

Rio de Janeiro – Dezembro, 2008

# TESTES GENÉTICOS MOLECULARES PARA TRANSTORNOS HEREDITÁRIOS DIVERSOS

## Informe ATS

### Avaliação de Tecnologia em Saúde

[www.ans.gov.br](http://www.ans.gov.br)  
Disque-ANS: 0800 701-9656  
Atendimento às operadoras: 21 2105-0333

Av. Augusto Severo, 84  
Glória, Rio de Janeiro-RJ  
20021-040

## PREFÁCIO

Dando continuidade à avaliação dos testes genéticos moleculares, apresentamos quatro testes para transtornos hereditários diversos.

Fica claro neste Informe que é fundamental a capacitação e a experiência dos médicos assistentes para o sucesso das ferramentas diagnósticas disponibilizadas pelos avanços tecnológicos na área da Genética Humana. Nisso, os testes genéticos moleculares não diferem dos demais métodos diagnósticos especializados, cujo desempenho é muito dependente do contexto em que são aplicados.

Não é a mera disponibilidade destes testes no país que garantirá o manejo adequado dos indivíduos e famílias acometidos, mas sim a existência de centros especializados para os quais eles possam ser referenciados pelos médicos generalistas (clínicos, pediatras) e especialistas (neurologistas, otorrinolaringologistas) e por outros profissionais (fonoaudiólogos).

Uma característica peculiar do teste para surdez hereditária é o seu potencial de integração a estratégias de triagem neonatal da perda auditiva. Mas até o momento não foi realizada uma estruturação desta triagem, de acordo com as recomendações da Organização Mundial da Saúde (OMS), como foi feito pelo Programa Nacional de Triagem Neonatal (PNTN) para fenilcetonúria, hipotireoidismo congênito, doenças falciformes e outras hemoglobinopatias e fibrose cística.

Foi possível encontrar um número significativo de artigos nacionais sobre os transtornos hereditários aqui abordados e assim foi possível levar em consideração os achados em indivíduos e famílias acometidos em nosso país.

Incentivamos os nossos leitores a encaminhar críticas, sugestões e comentários sobre os conteúdos aqui apresentados à Gerência de Avaliação de Tecnologias em Saúde, por e-mail, para [geats-i@ans.gov.br](mailto:geats-i@ans.gov.br).

### Equipe Técnica

#### Elaboração:

Eduardo Vieira Neto   
Médico Geneticista Clínico  
Mestre em Ciências Médicas – UFRJ  
Especialista em Regulação de Saúde Suplementar – ANS

#### Supervisão:

Rosimary Terezinha de Almeida   
Professora Adjunta do Programa de Engenharia Biomédica da COPPE – UFRJ  
Gerente da Gerência de Avaliação de Tecnologias em Saúde – ANS

#### Revisão:

Fernando Kok   
Médico Assistente do Serviço de Neurologia Infantil do Hospital das Clínicas  
– USP  
Pós-doutorado em Neurologia pelo Instituto Kennedy-Krieger da  
Universidade Johns Hopkins, Baltimore, Estados Unidos da América  
Livre-Docente em Neurologia Infantil – USP

## Resumo

### TESTES GENÉTICOS MOLECULARES PARA TRANSTORNOS HEREDITÁRIOS DIVERSOS MOLECULAR GENETIC TESTING FOR MISCELLANEOUS HEREDITARY DISORDERS

Este Informe apresenta uma síntese das evidências sobre quatro testes genéticos moleculares para o diagnóstico dos seguintes transtornos hereditários: Craniossinostoses Síndrômicas, Síndrome de Rett, Distrofia Muscular Facioescapuloumeral (FSHMD) e Surdez Hereditária Não-sindrômica. Os três primeiros se aplicam ao diagnóstico confirmatório de doenças raras em indivíduos sintomáticos, enquanto o teste para surdez hereditária não-sindrômica pode ser integrado a estratégias de triagem neonatal da perda auditiva, uma condição relativamente comum.

Os quatro testes são oferecidos pelo Centro de Estudos do Genoma Humano da Universidade de São Paulo, utilizado como referência de disponibilidade destes testes no país. Como critérios de avaliação foram escolhidos: utilidade clínica (superioridade do teste frente a outros métodos de diagnóstico definitivo já disponíveis), a frequência (prevalência ou incidência) do transtorno e a difusão do teste no Brasil.

