embryological and pathogenetic standpoints^(18,19).

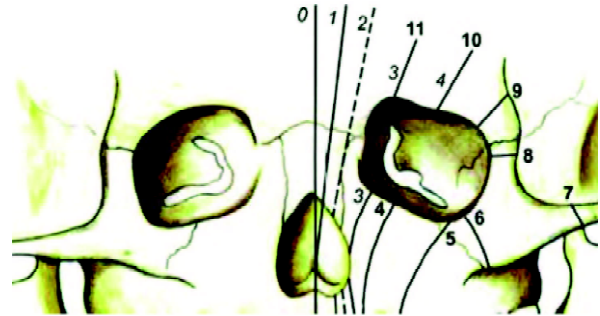
The pathogenesis of the ocular abnormalities associated with CL/P poses a problem. The most probable explanation is defective organogenesis in the early embryonic period when all of the structures involved are forming the facial structures, the anterior segment of the eye and the eyelids⁽²⁰⁾. The mechanisms behind movement and fusion of mesodermal processes have been studied extensively in experimental oral clefting, but the findings may apply to other clefting anomalies^(21,22). Genetic regulation is critical to successful ocular embryogenesis. The two genes that have been described as most important in ocular development are the PAX6 gene (chromosome 11p13) and the Rx gene (chromosome 18). Both genes belong to a large family of factors that are related to the homeodomain region of the Drosophila paired protein. Early induction of both genes causes a series of gene activations and depressions which are tantamount to normal development of the mature eye. Rx and PAX6 are both expressed in proliferating cells. Mutations of PAX6 have been shown to lead to aniridia, congenital cataract, Peter's anomaly, and midline fusion defects. Absence of the gene leads to anophthalmia. Rx is associated with retinal proliferation⁽²³⁾.

The defects in the eye may be viewed as showing similar defective mesenchymal movement and fusion. During the period between 17 and 22 weeks, three mesodermal tissue migrations normally occur from the rim of the optic cup⁽²⁴⁾. In turn, they form the corneal endothelium, the cells of the corneal stroma and the mesodermal portion of the iris. These migrations have the additional effect of separating the developing lens from the cornea. Defective mesodermal migrations from the upper rim of the optic cup would account for lack of corneal development, failure of lens separation and incomplete aniridia superiorly. At the same time, the eyelids are forming above and below the eye as a fold of mesoderm covered by ectoderm and are advancing toward their partial fusion over the central cornea. The eyelid coloboma may represent an inappropriate fusion of the epithelium associated with cell death and disease characterized by CL/P, and eyelid coloboma is called oral clefts⁽²⁰⁾.

According to the Carnegier stages, the major congenital malformations of the eye and its attachments occur between the

fourth and eighth weeks of the embryonic period while the cleft lip and palate occur between the sixth and eighth weeks. That is, there is a common embryonic period from the sixth to the eighth week in which occur both ocular and oral alterations⁽²⁴⁾.

Tessier's classification is used for patients with congenital clefts and lid coloboma. Tessier's number 3, 4, 5 affect the eye (Figure 2).



Source: Shobha ME, Joseph A, Adenwalla HS, Narayanan PV, Kakkanat CV, Ocular findings in cleft lip and cleft palate patient. Kerala J Ophthalmol. 2011;23(4):358-60.

Figure 2: Oro-ocular clefts and the Tessier's classification.

There was not a consensus in the reviewed articles regarding the type of ocular change most often related to non-syndromic CL/P, as well as any article deepened the study relating these changes to CL/P, based on embryological and genetic concepts.

Thus the hypothesis that there is some correlation between ocular manifestations and non-syndromic CL/P cannot be confirmed by this systematic review.

To date, there is no known genetic or epigenetic explanation for the ocular changes described in the reviewed articles that can be correlated with the causative genes for non-syndromic CL/P. The articles are in agreement that future studies should explore the possibility that there is a preferential occurrence of ocular changes in individuals with non-syndromic CL/P and test the hypothesis that common genetic and epigenetic mechanisms are playing a role in both conditions. Through this information, future studies may be better able to identify the causes of non-syndromic orofacial clefts and ultimately to predict its occurrence and to facilitate genetic counseling of affected families⁽¹⁶⁾.

Cleft lip and palate are usually repaired early in life. However, the ocular complications may be progressive and threaten sight. It is therefore important that these patients be under long-term ophthalmic supervision to try to prevent the sight threatening ocular complications⁽²⁵⁾. Thus, when ocular disorders associated with CL/P are identified, the appropriate eye tracking is essential in the prevention of serious consequences, since the loss of vision can be more disabling in patients with CL/P.

ACKNOWLEDGEMENTS

This work was supported by grants from the *Fundação de Amparo a Pesquisa do Estado de Minas Gerais (FAPEMIG)*, Minas Gerais, Brazil and the *Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq)*, Brasília, Brazil.

REFERENCES

1. Marazita L M. The evolution of human genetic studies of cleft lip and cleft palate. *Annu Rev Genomics Hum Genet.* 2012;13:263-83.
2. Taioli E, Ragin C, Robertson L, Linkov F, Thuman LE, Vieira AR. Cleft lip and palate in family members of cancer survivors. *Cancer Invest.* 2010;28(9):958-62.
3. Klassen AF, Anthony SJ, Khan A, Sung L, Klaassen R. Identifying determinants of quality of life of children with cancer and childhood cancer survivors: a systematic review. *Support Care Cancer.* 2011;19(9):1275-87.
4. Herkrath AP, Herkrath FJ, Rebelo MA, Vettore MV. Parental age as a risk for non syndromic oral clefts: a meta analysis. *J Dent.* 2012;40(1):3-14.
5. Dietz A, Pedersen DA, Jacobsen R, Wehby GL, Murray JC, Christensen K. Risk of breast cancer in females with cleft lip and palate. *Ann Epidemiol.* 2012;22(1):37-42.
6. Martelli Junior H, Porto LC, Barbosa DR, Bonan PR, Freitas AB, Coletta RD. Prevalence of nonsyndromic oral clefts in a reference hospital in the state of Minas Gerais, Brazil, between 2000 2005. *Braz Oral Res.* 2007;21(4):314-7.
7. Vieira AR. Unraveling human cleft lip and palate research. *J Dent Res.* 2008;87(2):119-25.
8. Wantia N, Rettinger G. The current understanding of cleft lip malformations. *Facial Plast Surg.* 2002;18(3):147-53.
9. Cobourne MT. The complex genetics of cleft lip and palate. *Eur J Orthod.* 2004;26(1):7-16.
10. Dixon M, Marazita ML, Beaty TH, Murray JC. Cleft lip and palate: synthesizing genetic and environmental influences. *Nat Rev Genet.* 2011;12(3):167-78.
11. Paranaíba LM, Miranda RT, Ribeiro LA, Barros LM, Martelli Júnior H. Frequency of congenital craniofacial malformations in a Brazilian Reference Center. *Rev Bras Epidemiol.* 2011;14:151-60.
12. Anclia S, Rao KS, Bonanthaya K, Anupama B, Nayak LV. Ophthalmic considerations in cleft lip and palate patients. *J Maxillofac Oral Surg.* 2011;10(1):14-19.
13. Alderson P, Green S, Higgins JP. *Cochrane Reviewers' Handbook 4.2.2 [updated March 2004]. The Cochrane Library, Issue 1, 2004.*
14. Yaman A, Saatçi P, Arýkan G, Soylu A, Saatçi AO, Kavukçu S. Ocular findings in children with nonsyndromic cleft lip and palate. *Turk J Pediatr.* 2009;51(4):350-3.
15. Shobha ME, Joseph A, Adenwalla HS, Narayanan PV, Kakkanat CV. Ocular findings in cleft lip and cleft palate patient. *Kerala J Ophthalmol.* 2011;23(4):358-60.
16. Steinwachs EF, Amos C, Johnston D, Mulliken J, Stal S, Hecht JT. Nonsyndromic cleft lip and palate is not associated with cancer or other birth defects. *Am J Med Genet.* 2000;90(1):17-24.
17. Jugessur A, Farlie PG, Kilpatrick N. The genetics of isolated orofacial clefts: from genotypes to subphenotypes. *Oral Dis.* 2009;15(7):437-53.
18. Murray JC. Genetic environment causes of cleft lip and or palate. *Clin Genet.* 2002;61(4):248-56.
19. Kot M, Kruk Jeromini. Analysis of family incidence of cleft lip and or palate. *J Med Sci Monit.* 2007;13(5):231-4.
20. Kinsey JA, Streeten BA. Ocular abnormalities in the median cleft face syndrome. *Am J Ophthalmol.* 1977;83(2):261-6.
21. Hassel JR, Orkin RW. Synthesis and distribution of collagen in the rat palate during shelf elevation. *Dev Biol.* 1976;49(1):80-8.
22. Sedano HO, Cohen MM, Jirasek J, Gorlin RJ. Frontonasal dysplasia. *J Pediatr.* 1970;76(6):906-13.
23. Edward DP, Kaufman LM. Anatomy, development, and physiology of the visual system. *Pediatr Clin North Am.* 2003;50(1):1-23.
24. Guercio JR, Martin LJ. Congenital malformations of the eye and orbit. *Otolaryngol Clin North Am.* 2007;40(1):113-40.
25. McNab AA, Potts MJ, Welhan RA. The EEC syndrome and its ocular manifestations. *Br J Ophthalmol.* 1989;73(4):261-4.