O teste genético molecular tem uma baixa sensibilidade para a maioria das craniossinostoses síndrômicas abordadas neste Informe, cujo diagnóstico está fundamentado em achados clínicos e de imagem. Da mesma forma, o teste para FSHMD apresenta importantes limitações, que fazem com que o diagnóstico desta distrofia muscular dependa essencialmente de achados clínicos, eletrofisiológicos e histopatológicos. Por sua vez, o diagnóstico da síndrome de Rett é determinado por uma constelação de critérios essencialmente clínicos, não sendo necessária a utilização rotineira do teste genético molecular para confirmar o diagnóstico. Contudo, sua utilização pode ser justificada em meninas e mulheres com transtorno global do desenvolvimento moderado a grave que atendem aos critérios diagnósticos da síndrome de Rett clássica ou variante. Assim, a aplicação de critérios clínicos por médicos assistentes capacitados e experientes é fundamental para o sucesso das estratégias de diagnóstico destes três transtornos hereditários, mesmo que eventualmente sejam incluídos testes genéticos moleculares.

No caso da surdez hereditária não-sindrômica, a pesquisa das otoemissões acústicas evocadas transitórias (OEAET), seguida da pesquisa dos potenciais evocados auditivos do tronco cerebral (PEATC) como exame de confirmação diagnóstica, vêm sendo utilizadas em programas de triagem seletiva de recém-nascidos de alto risco e em programas de triagem neonatal universal. Apesar disso, permanece ainda incerta a capacidade da triagem em alterar a longo prazo os desfechos relativos à aquisição da fala e da linguagem e ao desempenho escolar das crianças acometidas identificadas. Esta incerteza se estende à utilidade clínica dos testes genéticos moleculares para a surdez hereditária não-sindrômica, em especial a pesquisa da mutação 35delG, o teste mais difundido para esta condição no Brasil.

## ÍNDICE

Introdução .....	6
Síntese das Evidências .....	6
Craniossinostoses Síndrômicas: síndromes de Apert, Crouzon, Pfeiffer e Saethre-Chotzen, seqüenciamento de éxons dos genes FGFR1, FGFR2, FGFR3, e TWIST .....	6
Síndrome de Rett, análise dos éxons do gene MECP2. ....	9
Distrofia Muscular Facioescapuloumeral .....	10
Surdez Hereditária Não-sindrômica, análise direta da mutação 35delG no gene da Conexina 26 (GJB2).....	12
Diagnóstico e triagem da surdez hereditária não-sindrômica e outras formas de surdez pré-lingual por testes fisiológicos .....	14
Diagnóstico molecular da surdez hereditária não-sindrômica pré-lingual .....	15
Discussão .....	16
Referências Bibliográficas .....	17

## TESTES GENÉTICOS MOLECULARES PARA TRANSTORNOS HEREDITÁRIOS DIVERSOS

### Introdução

Em continuidade ao Informe ATS Nº 2 sobre os “Testes Genéticos Moleculares para Doenças Neurodegenerativas Hereditárias”, serão aqui apresentados mais quatro testes para o diagnóstico de transtornos hereditários diversos, selecionados conforme exposto naquele Informe. Destes, três se aplicam a doenças raras e um a uma condição relativamente comum, a surdez infantil hereditária. Os quatro testes podem ser utilizados com finalidade diagnóstica confirmatória em indivíduos sintomáticos, porém o teste para surdez infantil hereditária pode ser integrado a estratégias de triagem neonatal da perda auditiva. Foram aqui adotados os mesmos critérios de avaliação especificados no Informe Nº 2, que são utilidade clínica, relevância epidemiológica e difusão do teste no Brasil. As fontes de evidências utilizadas foram as mesmas descritas no Informe Nº 2.

### Síntese das Evidências

#### Craniossinostoses Sindrômicas: síndromes de Apert, Crouzon, Pfeiffer e Saethre-Chotzen, seqüenciamento de éxons dos genes FGFR1, FGFR2, FGFR3, e TWIST

Craniossinostoses são malformações congênitas dos ossos do crânio causadas pela fusão prematura das articulações fibrosas que unem os ossos do crânio (suturas cranianas). Isto resulta em um crescimento craniano assimétrico ou reduzido, ocasionando uma alteração do formato do crânio, que pode estar associada a sintomas como deficiência mental, obstrução das vias aéreas, problemas de alimentação e distúrbios da visão (Arduino-Meirelles, Lacerda, Gil-da-Silva-Lopes, 2006).

As craniossinostoses podem ser resultantes de uma alteração intrínseca na(s) sutura(s) craniana(s), denominadas craniossinostoses primárias ou de deficiência de crescimento do cérebro que pode resultar em uma cabeça reduzida de tamanho (microcefalia), quando então são denominadas craniossinostoses secundárias. Estas últimas também podem ser causadas, mais raramente, por condições sistêmicas hematológicas ou metabólicas, incluindo transtornos do metabolismo ósseo (Flores-Sarnat, 2002).

As craniossinostoses primárias podem ocorrer isoladamente, sem associação com outras anomalias, sendo então denominadas de craniossinostoses não-sindrômicas ou isoladas. As craniossinostoses não-sindrômicas afetam na maioria das vezes uma única sutura, ocorrendo de forma esporádica<sup>1</sup>, em decorrência de fatores pouco esclarecidos; embora fatores genéticos possam contribuir, não há geralmente uma evidente história familiar (Flores-Sarnat, 2002).