Corresponding author

Luciano Sólía Násser

Rua Walter Ferreira Barreto, 57- Zip code: 39401-347Montes

Claros, Minas Gerais, Brazil

Tel: + 55 38 9132:5452

E-mail address: solianasser@gmail.com

4.3 ARTIGO 3

Evaluation of the presence of hypertelorism in cleft lip and palate

Luciano Sólía Nasser¹, Amanda Pereira Tomaz², Daniella Reis Barbosa Martelli³Letícia Monteiro de Barros², João Vitor Quadros Tonelli³, Hercílio Martelli Júnior^{1,2,3}

¹Health Science Program, State University of Montes Claros, Unimontes, Montes Claros, Minas Gerais State, Brazil

²Centre for the Rehabilitation of Craniofacial Anomalies, José do Rosário Vellano University, Alfenas, Minas Gerais, Brazil.

³Dental School, State University of Montes Claros, Unimontes, Montes Claros, Minas Gerais State, Brazil

Corresponding author:

Luciano Sólía Násser

Rua Walter Ferreira Barreto, 57- Zip Code: 39401-347

Montes Claros, Minas Gerais, Brazil

E-mail address: solianasser@gmail.com

Tel: + 55 38 99132:5452

Editor,

The hypertelorism (MIM #145400) is an unusual condition characterized by increased distance between the orbits and which may be present in various disorders facial development (Sharma 2014). Nonsyndromic cleft lip with or without cleft palate (NSCL/P) is the most common orofacial birth defect, occurring in 1 in 500-2500 live births worldwide (Dixon et al. 2011). This study investigated the presence of hypertelorism in patients with NSCL/P of the Craniofacial Anomalies Rehabilitation Center of Alfenas, Minas Gerais, Brazil. Hundred fifty patients with NSCL/P were divided into 3 groups: cleft lip, cleft lip and palate and cleft palate. The control group was selected with two hundred and six patients without cleft paired for age and sex with patients with cleft.

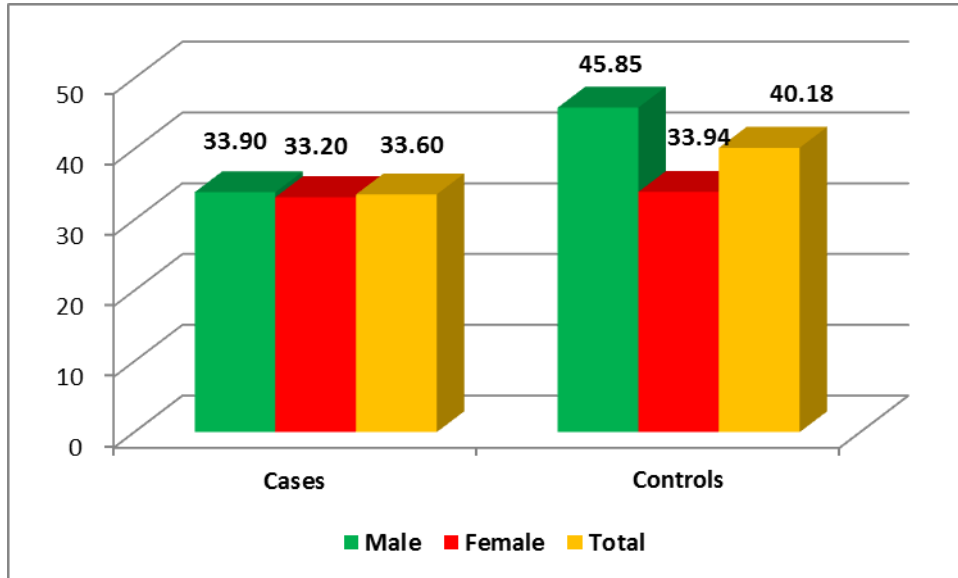
. All patients were submitted the examination of measures of orbital distances with a rigid ruler millimeter in primary position. Measures the distance between the outer corners of eyes and inner corners of the eyes were obtained. After obtaining the measurements was calculated the canthal index, result of the ratio between the value of inner canthal distance (IC) for external canthal distance (EC) and multiplied by 100. $C=IC/EC \times 100$. The hypertelorism diagnosis was made when there was obtained a value greater than or equal to 48 (Cohen et al. 1995). Ethical approval was obtained from the Ethics Committee of the University. Informed consent was obtained from each participant before inclusion in the study. The type of cleft in the case group was composed of 57.33% of cleft lip and palate, 26% of cleft lip and 16.66% of cleft palate. The average canthal index in case group was 33.60 and the control group was 40.18 (Graphic 1). The average canthal index in patients with CL was 32.89, in patients with CLP was 34.07 and patients with CP was 31.84 (Graphic 2). Gunther (1933) created the cantal index, a clinical measurement made with a rigid millimetric ruler, resulting from the ratio between the measure of the distance between the inner corners of the eyes (ICD) by the distance between the outer corners (OCD) multiplied by 100. This method is used to the present day (Cohen et al. 1995). Embryologically hypertelorism develops around the twenty-eighth week of pregnancy by a defective development of the nasal capsule ethmoid preventing the movement of the optical placoid toward the midline causing the orbits remain in the fetal position. Tessier suggests that hypertelorism originates from a horizontal thickening of the bone ethmoid sinus causing a departure from the midline orbits. The hypertelorism can be seen in a variety of conditions such as craniofacial clefts, craniofacial dysplasias and craniosynostosis syndromes such as Apert and Crouzon. It can be bilateral or may be present only on one side. It may also be associated with orbital dystopias (Tessier et al. 1989). Several

ocular changes have been described associated with the NSCL/P, including eyeball and eyelid colobomas, nasolacrimal abnormalities and orbital defects (Anchlia et al. 2011). This study did not identify the presence of hypertelorism in patients with NSCL/P in the population studied. There was not a significant difference between the cantal index of cleft patients and normal subjects. Among the three types of cleft (lip, lip palate and palate) also there was no significant different cantal index. This study aimed to further the study of the clinical spectrum of NSCL/P, finding no association between this type of cleft and hypertelorism.