Por outro lado, as craniossinostoses primárias podem estar associadas a anomalias em membros superiores e inferiores, orelhas e no sistema cardiovascular, e com frequência à deficiência mental. Estas craniossinostoses são designadas como craniossinostoses sindrômicas. Foram descritas mais de 100 formas de craniossinostose sindrômica de origem genética (Aviv, Rodger, Hall, 2002; Flores-Sarnat, 2002; Kimonis, Gold, Hoffman *et al.*, 2007).

Dentre as craniossinostoses sindrômicas, destacam-se aquelas que apresentam deformidades faciais, incluindo olhos saltados (exoftalmia) e anormalmente afastados (hipertelorismo ocular) e

---

1. A ocorrência de uma doença é dita esporádica quando não pode ser atribuída a uma causa hereditária, não sendo evidente uma história familiar (King, Stansfield, Mulligan, 2006).

nariz em forma de “bico de papagaio”, e anomalias dos dedos das mãos ou dos pés, que podem estar unidos de forma completa ou incompleta (sindactilia). As condições mais comuns incluídas neste grupo são as síndromes de Apert, Crouzon e Pfeiffer, decorrentes de mutações dos genes dos receptores de fator de crescimento de fibroblasto (FGFR, “*fibroblast growth factor receptor*”), e a síndrome de Saethre-Chotzen, determinada por mutações do gene TWIST1 (Ratisoontorn e Cunningham, 2005; Robin e Falk, 2006).

Embora as craniossinostoses estejam entre as malformações congênicas mais comuns, com uma incidência de 1 em 2.000 a 1 em 2.500 nascidos vivos, apenas 15% dos casos correspondem às craniossinostoses síndrômicas (Flores-Sarnat, 2002; Wilkie, Bochukova, Hansen *et al.*, 2007). É desconhecida a contribuição das mutações nos genes FGFR e TWIST1 para a incidência das craniossinostoses síndrômicas, no entanto, as síndromes de Saethre-Chotzen e de Crouzon são doenças raras com uma incidência estimada de 1 em 25.000 a 1 em 50.000 nascidos vivos, enquanto as síndromes de Apert e de Pfeiffer são doenças muito raras com uma incidência por volta de 1 em 100.000 nascidos vivos (Arduino-Meirelles, Lacerda, Gil-da-Silva-Lopes, 2006; Robin e Falk, 2006).

A avaliação clínica de todas as formas de craniossinostose se inicia pela história gestacional e familiar e pelo exame físico detalhado, com especial atenção para o crânio, a face e os membros superiores e inferiores, seguidos de avaliação especializada oftalmológica, neurológica e audiológica (Kimonis, Gold, Hoffman *et al.*, 2007). Contudo o diagnóstico de craniossinostose requer confirmação por métodos de imagem. A radiografia simples do crânio é o método de escolha na avaliação inicial de indivíduos com suspeita clínica de craniossinostose. A radiografia do esqueleto axial e dos membros complementa a avaliação diagnóstica dos indivíduos com suspeita clínica das síndromes de Saethre-Chotzen, Apert e Pfeiffer, em razão de serem encontradas nestas síndromes fusão das vértebras cervicais e anomalias características dos pés e das mãos (Kimonis, Gold, Hoffman *et al.*, 2007). Em alguns casos a tomografia computadorizada pode ser necessária para confirmação diagnóstica, especialmente nas craniossinostoses síndrômicas, pela sua capacidade de evidenciar detalhes das suturas cranianas e alterações cerebrais não visualizadas na radiografia simples do crânio (Lupescu, Hermier, Georgescu *et al.*, 2000; Aviv, Rodger, Hall, 2002). Por sua vez, a tomografia computadorizada tridimensional (3D-TC) é particularmente útil na avaliação de indivíduos com indicação de tratamento cirúrgico, já que a técnica pode demonstrar com detalhes a anatomia craniana com uma visão em perspectiva, o que é particularmente útil no planejamento da correção cirúrgica das deformidades craniofaciais complexas encontradas nestes indivíduos (Lupescu, Hermier, Georgescu *et al.*, 2000; Flores-Sarnat, 2002; Kimonis, Gold, Hoffman *et al.*, 2007).

Em relação aos testes genéticos moleculares para as craniossinostoses síndrômicas, deve ser notado que somente 15 a 20% dos indivíduos com suspeita clínica apresentam mutações nos genes FGFR1, FGFR2 ou FGFR3, aos quais se somam 5% de indivíduos com mutações no gene TWIST1 (Wilkie, Bochukova, Hansen *et al.*, 2007). Estudo com brasileiros acometidos por craniossinostoses síndrômicas encontrou mutações em um destes genes em cerca de 50% dos indivíduos (Oliveira, 2006).