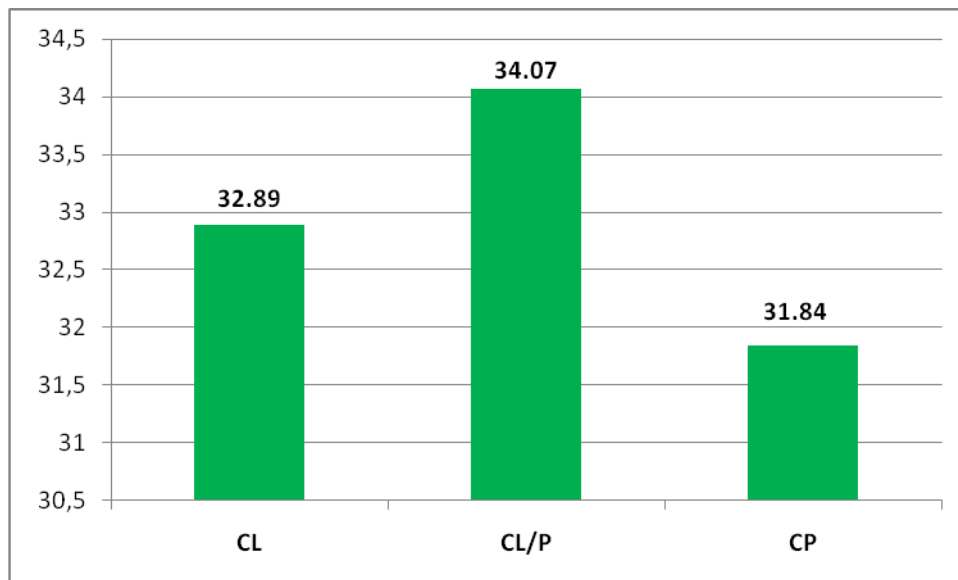
References

- 1- Sharma RK. Hypertelorism. *Indian J Plast Surg.* 2014;47(3):284-92.
- 2- Dixon MJ, Marazita ML, Beaty TH, Murray JC. Cleft lip and palate: understanding genetic and environmental influences. *Nat Rev Genet.* 2011;12(3):167-78.
- 3- Cohen MM, Richieri-Costa A, Guion-Almeida ML, Saavedra D. Hypertelorism: interorbital growth, measurements and pathogenetic considerations. *J. Oral Maxillofac. Surg.* 1995;24(6):387-395.
- 4- Anchlia S, Rao KS, Bonanthaya K, Anupama B ,Nayak IV. Ophthalmic considerations in cleft lip and palate patients. *J Maxillofac Oral Surg.* 2011;10(1):14-19.
- 5- Tessier P, Tulasne JF. Stability in correction of hypertelorbitism and treacher Collins syndromes. *Clin Plast Surg.*1989;16(1):195.

Graphic 1. The average canthal index in case group versus control group, showing there was no significant difference of the canthal index between the groups (yellow column).



Graphic 2. The average canthal index in patients with cleft lip (CP), cleft lip and palate (CL/P) and cleft palate (CP). There was no significant different.



5 CONCLUSÕES

Baseado nos resultados dos estudos apresentados pode-se concluir que:

- A síndrome de Waardenburg foi transmitida, na família estudada, através de um padrão autossômico dominante com expressividade variável e alta penetrância. A presença de mutações no gene *PAX3* não foi detectada. Não foi possível estabelecer uma clara associação entre alterações dentárias e a síndrome de Waardenburg no presente estudo, apesar das alterações serem muito significativas.
- Na revisão sistemática de literatura, não houve um consenso nos artigos revisados quanto ao tipo de alteração ocular mais frequentemente relacionada com fissura lábio palatina não sindrômica, bem como nenhum artigo aprofundou o estudo relacionando tais alterações com a fissura lábio palatina não sindrômica, com base em conceitos embriológicos e genéticos.
- Em relação à presença de hipertelorismo em pacientes com fissura lábio palatina não sindrômica, não foi detectado hipertelorismo nestes pacientes. O índice cantal nos pacientes fissurados e nos pacientes normais não apresentou diferença significativa. O mesmo ocorreu entre os três tipos de fissuras nos pacientes fissurados: o valor do índice cantal nos pacientes com fissura labial, fissura lábio palatina e fissura palatina não apresentou diferença significativa.

6 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Além das conclusões apresentadas, os resultados observados nos referidos estudos permitem considerar que:

- Trata-se do primeiro estudo voltado para a pesquisa de alterações dentais em pacientes com a síndrome de Waardenburg. A presença de alterações dentais associadas ao quadro clínico ressalta a necessidade de uma abordagem odontológica especializada nestes pacientes. Pesquisas na área da biologia molecular e genética celular envolvendo amostras maiores devem ser feitas, buscando colaborar com a elucidação da associação entre as alterações dentais e a síndrome de Waardenburg. O oftalmologista possui importância fundamental no auxílio do diagnóstico deste raro quadro sistêmico, uma vez que inclui alterações oftalmológicas como *dystopia canthorum*, hipopigmentação da íris e da retina.
- Correlação entre as manifestações oculares e fissura lábio palatina não sindrômica não pôde ser confirmada por uma revisão sistemática bem como a ocorrência preferencial de alterações oculares em indivíduos com fissura lábio palatina não sindrômica. Também foi detectada uma grande escassez de publicação científica abordando estes temas. Aventa-se a necessidade de testar a hipótese de que mecanismos genéticos e epigenéticos comuns desempenham um papel em ambas as condições. Exame ocular apropriado é essencial para a prevenção de consequências graves em pacientes com fissura lábio palatina não sindrômica, pois, uma vez que a fissura pode ser resolvida cirurgicamente, a perda visual pode ser a característica mais incapacitante nos pacientes fissurados.

REFERÊNCIAS

1. Waardenburg PJ. A new syndrome combining developmental anomalies of the eyelids, eyebrows and nose root with pigmentary defects of the iris and head hair and with congenital deafness. *Am J Hum Genet.* 1951;3:195-253.
2. Read AP, Newton VE. Waardenburg syndrome. *J Med Genet.* 1997;34:656-665.
3. Arias S. Genetic heterogeneity in the Waardenburg syndrome. *Birth Defects: Orig Art Ser.* 1971;7:87-101.
4. Johr P. Valeurs moyennes et limites normales, en fonction de l'âge, de quelques mesures de la tête et de la région oculaire. *J Genet Hum.* 1953;2:247-282.
5. Partington MW. Waardenburg's syndrome and heterochromia iridum in a deaf school population. *Can Med Assoc J.* 1964;90:1008-1017.
6. Hageman M, Delleman J. Heterogeneity in Waardenburg syndrome. *Am J Hum Genet.* 1977;29:468-85.
7. Klein D. Historical background and evidence for dominant inheritance of the Klein-Waardenburg syndrome (type III). *Am J Med Genet.* 1983;14:231-9.
8. Shah KN, Dalai SJ, Sheth PN, Joshi NC, Ambani LM. White forelock, pigmentary disorder of the irides and long segment Hirschsprung disease: possible variant of Waardenburg syndrome. *J Pediatr.* 1981;99:432-5.
9. Farrer LA, Grundfast KM, Amos J, et al. Waardenburg syndrome (WS) type 1 is caused by defects at multiple loci, one of which is near ALPP on chromosome 2: first report of the WS Consortium. *Am J Hum Genet.* 1992;50:902-13.
10. Liu XZ, Newton VE, Read AP. Waardenburg syndrome type 2: phenotypic findings and diagnostic criteria. *Am J Med Genet.* 1995;55:95-100.
11. Goenaga AM, Ferreira LC, Ferreira RC, Cestari TF. Síndrome de Waardenburg relato de dois casos e revisão de literatura. *An Brás Dermatol.* 1996;71(5):419-423.
12. Zlotogora J, Lerer I, Bar-David S, Ergaz Z, Abielovich D. Homozygosity for Waardenburg syndrome. *Am J Hum Genet.* 1995;56:1173-11738.
13. Pingault V, Ente D, Moal FD, Gossens M, Marlin S, Bondurand N. Review and Update of Mutations Causing Waardenburg Syndrome. *Human Mutation.* 2010;31(4):391-406.

14. Ohno N, Kiyosawa M, Wang WF, Takase H, Mochizuki M. Clinical findings in Japanese patients with Waardenburg syndrome type 2. *Jpn J Ophthalmol.* 2003;47:77-84.
15. Frances L, Betlloch I, Leiva-Salinas M, Silvestre JF. Spontaneous repigmentation in an infant with piebaldism. 2015;54:244-246.
16. Gontijo B, Silva CM, Pereira LB, Rocha AS. Piebaldismo: relato de dois casos. *An Bras Dermatol.* 1996;71(6):503-505.
17. Newton VE. Clinical features of the Waardenburg syndromes. *Adv Otorhinolaryngol.* 2002;61:201-208.
18. Nakashima S, Sando I, Takahashi H et al. Temporal bone histopathologic findings of the Waardenburg's syndrome: a case report. *Laryngoscope.* 1992;102:563-67.
19. Steel KP, Barkway C. Another role for melanocytes: their importance for normal stria vascularis development in the mammalian inner ear. *Development.* 1989;107:453-63.
20. Madden C, Halsted MJ, Hopkin RJ, Choo DJ, Benton C, Greinwald JH. Temporal bone abnormalities associated with hearing loss in Waardenburg syndrome. *Laryngoscope.* 2003;113:2036-2041.
21. Bandyopadhyay S, Prasad S, Singhania PK. Partial anodontia in a case of Waardenburg's syndrome. *The Journal of Laryngology and otology.* 1999;113:672-674.
22. Hansen AC, Ackaouy G, Crump P. Waardenburg's Syndrome: report of a pedigree. Read at the 69th Annual Convention of the National Medical Association, Washington, D. C. *Journal of the national medical association.* 1964;57:8-12.
23. Tay CH. Waardenburg's syndrome and familial periodic paralysis. *Postgraduate Medical Journal.* 1971;47:354-360.
24. François J. Waardenburg's Memorial Lecture: Waardenburg's Syndrome. Text of first Waardenburg lecture, delivered in Nijmegen, The Netherlands. *International ophthalmology.* 1981;5:3-13.
25. Ascher Jr JH, Friedman TB. Mouse and hamster mutants as models for Waardenburg Syndromes in humans. *Journal of medical genetics.* 1990;27:618-626.
26. Karaman A, Aliagaoglu C. Waardenburg Syndrome Type 1. *Dermatology Online Journal.* 2006;12:3-12.
27. Tayebi N. Waardenburg Syndrome Type I In An Iranian Female. *The Iranian Journal of Pediatrics.* 2008;19(2):189-192.