A síndrome de Apert, a mais grave das síndromes aqui abordadas, constitui uma exceção, pois quase a totalidade dos indivíduos acometidos apresenta mutações no gene FGFR2, freqüentemente mutações novas<sup>2</sup>, originárias de um pai saudável e relacionadas à idade paterna avançada (Robin e Falk, 2006). A pesquisa de duas mutações do gene FGFR2 pode se apresentar positiva em 97% dos indivíduos com quadro clínico típico de síndrome de Apert (Kimonis, Gold,

---

2. Mutações novas ou mutações *de novo* são aquelas que ocorrem em casos isolados, não havendo, por conseguinte história familiar. São originárias de mutações em células germinativas, que dão origem aos espermatozoides e óvulos, de um dos genitores ou após a concepção já no ovo fertilizado. Estas mutações imprimem uma característica esporádica à ocorrência da doença (King, Stansfield, Mulligan, 2006).

Hoffman *et al.*, 2007). Contudo, o diagnóstico dessa síndrome é essencialmente clínico com base no achado de craniossinostose associada a deformidades da face e dos dedos das mãos e dos pés (Baraitser e Winter, 1996), não sendo necessária na maioria dos casos confirmação por teste genético molecular.

A sensibilidade do teste genético molecular para as demais craniossinostoses sindrômicas aqui abordadas é muito mais baixa. Aproximadamente 50% dos indivíduos acometidos pela síndrome de Crouzon apresentam uma das diversas mutações descritas no gene FGFR2 (Robin e Falk, 2006). Por sua vez, a síndrome de Crouzon com acantose nigricans<sup>3</sup> é uma condição extremamente rara com 35 casos descritos na literatura até 2007, tendo sido encontrada nos indivíduos investigados uma única mutação no gene FGFR3 (Arnaud-Lopez, Fragoso, Mantilla-Capacho *et al.*, 2007). Cerca de 42% dos indivíduos com características clínicas compatíveis com a síndrome de Crouzon não apresentam mutações em nenhum destes dois genes, o que faz supor que mutações em genes até o momento não mapeados possam ser também responsáveis por este quadro clínico (Oliveira, 2006).

Quanto à síndrome de Pfeiffer, aproximadamente 67% dos indivíduos acometidos pelos três tipos da síndrome apresentam mutações no gene FGFR2, e quase 5% dos indivíduos com síndrome de Pfeiffer tipo 1 (tipo clássico mais leve) apresentam mutações no gene FGFR1 (Robin e Falk, 2006).

A investigação genética molecular na síndrome de Saethre-Chotzen (SSC) é muito mais complexa. O desempenho do teste genético molecular é muito dependente da experiência dos médicos assistentes na identificação dos indivíduos que correspondam ao quadro clínico típico da síndrome. Assim, os estudos relatam a detecção de mutações do gene TWIST1 em 46% a 80% dos indivíduos com diagnóstico clínico de SSC. Entretanto, os métodos convencionais para detecção de mutação não são capazes de revelar as deleções<sup>4</sup> presentes em 11% a 28,5% de indivíduos com diagnóstico clínico de SSC. Por fim, em 3,6% dos indivíduos com SSC é necessária a realização de exame citogenético<sup>5</sup> para detectar alterações estruturais no cromossomo 7 (Ratisoontorn e Cunningham, 2005).

Em resumo, a sensibilidade do teste genético molecular por seqüenciamento do gene TWIST1 para a síndrome de Saethre-Chotzen e dos genes FGFR para as síndromes de Crouzon e Pfeiffer varia de 50-70% (Ratisoontorn e Cunningham, 2005; Robin e Falk, 2006). Assim, muitos indivíduos com achados clínicos e radiológicos típicos apresentam resultado negativo (Nascimento, de Mello, Batista *et al.*, 2004). O teste genético molecular é usualmente reservado como um instrumento auxiliar em casos atípicos.

Em razão de o diagnóstico das craniossinostoses sindrômicas estar fundamentado em achados clínicos e de imagem e da baixa sensibilidade do teste genético molecular por seqüenciamento dos genes FGFR e TWIST1 para a maioria das craniossinostoses sindrômicas abordadas neste Informe, o teste genético molecular não atende, portanto, ao critério de utilidade clínica. Além disso, as síndromes de Apert e de Pfeiffer apresentam uma incidência em torno de 1 em 100.000 nascidos vivos, não preenchendo o critério de relevância epidemiológica aqui definido como uma incidência (ou prevalência) superior a 1 em 50.000.

---

3. Acantose nigricans: lesões da pele com espessamento e hiperpigmentação de cor acastanhada e textura aveludada, localizadas principalmente no dorso do pescoço e nas regiões de dobra, tais como axilas e região inguinal (Bologna e Braverman, 2004).

4. Deleção: a perda de um segmento de material genético do cromossomo, que pode envolver desde a perda de um único nucleotídeo até grandes segmentos contendo diversos genes (Borém e Vieira, 2005; King, Stansfield, Mulligan, 2006). As técnicas habituais de detecção de mutações associadas à síndrome de Saethre-Chotzen, voltadas para a detecção de pequenas alterações na seqüência de nucleotídeos, não são capazes de detectar deleções de grandes segmentos de DNA.

5. Estudo morfológico dos cromossomos humanos em mitose (King, Stansfield, Mulligan, 2006).

## Síndrome de Rett, análise dos éxons do gene MECP2.

A síndrome de Rett é um transtorno global do desenvolvimento<sup>6</sup> de base genética que acomete quase que exclusivamente indivíduos do sexo feminino. A doença se caracteriza por um desenvolvimento psicomotor aparentemente normal nos primeiros 6 a 18 meses de vida. Após esta etapa se segue um curto período de estagnação do desenvolvimento e de desaceleração do crescimento do crânio, que prossegue com uma clara regressão psicomotora, acompanhada de grave deterioração no desenvolvimento da linguagem, perda do interesse social, perda das habilidades motoras das mãos associada ao surgimento de movimentos repetitivos e estereotipados que se assemelham a esfregar ou lavar as mãos, quando a criança está desperta e anormalidades da marcha (Bruck, Antoniuk, Halick *et al.*, 2001; Christodoulou, 2006; Stachon, Assumpcao, Raskin, 2007).

O diagnóstico da síndrome de Rett continua a ser baseado no achado de um conjunto de características clínicas reunidas a partir de relatos de seguimento de séries de casos, em diversas partes do mundo, de meninas acometidas. São fundamentais os achados de desenvolvimento normal nos períodos pré-natal e perinatal e nos primeiros 5 a 6 meses de vida, e de crânio de tamanho normal ao nascimento. Também deve ser encontrada na história clínica a regressão das capacidades previamente adquiridas pela criança nos domínios da fala, da comunicação e das habilidades manuais, substituídas por movimentos repetitivos e estereotipados, entre os 3 meses e os 3 anos de idade (Bruck, Antoniuk, Halick *et al.*, 2001; Weaving, Ellaway, Gecz *et al.*, 2005; Christodoulou, 2006).

Além da forma clássica acima descrita, a experiência clínica acumulada vem mostrando que o espectro da síndrome de Rett é muito mais amplo do que se acreditava, existindo também formas variantes ou atípicas de maior ou menor gravidade do que a forma clássica. Foi relatada uma forma atípica mais grave que não apresenta um período assintomático claro, manifestando-se já no período neonatal por hipotonia congênita e convulsões com menos de 6 meses de idade, e uma forma variante leve que tem um curso clínico mais arrastado que resulta em retardo mental menos grave. Existe ainda uma forma variante ainda mais leve, que se inicia após os 3 anos de idade, com manutenção da fala e da capacidade de deambulação (Webb e Latif, 2001; Christodoulou, 2006).

A associação da síndrome de Rett com mutações no gene da proteína metil-CpG ligante 2 (MECP2) foi pela primeira vez reconhecida em 1999 (Amir, Van den Veyver, Wan *et al.*, 1999). Desde então, diversos estudos têm avaliado meninas afetadas pertencentes a diversos grupos étnicos quanto à presença de mutações para a síndrome de Rett (Hampson, Woods, Latif *et al.*, 2000; Webb e Latif, 2001; Weaving, Ellaway, Gecz *et al.*, 2005; Williamson e Christodoulou, 2006). O percentual de detecção de mutações gênicas em meninas afetadas varia de 21% a mais de 90%. Contudo quando somente meninas com diagnóstico de síndrome de Rett clássica de acordo com critérios clínicos bem definidos são examinadas quanto à presença de mutações patogênicas no gene MECP2, este percentual se situa entre 90 e 95% (Williamson e Christodoulou, 2006). Depreende-se daí que o desempenho do teste genético molecular é dependente da acurácia do diagnóstico clínico, embora a técnica laboratorial utilizada também tenha influência (Webb e Latif, 2001).

---

6 Grupo de transtornos caracterizados por alterações qualitativas nos domínios das interações sociais, da comunicação e do comportamento. A interação social está qualitativamente prejudicada, bem como as habilidades de comunicação. O padrão de comportamento e os interesses são restritos, tendendo a ser repetitivos e estereotipados (Mercadante, Van der Gaag, Schwartzman, 2006).