28. Fisch L. Deafness as part of an hereditary syndrome. *Journal of Laryngology & Otology*. 1959;73:355-382.
29. Campbell B, Campbell NR, Swift S. Waardenburg's syndrome. A variation of the first arch syndrome. *Archives of dermatological research*. 1962;86:718-724.
30. Newton VE, Read AP. Waardenburg Syndrome. *Audiol Med*. 2003;1:77-88.
31. Saxe M, Kromberg JGR, Jenkins T. Waardenburg Syndrome in South Africa. *Suid-Afrikaanse Mediese Tydskrif*. 1964;66:256-261
32. Dourmishev AL, Dourmishev LA, Schwartz RA, Janniger CK. Waardenburg syndrome with facial palsy and lingua plicata: is that a new type of disease. *Cutis*. 1999; 63(3):139-41.
33. Bondurand N, Dastot-Le Moal F, Stanchina L, Collot N, Baral V, Marlin S, et al. Deletions at the SOX10 gene locus cause Waardenburg syndrome types 2 and 4. *American journal of human genetics*. 2007;81:1169-85.
34. Sampaio SAP, Rivitti EA. *Dermatologia*. 1ª ed. São Paulo: Artes Médicas; 1998.
35. Becheli L, Curban G. *Compêndio de Dermatologia*. 6ª ed. São Paulo: Atheneu; 1998.
36. Kim NY, Pandey G. Pigmentary diseases. *Medical Clinicals of North America*. 1998;82:1200-02.
37. Bayo MCV, Jimenez JCM. Transtornos de la pigmentacion em niños. *Pediatr Integral*. 2004;8(4):327-347.
38. Schwartz RA, Janniger CK. Vitiligo. *Cutis*. 1997;60:239-44.
39. Crowson NA, Carlson-Sweet K, Barnhill RL. *Textbook of dermatopathology*. 2º ed. New York: McGraw-Hill; 2004. Disorders of pigmentation; 359-79.
40. Goldman L, Bennett JC. *Tratado de medicina interna*. 21ª ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 2001.
41. Mosher DB, Fitzpatrick TB. Piebaldism. *Arch Dermatol*. 1988;124:364-5.
42. Neves, DR, Junior JRR, Oliveira PJV, Zac RI, Silveira KS. Valeurs moyennes et limites normales, en fonction de l'âge, de quelques mesures de la tête et de la région oculaire. *J Genet Hum*. 1953;2:247-282.
43. Winship I, Young K, Martell R, Ramesar R, Curtis D, Beighton P. Piebaldism: an autonomous autosomal dominant entity. *Clin Genet*. 1991;39(5):330-337.
44. Giacoia JP, Klein SW. Waardenburg's syndrome with bilateral cleft lip. *Am J Dis Child*. 1969;117:344-8.

45. Silva EO. Waardenburg I Syndrome: A Clinical and Genetic Study of Two Large Brazilian Kindreds, and Literature Review. *Am J Med Genet.* 1991;40:65-74.
46. Kaplan P, Chaderévian JP. Piebaldism-Waardenburg syndrome: Hisopathologic evidence for a neural crest syndrome. *Am J Med Genet.* 1988;31:679-688.
47. Ishihiriyama S, Tonoki H, Shibuya Y et al. Waardenburg syndrome type I in a child with de novo inversion 2q35, 2q 37.3. *Am J Med Genet.* 1989;33:505-507.
48. Epstein DJ, Vekemans M, Gros P. Splotch (Sp-2H), a mutation affecting development of the mouse neural tube, shows a deletion within the paired homeodomain of Pax-3. *Cell.* 1991;67:767-774.
49. Tassabehji M, Read AP, Newton VE, Harris R, Balling R, Gruss P, Strachan T. Waardenburg's syndrome patients have mutations in the human homologue of the Pax-3 paired box gene. *Nature.* 1992;355:635-636.
50. Baldwin CT, Hoth CF, Macina RA, Milunsky A. Mutations in PAX3 that cause Waardenburg syndrome type I: ten new mutations and review of the literature. *Am J Med Genet.* 1995;58:115-122.
51. Milunsky A, Lipsky N, Sheffer R, Zlotogora J, Baldwin C. A mutation in the Waardenburg syndrome (WS-I) gene in a family with 'WS-III'. *Am J Hum Genet.* 1992;51:222.
52. Hoth CF, Milunsky A, Lipsky N, Sheffer R, Clarren SK., Baldwin CT. Mutations in the paired domain of the human PAX3 gene cause Klein-Waardenburg syndrome (WS-III) as well as Waardenburg syndrome type I (WS-I). *Am J Hum Genet.* 1993;52:455-462.
53. Zlotogora J, Lerer I, Bar-David S, Ergaz Z, Abeliovich D. Homozygosity for Waardenburg syndrome. *Am J Hum Genet.* 1995;56:1173-1178.
54. Fuse, N., Yasumoto, K., Takeda, K., Amae, S., Yoshizawa, M., Udono, T., Takahashi, K., Tamai, M., Tomita, Y., Tachibana, M., Shibahara, S. Molecular cloning of cDNA encoding a novel microphthalmia-associated transcription factor isoform with a distinct amino-terminus. *J. Biochem.* 1994;126:1043-1051.
55. Steingrimsson E, Copeland NG, Jenkins NA. Melanocytes and the microphthalmia transcription factor network. *Annu Rev Genet.* 2004;38:365-411.
56. Tassabehji M, Newton VE, Read AP. Waardenburg syndrome type 2 caused by mutations in the human microphthalmia (MITF) gene. *Nat Genet.* 1994;8:251-255.
57. Tachibana M, Perez-Jurado LA, Nakayama A, Hodgkinson CA, Li X, Schneider M, Miki T, Fex J, Francke U, Arnheiter H. Cloning of MITF, the human homolog of the mouse microphthalmia gene and assignment to chromosome 3p14.1-p12.3. *Hum Mol Genet.* 1999;3:553-557.

58. Watanabe A, Takeda K, Ploplis B, Tachibana M. Epistatic relationship between Waardenburg syndrome genes MITF and PAX3. *Nat Genet.* 1998;18:283–286.
59. Parichy DM, Mellgren EM, Rawls JF, Lopes SS, Kelsh RN, Johnson SL. Mutational analysis of endothelin receptor b1 (rose) during neural crest and pigment pattern development in the zebrafish. *Dev Biol.* 2000;227:294–306.
60. Hosoda K, Hammer RE, Richardson JA, Baynash AG, Cheung JC, Giaid A, Yanagisawa M. Targeted and natural (piebald-lethal) mutations of endothelin-B receptor gene produce megacolon associated with spotted coat color in mice. *Cutis.* 1994;79:1267–1276.
61. Edery P, Attie T, Amiel J, Pelet A, Eng C, Hofstra RM, Martelli H, Bidaud C, Munnich A, Lyonnet S. Mutation of the endothelin-3 gene in the Waardenburg-Hirschsprung disease (Shah-Waardenburg syndrome). *Nat Genet.* 1996;12:442–444.
62. Kelsh RN. Sorting out Sox10 functions in neural crest development. *Bioessays.* 2006;28:788–798.
63. Kuhlbrodt K, Schmidt C, Sock E, Pingault V, Bondurand N, Goossens M, Wegner M. Functional analysis of Sox10 mutations found in human Waardenburg-Hirschsprung patients. *J. Biol. Chem.* 1998;273:2303–2308.
64. Perez-Mancera PA, Bermejo-Rodriguez C, Gonzalez-Herrero I, Herranz M, Flores T, Jimenez R, Sanchez-Garcia I. Adipose tissue mass is modulated by SLUG (SNAI2). *Hum. Molec. Genet.* 2007;16:2972–2986.
65. Sanchez-Martin M, Rodriguez-Garcia A, Perez-Losada J, Sagrera A, Read AP, Sanchez-Garcia I. SLUG (SNAI2) deletions in patients with Waardenburg disease. *Hum Mol Genet.* 2002;11:3231–3236.
66. Bondurand N, Pingault V, Goerich DE, Lemort N, Sock E, Le Caignec C, Wegner M, Goossens M. Interaction among SOX10, PAX3 and MITF, three genes altered in Waardenburg syndrome. *Hum Mol Genet.* 2000;9:1907–1917.
67. Jiao Z, Mollaaghababa R, Pavan WJ, Antonellis A, Green ED, Hornyak TJ. Direct interaction of Sox10 with the promoter of murine Dopachrome Tautomerase (Dct) and synergistic activation of Dct expression with Mitf. *Pigment Cell. Nat Genet.* 2004;17:352–362.
68. Millard JrR. *Cleft Craft: the evolution of its surgery. I. the unilateral defonnity.* Boston: Littie, Browand company; 1976.
69. Fogh-Andersen P. *Inherence of harelip and cleft palate: contribution to the elucidation of the etiology of the congenital clefts of the face 1942 [Dissertation].* Copenhagen: Busck; 1942.
70. Donahue RF. Birth variables and the incidence of cleft palate. *Cleft Palate Craniofac J.* 1965; 2:282-90.