Em cerca de 95% das pacientes, as mutações associadas à síndrome de Rett ocorrem *de novo*<sup>7</sup>, e há evidências que sugerem que na maioria dos casos as mutações se dão no cromossomo X de origem paterna. Esse é provavelmente o principal fator que explica o predomínio da doença no sexo feminino, e não a explicação tradicional de letalidade da síndrome de Rett em homens, já que o cromossomo X paterno predisposto à mutação não é transmitido pelo pai aos filhos do sexo masculino (Trappe, Laccone, Cobilanschi *et al.*, 2001).

No Brasil, estudo com 105 meninas e mulheres com diagnóstico clínico de síndrome de Rett encontrou mutações pontuais patogênicas em 64,1% do total. Em indivíduos com a forma clássica e com formas atípicas, foram detectadas mutações em 71,45% e 40%, respectivamente (Lima, 2004).

A prevalência da síndrome de Rett, incluindo todas as formas, é de cerca de 1 em 10.000 meninas/adolescentes na França e na Austrália (Bienvenu, Philippe, De Roux *et al.*, 2006; Laurvick, de Klerk, Bower *et al.*, 2006). Na Suécia, a prevalência da forma clássica é de 1 em 12.000-13.000 meninas (Engerstrom, 1990). Não há estudos sobre a prevalência da síndrome de Rett no Brasil.

Em resumo, o diagnóstico da síndrome de Rett é determinado por uma constelação de critérios essencialmente clínicos, não sendo necessária a utilização do teste genético molecular para confirmar o diagnóstico. Deve ser lembrado que mutações no gene MECP2 podem ser encontradas em indivíduos com outros transtornos (Williamson e Christodoulou, 2006). Além disso, cerca de 10-30% dos indivíduos com síndrome de Rett clássica não apresentam mutações e até 16% dos indivíduos com síndrome de Rett clássica ou variante com grandes deleções<sup>8</sup> no gene MECP2 apresentam resultado negativo no teste genético molecular convencional (Weaving, Ellaway, Gecz *et al.*, 2005; Christodoulou, 2006). Assim, não se justifica a utilização rotineira da pesquisa de mutações no gene MECP2 em indivíduos do sexo feminino com retardo mental de causa ignorada, porém sem as características clínicas da síndrome de Rett clássica ou variante, especialmente quando o transtorno global do desenvolvimento é leve (Shevell, Ashwal, Donley *et al.*, 2003; Kleefstra, Yntema, Nillesen *et al.*, 2004). As evidências também são insuficientes para recomendar a utilização deste teste molecular em indivíduos do sexo masculino com transtorno global do desenvolvimento moderado a grave (Shevell, Ashwal, Donley *et al.*, 2003). Contudo, a pesquisa de mutações no gene MECP2 pode ser considerada em indivíduos do sexo feminino com transtorno global do desenvolvimento moderado a grave que apresentam características clínicas da síndrome de Rett clássica ou variante. Nessas meninas e mulheres pode ser justificada a pesquisa de grandes deleções por teste genético molecular especial (Shevell, Ashwal, Donley *et al.*, 2003).

## Distrofia Muscular Facioescapuloumeral

A distrofia muscular facioescapuloumeral (FSHMD) está incluída entre as distrofias musculares progressivas hereditárias, que são doenças caracterizadas por fraqueza muscular resultante de degeneração e atrofia dos músculos esqueléticos. No caso específico da FSHMD, a fraqueza muscular atinge inicialmente os músculos da face, impedindo o indivíduo de sorrir, assobiar e fechar completamente os olhos. Logo se instala a fraqueza da cintura escapular (ombros e braços), que se expressa por uma dificuldade de levantar os braços, levando os indivíduos

---

7. Mutações novas ou mutações *de novo* são aquelas que ocorrem em casos isolados, não havendo, por conseguinte história familiar. São originárias de mutações em células germinativas, que dão origem aos espermatozoides e óvulos, de um dos genitores ou após a concepção já no ovo fertilizado. Estas mutações imprimem uma característica esporádica à ocorrência da doença (King, Stansfield, Mulligan, 2006).

8. Deleção: mutação que envolve a perda de uma base nitrogenada ou de uma sequência de bases nitrogenadas na molécula de DNA (Borém e Vieira, 2005).

acometidos a procurar atenção médica (Brown e Mendell, 2004). A doença se inicia no final da infância ou na adolescência, tendo uma evolução muito lentamente progressiva na maioria dos casos, sem comprometer a sobrevivência e a capacidade reprodutiva (OMIM, 2007). O padrão de herança é autossômico dominante<sup>9</sup>, existindo uma grande variabilidade clínica inter e intrafamiliar entre os indivíduos afetados.

A doença pode se estender aos membros inferiores resultando em pé caído pela paralisia dos músculos dorsiflexores do tornozelo. No entanto, em apenas 20% dos indivíduos a fraqueza muscular progride, em idades mais avançadas, para os músculos da cintura pélvica levando à perda da deambulação com conseqüente dependência de cadeira de rodas (Figlewicz e Tawil, 2005).