71. Psaumé J. Le traitement du bec-de-lievre. Paris: Mason; 1966.
72. Emanuel I, Culver BH, Erickson JD. The further epidemiological differentiation cleft and palate: a population of clefts in King Country Washington, 1956-1965. *Teratology*. 1973;7:271-81.
73. Murray JC, Daack-Hirsch S, Buetow KH, Munger R, Espina L Aglinawan N, Villanueva E, Rary J, Magee K, Magee W. Clinical and epidemiological studies of cleft lip and palate in the Philippines. *Cleft Palate Craniofac J*. 1997;34:7-10.
74. Fonseca EP, Rezende JVR. Incidência das malformações do lábio e do palato. *Rev Fac Odontol São Paulo*. 1971;1:45-58.
75. Menezes VA. Aspectos epidemiológicos das malformações congênitas labiopalatais, no estado de Pernambuco. Camaragibe; 1988.
76. Capelozza FL, Silva FOG. Fissuras labiopalatais In: Petrelli E. *Ortodontia para fonoaudiologia*. Lovise; 1992.
77. Martelli-Júnior H, Orsi-Júnior J, Chaves MR, Barros LM, Bonan PRF, Freitas JAS. Estudo epidemiológico das fissuras labiais e palatais em Alfenas, Minas Gerais, de 1986 a 1998. *Rev Fac Odontol Univ São Paulo*. 2006;13:31-5.
78. Loffredo LCM, Souza JMP, Freitas JAS, Mossey PA. Oral clefts and vitamin supplementation. *Cleft Palate Craniofac J*. 2001;38:76-83.
79. Cerqueira MN, Teixeira CT, Naressi SCM e Ferreira APP. Ocorrência de fissuras labiopalatais na cidade de São José dos Campos. *Rev Bras Epidemiol*. 2005;8:161-6.
80. Cardoso MSO, Caldas-Júnior AF, Jovino-Silveira RC. Saúde bucal e qualidade de vida em pacientes fissurados. *J Bras Odonto-Psicol Odontol Pacientes Espec*. 2005;1:92-8.
81. Paranaíba LMR, Almeida H, Barros LM, Martelli DRB, Orsi-Júnior JD, Martelli Júnior H. Current surgical techniques for cleft lip-palate in Minas Gerais, Brazil. *Braz J Otorhinolaryngol*. 2009;75:6:839-43.
82. Cardoso MSO. A importância do tratamento integrado na reabilitação das lesões lábio-palatais, para os profissionais da cidade do Recife. Dissertação Mestrado, Faculdade de Odontologia de Pernambuco. Camaragibe.1999.
83. Monlleo IL, Mossey PA, Gil-da-Silva-Lopes VL. Evaluation of craniofacial care outside the Brazilian reference network for craniofacial treatment. *Cleft Palate Craniofacial J*. 2009;46:204-11.
84. Tobiasen JM. Psychosocial adjustment to cleft lip and palate. In: Bardach J, Morris HL. *Multidisciplinary management of cleft lip and palate*. Philadelphia: W.B. Saunders; 1990.
85. Duarte R, Leal MJ. Leque das malformações congênitas associadas às fissuras lábio alvéolo palatinas. *Acta Medica Portuguesa*. 1999;12:147-54.

86. Christensen K, Juel K, Herskind AM, Murray JC. Long term follow up of survival associated with cleft lip and palate birth. *BMJ*. 2004; 328:1405.
87. Christensen K, Mortensen PB. Facial clefting and psychiatric diseases: a follow-up of the Danish 1936-1987 Facial Cleft cohort. *Cleft Palate Craniofac*. 2002;39:392-6.
88. Altmann EBC, Vaz ACN, Paula MBSF, Khoury RBF. Tratamento precoce. In: Altmann EBC. *Fissuras labiopalatinas*. 4ª ed. Carapicuíba: Pró-fono; 1997.
89. Montandon EM, Duarte RC, Furtado PGC. Prevalência de doenças bucais em crianças portadoras de fissuras labiopalatinas. *J Bras Odontopediatr Odontol Bebê*. 2001;4:68-73.
90. Mossey PA, Little J, Munger RG, Dixon MJ, Shaw WC. Cleft lip and palate. *Lancet*. 2009;374:1773-85.
91. Thomason, H. A. Dixon, M. J. Craniofacial defects and cleft lip palate. *Enc. Life Sci*. 2009.
92. Prescott NJ, Winter RM, Malcolm S. Nonsyndromic cleft lip and palate: complex genetics and environmental effects. *Ann Hum Genet*. 2001;65:505-15.
93. Langman J. *Abrégé d'Embriologie Medicale*. Masson, Montreal; 1982.
94. Fraser FC. Etiology of cleft lip and palate. In: Grabb WC et al., ed. *General aspects of cleft lip and palate*. Boston: Little, Brown and Company; 1971.
95. Murray JC. Gene/environment causes of cleft lip and/or palate. *Clin Genet*. 2002; 61:248-256.
96. Mossey PA, Little J. Epidemiology of oral clefts: an international perspective. In: Wyszynski DF. *Cleft lip and palate: from origin to treatment*. New York: Oxford University Press; 2002.
97. Kromberg JG, Jenkins T. Common birth defects in South African blacks. *S Afr Med J*. 1982;62:599-602.
98. Fogh-Andersen P. Incidence of cleft lip and palate: constant or increasing? *Acta Chir Scand*. 1961;122:106-111.
99. Gregg T, Boy D, Richardson A. The incidence of cleft lip and palate in Northern Ireland from 1980-1990. *Brit J Orthodont*. 1994;21:387-92.
100. Nagen-Filho H, Moraes N, Rocha RGF. Contribuição para o estudo da prevalência das má formações congênitas lábio-palatais na população escolar de Bauru. *Rev Fac Odont S Paulo*. 1968;6:111-28.
101. Arce B, Azevedo JB, Freire-Maia N, Chautard EA. Frequência e riscos da recorrência de fissuras lábio-palatinas. *Rev Paul Med*. 1968;72:239-46.