O diagnóstico da FSHMD é baseado nos achados clínicos de fraqueza dos músculos da face e da cintura escapular, poupando os músculos da faringe, mastigatórios, extrínsecos do olho e o miocárdio. Além disso, precisa ser demonstrado, nos casos familiares, um padrão de herança autossômica dominante, devendo mais de 50% dos membros afetados de uma família apresentar paralisia facial. A eletroneuromiografia e a biópsia muscular devem demonstrar evidências de miopatia, cabendo à biópsia afastar alterações histopatológicas específicas de outros diagnósticos (Pandya, King, Tawil, 2008).

O defeito genético na FSHMD é atribuído a uma deleção parcial de seqüências repetitivas do DNA, adjacentes umas às outras (seqüências repetidas em tandem<sup>10</sup>), denominadas D4Z4, localizadas no braço longo do cromossomo 4, na região 4q35. Na população normal, o número de repetições D4Z4 em 4q35 varia de 11 a mais de 100, e nos indivíduos afetados pela FSHMD, em virtude de deleção parcial, um dos alelos<sup>11</sup> apresenta 1 a 10 repetições D4Z4 (Wijmenga, Sandkuijl, Moerer *et al.*, 1992). Este achado propiciou o desenvolvimento de um teste genético molecular para FSHMD com base na determinação do número de repetições D4Z4 no cromossomo 4.

Contudo, alguns fatores complicadores diminuem o desempenho do teste genético molecular para FSHMD, impedindo que seus resultados sejam interpretados de uma forma simples. Primeiramente, foi demonstrada a existência de uma seqüência repetitiva quase idêntica à D4Z4 no cromossomo 10, na região 10q26. No entanto deleções na seqüência repetitiva deste cromossomo não causam a FSHMD. Além disso, translocações<sup>12</sup> podem ocorrer entre os cromossomos 4q35 e 10q26 em indivíduos normais (Lemmers, de Kievit, van Geel *et al.*, 2001). Portanto, o teste genético molecular usual pode não ser capaz de determinar se a deleção está localizada no cromossomo 10, inofensiva, ou no cromossomo 4, associada à doença (van der Maarel, Frants, Padberg, 2007). Além disso, há uma seqüência de nucleotídeos próxima a D4Z4 que também influencia o aparecimento da FSHMD. Esta seqüência apresenta duas variantes, 4qA e 4qB, encontradas com freqüências semelhantes na população, mas somente deleções de D4Z4 associadas a 4qA estão associadas com FSHMD. Concluindo, o diagnóstico molecular definitivo de indivíduos com suspeita clínica de FSHMD requer a aplicação em seqüência de testes adicionais que muitas vezes não estão disponíveis até nos centros de diagnóstico dos países desenvolvidos (Ehrlich, Jackson, Tsumagari *et al.*, 2007). Deve ainda ser destacado que, mesmo utilizando o protocolo completo de análise molecular, cerca de 5% dos indivíduos acometidos

9. O padrão de herança autossômica dominante é aquele observado em doenças cujos genes responsáveis estão localizados em cromossomos não-sexuais (autossomos) e que se manifestam tanto em indivíduos que herdaram o gene afetado de um dos genitores (heterozigotos), quanto em indivíduos que herdaram o gene afetado de ambos os genitores (homozigotos)

10. Seqüências nucleotídicas presentes em múltiplas cópias no genoma. Há vários tipos de seqüências repetidas, sendo as seqüências repetidas em tandem aquelas em que as cópias repetidas estão adjacentes umas às outras.

11. Alelos: formas alternativas do mesmo gene que ocupam uma dada posição em um cromossomo. Nas células humanas, com exceção de espermatozoides e óvulos, há dois alelos (duas cópias) para cada gene, pois o indivíduo herda um de cada genitor.

12. Translocação: troca de segmentos entre cromossomas não-homólogos - translocação intercromossômica (Borém e Vieira, 2005).

por FSHMD terão resultado final negativo em razão de não apresentarem deleções D4Z4 detectáveis.

A FSHMD é o terceiro mais comum transtorno muscular hereditário, atrás da distrofia de Duchenne-Becker<sup>13</sup> e da distrofia miotônica<sup>14</sup> (OMIM, 2007). Sua prevalência estimada na população mundial é de quatro a dez por 100.000 habitantes. Estudo com 34 famílias brasileiras afetadas pela FSHMD concluiu que cerca de 1/3 dos casos são originados de mutações novas, tratando-se, portanto de indivíduos sem história familiar da doença, e sugeriu a ocorrência do fenômeno da antecipação, isto é, a manifestação mais precoce e mais grave com o passar das gerações (Zatz, Marie, Passos-Bueno *et al.*, 1995). O estudo foi ampliado para 52 famílias brasileiras, com aplicação do teste genético molecular em 273 indivíduos afetados e seus familiares. Dos indivíduos testados, 131 (48%) apresentaram a deleção característica na seqüência repetitiva D4Z4. Foram detectados indivíduos assintomáticos positivos para a deleção, nos quais havia uma maior proporção de mulheres. Também foi observado um número maior de filhos do que de filhas afetadas de mães assintomáticas portadoras da deleção. Estes achados sugeriram menor penetrância<sup>15</sup> da doença em mulheres em comparação aos homens, com implicações para o prognóstico e o aconselhamento genético (Zatz, Marie, Cerqueira *et al.*, 1998).