102. Croen LA, Shaw Gm, Wasserman CR, Tolarova MM. Racial and ethnic variations in the prevalence of orofacial clefts in Califórnia, 1983-1992. *Am J Med Genet.* 1998;79:42-7.
103. Tolarova MM, Cervenka J. Classification and birth prevalence of orofacial cleft. *Am J Med Genet.* 1998;75:42-7.
104. Chung CS, Beechert AM. Genetic epidemiology of cleft lip with or without cleft palate in the population of Hawaii. *Genet Epidemiol.* 1987;4:415-2.
105. Tolarova M. Orofacial clefts in Czechoslovakia. Incidence, genetics and prevention of cleft lip and palate over a 19 year period. *Scand J Plast Reconstr Surg.* 1987;21:19-25.
106. Wyszynski DF. Cleft lip and palate. New York: Oxford University Press. 2002
107. Neville BW, Danm DD, Allen CM, Bouquot JE. *Patologia Oral e Maxilofacial.* 2ª Ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan. 2008.
108. Fraser FC. The genetics of clefts lip and palate: yet another look. In: Pratt RM; Christiansen RL. (Eds.). *Current research trends in prenatal craniofacial development.* Amsterdam: Elsevier North Holland. 1980.
109. Owens JR. Epidemiology of facial clefting. *Arch Dis Childh.* 1985; 60:521-524.
110. Freitas JA. Uma parceria que deu certo. Relatório de Atividades Técnico-Científicas e Financeiro. Hospital de Pesquisa e Reabilitação Lábio-Palatais. Universidade de São Paulo. Bauru. 1998.
111. Kriens O. Documentation of cleft lip, alveolus, and palate. In: Bardach J; Morris HL. (Eds.). *Multidisciplinary management of cleft lip and palate.* Philadelphia: W. B. Saunders. 1990.
112. Kernahan DA. Classification of cleft lip and palate. In: Kernahan DA; Rosenstein SW; Dado DV. (Eds.). *Cleft lip and palate: a system of management.* Baltimore: Williams & Wilkins. 1990.
113. Davis JS, Ritchie HF. Classification of congenital clefts of the lip and palate. *Dent Cosmos.* 1923;65:661.
114. Veau V. Classification of cleft lip and palate. In: *Cleft lip and palate: surgical dental and speech aspects.* Little & Brown. 1971;13:66-80.
115. Spina V. A proposed modification for the classification of cleft lip and palate. *Cleft Palate J.* 1973; 10:251-252.
116. Muenke M. The pit, the cleft and the web. *Nature Genet.* 2002;32:219-0.
117. Rajabian MH, Sherkat M. An Epidemiologic Study of Oral Clefts in Iran: Analysis of 1669 Cases. *Cleft Palate Craniofac J.* 2000;37:2:191-6.

118. González BS, López ML, Rico MA, Garduño F. Oral clefts: a retrospective study of prevalence and predisposal factors in the State of Mexico. *J Oral Sci.* 2008;50:2:123-9.
119. Paranaíba LM, Miranda RT, Martelli DR, Bonan PR, Almeida H, Orsi Júnior JM, Martelli Júnior H. Cleft lip and palate: series of unusual clinical cases. *Braz J Otorhinolaryngol.* 2010;76(5):649-53.
120. Gorlin RJ, Cohen MM, Hennekam RCM. *Syndromes of the head and neck.* 4.ed. United States: Oxford University Press; 2001.
121. Saal HM. A prospective analysis of cleft palate: associated syndromes and malformations. In: David W. Smith Workshop on morphogenesis and malformations. Proceedings. San Diego. 2000.
122. Stool C, Alembik Y, Dott B, Roth MP. Associated malformations in cases with oral clefts. *Cleft Palate Craniofac J.* 2000. 37:41-47.
123. Thompson MW, MC Jones RR, Willard HF. *Genética Médica.* 5ª Ed., Rio de Janeiro: Guanabara Koogan. 1991.
124. Online Mendelian Inheritance in Man, OMIM. Johns Hopkins University, Baltimore, MD. Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/dispomim.cgi>. Acesso em [2009 jan 15].
125. Ye XQ, Jin HX, Shi LS, Fan MW, Song GT. Identification of novel mutations of IRF6 gene in Chinese families with Van der Woude syndrome. *Int J Mol Med.* 2005;16:851-6.
126. Rizos M, Spyropoulos, MN. Van der Woude syndrome: a review. Cardinal signs, epidemiology, associated features, differential diagnosis, expressivity, genetic counselling and treatment. *Eur J Orthod.* 2004;26:17-24.
127. Paranaíba LMR, Martelli-Júnior H, Swerts MSO, Line SRP, Coletta RD. Novel mutations in the IRF6 gene in Brazilian families with Van der Woude syndrome. *Int J Mol Med.* 2008;22:507-11.
128. Brewer C, Holloway S, Zawalnyski P, Schinzel A, Fitz Patrick D. A Chromosomal duplication map of malformation: regions of suspected haplo-and triplolethality – and tolerance of segmental aneuploidy-in humans. *Am J Hum Genet* 1999;64:1702-8.
129. Marazita ML. Genome scan, fine-mapping, and candidate gene analysis of non-syndromic cleft lip with or without cleft palate reveals phenotype specific differences in linkage and association results. *Hum. Hered.* 2009;68:151-170.
130. Weinberg S. Face shape of unaffected parents with cleft affected offspring: combining three-dimensional surface imaging and geometric morphometrics. *Orthod. Craniofac. Res.* 2009;12:271-81.
131. Neiswanger K. Whorl patterns on the lower lip are associated with nonsyndromic cleft lip with or without cleft palate. *Am J Med Genet.* 2009;149:2673-9.

132. Vieira AR, McHenry TG, Daack-Hirsch S, Murray JC, Marazita ML. Candidate gene/loci studies in cleft lip/palate and dental anomalies finds novel susceptibility genes for clefts. *Genet Med*. 2008;10:668-74.
133. Nopoulos P. Structural brain abnormalities in adult males with clefts of the lip and/or palate. *Genet Med*. 2002;4:1-9.
134. Baek JA. Bmpr1a signaling plays critical roles in palatal shelf growth and palatal bone formation *Dev Biol*. 2010.
135. Warkany J, Nelson RC, Schraffenberger E. Congenital malformations induced in rats by maternal nutritional deficiency. *Am J Dis Child*. 1943;65:882-94.
136. Murray JC. Face facts: genes, environment, and clefts. *Am J Hum Genet*. 1995;57:227-232.
137. Schliekelman P, Slatkin M. Multiplex relative risk and estimation of the number of loci underlying an inherited disease. *Am J Hum Genet*. 2002;71:1369-85.
138. Behrman RE, Kliegman RM, Arvin AM (eds). *Nelson Textbook of Pediatrics*. 15^a Ed. Philadelphia: WB Saunders. 1996.
139. Zeiger JS, Beaty TH. Is there a relationship between risk factors for oral clefts? *Teratology*. 2002;66:205-8.
140. Lidral AC, Romitti PA, Basart AM, Doetschman T, Leysens NJ, Daack-Hirsch S, Semina EV, Johnson LR, Machida J, Burds A, Parnell TJ, Rubenstein JLR, Murray JC. Association of MSX1 and TGFB3 with nonsyndromic clefting in humans. *Am J Hum Genet*. 1998;63:557-68.
141. Vieira AR, Orioli I. Birth order and oral clefts: a meta analysis. *Teratology*. 2002;66:209-16.
142. Taher AY. Cleft lip and palate in Tehran. *Cleft Palate Craniofac J*. 1992;29:15-6.
143. Bender PL. Genetics of cleft lip and palate. *J Pediatr Nurs*. 2000;15:242-9.
144. Wyszynski D F, Beaty T H. Review of the role of potential teratogens in the origin of human nonsyndromic oral clefts. *Teratology*. 1996;53:309-17.
145. Christensen K, Keith G, Fogh-Andersen P. Oral clefts, transforming growth factor alpha gene variants, and maternal smoking: a population-based case-control study in Denmark, 1991-1994. *Am J Epidemiol*. 1999;149:248-55.
146. Nunes LMN, Queluz DP, Pereira AC. Prevalência de fissuras labiopalatais no município de Campos dos Goytacazes – RJ, 1999-2004. *Rev Bras Epidemiol*. 2007;10:12-8.
147. Schuler-Faccini L, Leite JCL, Sanseverino MTV, Peres RM. Evaluation of potential teratogens in Brazilian population. *Cienc Saude Coletiva*. 2002;7:65-71.

148. Altemus LA. The incidence of cleft lip and palate among North American negroes. *Cleft Palate J.* 1996;3:357-61.
149. Tanaka T. A clinical, genetic and epidemiologic study on cleft lip and/or cleft palate. *Jap J Hum Genet.* 1972;16:278-308.
150. Natsume N e Kawail T. Incidence of cleft lip and cleft palate in 36,696 Japanese babies born during 1983. *Int J Oral Maxillofac Surg.* 1986;15:565-8.
151. Metrakos J, Metrokos K, Baxter H. Clefts of the lip and palate in twins. *Plast Reconstr Surg.* 1958;22:109-122.
152. Christensen K, Fogh-Andersen P. Cleft lip and cleft palate in Danish twins, 1970-90. *Am J Med Genet.* 1993;47:910-6.
153. Kinsey JA, Streeten BA. Ocular abnormalities in the median cleft face syndrome. *Am J Ophthalmol.* 1977;83(2):261-6.
154. Hassel JR, Orkin RW. Synthesis and distribution of collagen in the rat palate during shelf elevation. *Dev Biol.* 1976;49(1):80-8.
155. Sedano HO, Cohen MM, Jirasek J, Gorlin RJ. Frontonasal dysplasia. *J Pediatr.* 1970;76(6):906-13.
156. Edward DP, Kaufman LM. Anatomy, development, and physiology of the visual system. *Pediatr Clin North Am.* 2003;50(1):1-23.
157. Guercio JR, Martin LJ. Congenital malformations of the eye and orbit. *Otolaryngol Clin North Am.* 2007;40(1):113-40.
158. Ortiz-Monasterio F, Molina F. Orbital hypertelorism. *Clin Plast Surg.* 1994;21(4):599-612.
159. Tan ST, Mulliken JB. Hypertelorism: nosologic analysis of 90 patients. *Plast Reconstr Surg.* 1997;99(2):317-27.
160. Cohen MM, Richieri-Costa A, Guion-Almeida ML, Saavedra D. Hypertelorism: interorbital growth, measurements and pathogenetic considerations. *J. Oral Maxillofac. Surg.* 1995;24(6):387-395.
161. Costaras M, Pruzansky S, Broadbent BH Jr. Bony interorbital distance (BIOD), head size, and level of the cribriform plate relative to orbital height: I. Normal standards for age and sex. *J Craniofac Genet Dev Biol.* 1982;2(1):5-18.
162. Sharma RK. Hypertelorism. *Indian J Plast Surg.* 2014;47(3):284-92.
163. Moss ML. Hypertelorism and cleft palate deformity. *Acta Anat.* 1965;61:547-57.
164. Figalová P, Hajnis K, Smahel Z. The interocular distance in children with cleft before the operation. *Acta Chir Plast.* 1974;16:65-77.

165. Aduss H, Pruzansky S, Miller M. Interorbital distance in cleft and palate. *Teratology*. 1971;4:171-82.

APÊNDICES

APÊNDICE A - Termo de consentimento livre e esclarecido para realização de pesquisa

Estudo: Avaliação clínica, imaginológica e genética da síndrome de Waardenburg

Responsável: Luciano Sólía Násser

Antes de aceitar a realização desta pesquisa, é importante a explicação e compreensão sobre os procedimentos propostos. Esta declaração descreve o objetivo, os procedimentos, benefícios, riscos, desconfortos e precauções do estudo. Nenhuma garantia ou promessa pode ser feita sobre os resultados do estudo.

1-Objetivo: Avaliar as características clínicas, imaginológicas e genéticas em uma família acometida pela Síndrome de Waardenburg

2-Metodologia/procedimentos: O presente estudo será em familiares portadores de alterações clínicas médicas e odontológicas. Serão realizadas avaliações médicas e odontológicas. Os pacientes com alterações dentárias e ou médicas deverão ir a Montes Claros, para realizar exames específicos de pele, visão, ouvido e radiografias dentárias. Serão realizadas fotografias das regiões que apresentarem alteração. Também será coletado saliva dos pacientes para estudo genético.

3-Justificativa: Em decorrência das diversas formas as quais a síndrome de Waardenburg pode se manifestar e suas repercussões orgânicas, destaca-se a importância de se estudar esta anomalia em todos os seus aspectos, de modo a auxiliar no diagnóstico, tratamento e aconselhamento genético.

4-Benefícios: Diagnóstico, aconselhamento genético e possível tratamento dos pacientes acometidos, além de descobrir novas informações sobre esta síndrome.

5-Desconfortos e riscos: Os pacientes com alterações dentárias e ou médicas deverão ir a Montes Claros, para realizar exames específicos de pele, visão, ouvido e radiografias dentárias, mas todas as medidas de biossegurança serão tomadas para amenizar os desconfortos e riscos possíveis.

6-Danos: Nenhum dano está previsto. Os participantes desta pesquisa não terão nenhuma despesa com exames e viagens decorrentes desta pesquisa.

7-Metodologia/procedimentos alternativos disponíveis: Nenhum

8-Confidencialidade das informações: Pretende-se divulgar os resultados desta pesquisa no meio científico, podendo incluir imagens que permitam a identificação dos participantes.

9- Compensação/indenização: Nenhum

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 realização desta pesquisa, até que eu decida o contrário. Receberei uma cópia assinada deste consentimento. Qualquer dúvida, poderei entrar em contato com o responsável por esta pesquisa, Luciano Sólía Násser, através dos telefones (38) 9132-5452 e (38) 3224-5409.

Nome do participante	Assinatura do responsável	Data
Nome da testemunha	Assinatura da testemunha	Data
Nome do coordenador	Assinatura do coordenador	Data

APÊNDICE B - Termo de consentimento livre e esclarecido para realização de pesquisa

Título da pesquisa: Avaliação de hipertelorismo na fissura labiopalatina não síndrômica: estudo caso-controle

Pesquisador responsável: Hercílio Martelli Júnior

Instituição a que pertence o Pesquisador Responsável: Universidade José do Rosário Vellano

Telefone para contato: (35) 3299-3182

Nome do voluntário: _____

Idade: _____ anos R.G.: _____

Responsável legal: _____

R.G. do responsável legal: _____

O Sr. (ª) está sendo convidado(a) a participar do projeto de pesquisa “Avaliação de hipertelorismo na fissura labiopalatina não síndrômica: estudo caso-controle”, de responsabilidade do pesquisador Hercílio Martelli Júnior. O objetivo deste estudo é pesquisar a presença de hipertelorismo nos pacientes afetados pelas FL/PNS que são atendidos no Centro de Reabilitação Pró-Sorriso – “Centrinho” da Universidade de Alfenas, Minas Gerais, Brasil. O conhecimento de outras alterações possivelmente associadas à fissura labiopalatina permitirá aprofundarmos o conhecimento sobre esta patologia e melhorarmos as opções terapêuticas. O grupo-controle será formado por indivíduos sem histórico de fissura labiopalatina pessoal ou na família e sem histórico de consanguinidade ou síndromes diagnosticadas, das clínicas odontológicas da própria instituição, no período de julho a dezembro de 2014. A medida da distância entre os olhos será feita com o paciente sentado com o olhar na posição primária através de uma régua rígida, evitando qualquer prejuízo em termos de consulta e atendimento clínico. Esta medida não apresentará nenhum risco ou desconforto para o participante. A participação é voluntária, e o pesquisador estará disponível para qualquer esclarecimento, e o participante ficará à vontade para se negar a submeter, abandonar a pesquisa, ou exigir maiores esclarecimentos sobre ela, sem qualquer prejuízo à continuidade do seu tratamento na instituição. Os dados obtidos serão apresentados em congressos e eventos científicos e imagens da face que permitem identificação do paciente serão usadas nas apresentações. O participante não terá nenhum gasto adicional para participar da pesquisa, e também este não obterá quaisquer benefícios ou direitos financeiros sobre os eventuais resultados decorrentes da presente pesquisa.

Alfenas, _____ de _____ de _____

Prof. Hercílio Martelli Júnior


Eu, _____, RG nº _____ declaro ter sido informado e concordo em participar, como voluntário, do projeto de pesquisa acima descrito.

Eu, _____, RG nº _____, responsável legal por _____, RG nº _____ declaro ter sido informado e concordo com a sua participação, como voluntário, no projeto de pesquisa acima descrito.

Nome e assinatura do paciente ou seu responsável legal

ANEXOS

ANEXO A - Ficha de exame médico

	ANAMNESE GERAL - SEMIOLOGIA MÉDICA		
1. Identificação		Observação clínica:	
1.1. Identificação do Paciente			
Nome:			
Sexo: M () F ()	Data de Nascimento: / /	Idade:	Telefone: ()
Rua:		Bairro:	
Cidade:		Procedência: () Zona Rural () Zona Urbana	
Naturalidade:		Nacionalidade:	
Pai:		Mãe:	
Local de Trabalho:		Ocupação:	
2. Anamnese			
Queixa principal (Q.P.):			
História da moléstia atual: (H.M.A):			


História patológica pregressa (HPP):
Hábitos: (fumo, bebida alcoólica, higiene bucal, alimentares, drogas ilícitas, onicofagia, etc):
Hospital Universitário Clemente Faria Av. Cula Mangabeira, 562- (38) 3229-8500- Montes Claros/MG- CEP:39401-002-CCBS

O&M – 11.01

Estado emocional e psíquico: (stress, ansiedade, depressão, psicose, etc):
Alergias:
Sofre de distúrbios cardiovasculares: Sim () Não ()
Alteração Pressão arterial?
Portador de prótese arterial?
Portador de prótese cardíaca?
- Outros:
Alterações circulatórias:
Sofre de algum distúrbio sangüíneo? Anemia () Coagulopatia () Outros:
Apresenta histórico de febre reumática? Sim () Não ()
Sofre de algum distúrbio respiratório? Sim () Não ()
Bronquite: Asma:
- Outros:
Sofre de algum distúrbio gastrointestinal?
Gastrite: Úlcera:
Hepatite: Cirrose:
Sofre de algum distúrbio renal? Sim () Não ()
- Qual?
Você é diabético? Sim () Não ()
Teve ou tem doença infecto-contagiosa? Sim () Não ()
- Qual?
Qual é o seu tipo sangüíneo?
História Pgressa Pessoal (HP)
Você está em tratamento médico, ou fez tratamento nos últimos 12 meses (época e motivo)?
Uso atual de medicamentos ou nos últimos 12 meses:

EXAME OTORRINOLARINGOLÓGICO:			
EXAME DERMATOLÓGICO:			
HISTÓRIA GÍNECO-OBSTÉTRICA:			
IMPRESSÃO DIAGNÓSTICA:			
EXAMES COMPLEMENTARES:			
Data: __/__/____	Aluno Examinador:		Professor(es):
	Aluno Auxiliar:		

ANEXO B - Ficha de exame odontológico

	PRONTUÁRIO ODONTOLÓGICO - EXAME SEMIOLÓGICO		
1. Identificação		Observação Importante:	
1.1. Identificação do Paciente			
Nome:			
Sexo: M () F ()	Data de Nascimento: / /	Idade:	Telefone: ()
Rua:		Bairro:	
Cidade:		Procedência: () Zona Rural () Zona Urbana	
Naturalidade:		Nacionalidade:	
Pai:		Mãe:	
Local de Trabalho:		Ocupação:	
1.2. Identificação do Aluno			
Nome:			
Disciplina:	Período:	Data: / /	
Professor(es) responsável(eis):			
2. Anamnese			
Queixa principal ou motivo da consulta (Q.P.):			
História da moléstia atual: (H.M.A):			

Experiências anteriores de tratamento odontológico (sim ou não, último tratamento, tipo, problemas com anestesia, aceitação):

Hábitos: (fumo, bebida alcoólica, higiene bucal, alimentares, drogas ilícitas, onicofagia, etc):

Centro de Ciências Biológicas e da Saúde

Departamento de Odontologia - ☎ 3229:8020 e 3229:8294

O&M – 11.01

Estado emocional e psíquico: (stress, ansiedade, depressão, psicose, etc):

Alergias:

Sofre de distúrbios cardiovasculares: Sim () Não ()

Alteração Pressão arterial?

Portador de prótese arterial?

Portador de prótese cardíaca?

- Outros:

Alterações circulatórias:

Sofre de algum distúrbio sangüíneo? Anemia () Coagulopatia () Outros:

Apresenta histórico de febre reumática? Sim () Não ()

Sofre de algum distúrbio respiratório? Sim () Não ()

Bronquite:

Asma:

- Outros:

Sofre de algum distúrbio gastrointestinal?

Gastrite:

Úlcera:

Hepatite:

Cirroze:

Sofre de algum distúrbio renal? Sim () Não ()

- Qual?

Você é diabético? Sim () Não ()

Teve ou tem doença infecto-contagiosa? Sim () Não ()

- Qual?

Qual é o seu tipo sangüíneo?

História Progressa Pessoal (HP)

Você está em tratamento médico, ou fez tratamento nos últimos 12 meses (época e motivo)?

Uso atual de medicamentos ou nos últimos 12 meses:		
História Familiar		
Pais (vivos ou não, causa mortis):		
Número de irmãos:		
Irmãos falecidos (número e causa):		
Doenças comuns na família: Diabetes Melitus () Hipertensão Arterial () Câncer ()		
- Outras:		
Doenças contagiosas: Sim () Não () Qual?		
História Social (Moradia, Trabalho, Alimentação, Saneamento)		
Outras informações:	Polegar	
Assinatura do Paciente:		
3. Exame Físico		
EXAME OBJETIVO GERAL		
P.A:	Temp.:	Pulso:
Respiração:	Fácies:	Cor da Pele:
EXAME OBJETIVO ESPECIAL		
ATM:		
Linfonodos:		
Lábios:		
Mucosas:		
Soalho Bucal:		
Palato:		
Orofaringe:		
Glândulas e Ductos Salivares:		
Língua:		
Gengiva:		
Cálculo sub ou supra:		
Higiene Bucal:		
Hábitos Nocivos:		
Portador de Aparelho Protético ou Ortodôntico:		
Oclusão:		
Alterações Encontradas (Local e Descrição):		

ANEXO C: Parecer do Comitê de Ética em Pesquisa da Unimontes



UNIVERSIDADE ESTADUAL DE MONTES CLAROS
COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA



PARECER CONSUBSTANCIADO

Montes Claros, 19 de Agosto de 2011.

Processo Nº 2781

Título do Projeto: Avaliação clínica, imaginológica e genética da síndrome de Waardenburg

Equipe técnica:

- Prof. Hercílio Martelli Júnior (Orientador)
- Luciano Sólía Nasser
- Ana Cláudia Frota Machado de Melo Lopes
- Andréia Gomes Azevedo
- Pedro Eleutério dos Santos Neto
- Aline Françoise Cardoso
- Lívia Máris Ribeiro Paranaíba

Relatora: Profª Drª Maisa Tavares de Souza Leite.

Histórico:

O projeto foi encaminhado pelo Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde ao Comitê de Ética em Pesquisa da Unimontes no dia 04 de julho de 2011, sendo analisado em reunião ordinária no dia 19 de Agosto de 2011.

Mérito:

Trata-se de um estudo quantitativo, descritivo, com o objetivo avaliar as características clínicas, imaginológicas e genéticas em uma família acometida pela Síndrome de Waardenburg. Serão estudados todos membros de uma família previamente identificada com características sugestivas de síndrome de Waardenburg, residente no município de Patis, localizado no norte de Minas Gerais, a 100 km do município de Montes Claros. Serão realizadas avaliações médicas e odontológicas. Os pacientes com alterações dentárias e ou médicas deverão ir a Montes Claros, para realizar exames específicos de pele, visão, ouvido e radiografias dentárias. Serão realizadas fotografias das regiões que apresentarem alteração. Também será coletado saliva dos pacientes para estudo genético. Os dados serão digitalizados no SPSS® (Statistical Package for the Social Science) versão for Windows 19.0 e submetidos a estudo específico. Justifica-se pela síndrome de Waardenburg pode se manifestar e suas repercussões orgânicas, destaca-se a importância de se estudar esta anomalia em todos os seus aspectos, de modo a auxiliar no diagnóstico, tratamento e aconselhamento genético.

Parecer

O Comitê de Ética da Unimontes analisou o processo 2781, e entende que o mesmo está completo e dentro das normas do Comitê e das Resoluções do Conselho Nacional da Saúde/Ministério da Saúde. Sendo assim, somos pela **APROVAÇÃO** do projeto.

Prof. Maisa Tavares de Souza Leite
Presidente do Comitê de Ética em Pesquisa da Unimontes

Lembramos que devem ser apresentados a este CEP, o Relatório Final da Pesquisa

ANEXO D: Parecer do Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade José do Rosário Vellano

UNIVERSIDADE JOSÉ
ROSÁRIO VELLANO/UNIFENAS



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: Avaliação de Hipertelorismo nas fissuras lábio palatinas não síndrômicas

Pesquisador: Letizia Monteiro de Barros

Área Temática:

Versão: 1

CAAE: 31781414.2.0000.5143

Instituição Proponente: Universidade José Rosário Vellano/UNIFENAS

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 756.921

Data da Relatoria: 20/08/2014

Apresentação do Projeto:

Adequada.

Objetivo da Pesquisa:

Adequada.

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Adequada.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

Pesquisa relevante.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Adequados.

Recomendações:

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Nada digno de nota.

Situação do Parecer:

Aprovado.

Necessita Apreciação da CONEP:

Não.

Endereço: Rodovia MG 179 km 0

Bairro: Campus UnivesulArde

CNPJ: 17.130-000

UF: MG

Município: ALFENAS

Teléfono: (35)3286-2437

Fax: (35)3286-3137

E-mail: comitedeetica@unifenas.br