Em virtude das importantes limitações do teste genético molecular para FSHMD acima descritas, que fazem com que o diagnóstico desta distrofia muscular dependa essencialmente de achados clínicos, eletrofisiológicos e histopatológicos, o teste genético molecular para FSHMD não atende ao critério de utilidade clínica conforme definido neste informe.

## Surdez Hereditária Não-sindrômica, análise direta da mutação 35delG no gene da Conexina 26 (GJB2)

A perda auditiva ou surdez é definida como uma elevação do limiar de percepção do som acima de 25 decibéis Nível de Audição<sup>16</sup> (25 dB NA), estabelecido como o limite superior do limiar audiométrico normal.

Fatores ambientais ou genéticos podem estar envolvidos com a perda auditiva. Entre as causas ambientais se destacam as infecções pré-natais (rubéola, toxoplasmose, sífilis, citomegalovírus e vírus do herpes), as infecções pós-natais, particularmente as meningites bacterianas, e a exposição a medicamentos que afetam a orelha interna<sup>17</sup> (Silva, Llerena, Cardoso, 2007).

Por outro lado, os fatores genéticos são representados por mutações em centenas de genes que podem gerar dois grupos principais de surdez hereditária, a sindrômica e a não-sindrômica. Na surdez sindrômica, a perda auditiva está associada a malformações da orelha externa ou de outros órgãos ou a anormalidades clínicas de outros sistemas, incluindo anomalias oculares, malformações craniofaciais, alterações endócrinas, cardíacas ou renais e anormalidades da

---

13. A distrofia muscular de Duchenne (DMD) é uma doença letal caracterizada por fraqueza muscular progressiva, levando à perda da habilidade de caminhar entre os sete e 12 anos de idade e à morte antes dos 30 anos por insuficiência cardíaca ou respiratória. A doença afeta exclusivamente meninos, com uma incidência mundial de 1 em 3.500 nascidos vivos do sexo masculino (Matsuo, 2005). A distrofia muscular de Becker se distingue da DMD por seu curso clínico mais benigno, com início e perda da capacidade de deambulação mais tardios e pela maior sobrevida (Matsuo, 2005).

14. A distrofia miotônica é uma doença progressiva que afeta diversos sistemas do organismo, cuja característica mais singular é o fenômeno miotônico, que é a dificuldade para relaxar a musculatura após a contração. Ela se subdivide em dois tipos, geneticamente distintos, tipo 1 (DM1) e tipo 2 (DM2). A DM1 com início na idade adulta e a DM2 se assemelham clinicamente. Os indivíduos afetados apresentam miotonia, fraqueza e atrofia muscular, catarata e, nos homens, calvície frontal e atrofia testicular (Finsterer, 2005).

15. Penetrância: Proporção de indivíduos com uma determinada mutação que causa uma doença específica que apresentam os sinais e sintomas clínicos dessa doença. O termo geralmente se refere a doenças com padrão de herança autossômica dominante (GeneTests, 1997-2007).

16. Define-se como 0 (zero) dB NA o menor nível de pressão sonora audível por um indivíduo de audição normal (Kemp, 2002).

17. Orelha interna é uma parte essencial do órgão auditivo que consiste em um labirinto membranáceo dentro de um labirinto ósseo. Este labirinto ósseo é um complexo de três cavidades, a cóclea, o vestibulo do labirinto e os canais semicirculares. A cóclea está envolvida com a audição, enquanto o vestibulo do labirinto e os canais semicirculares respondem pelo equilíbrio (DeCS, 2008b).

pigmentação da pele, cabelos ou íris. Na surdez não-sindrômica, a única manifestação clínica indicativa de mutação genética é a perda auditiva, inexistindo alterações evidentes da orelha externa e alterações clínicas de outros sistemas, embora possam existir anomalias da orelha média e interna (Smith e Van Camp, 2007).

A maioria dos casos de surdez hereditária não-sindrômica se expressa como perda auditiva sensorio-neural, já que resulta de transtornos de estruturas da orelha interna e/ ou do nervo coclear. Contudo, alguns casos de surdez hereditária não-sindrômica apresentam perda auditiva condutiva, decorrente de afecção do aparelho condutivo (canal auditivo externo, membrana timpânica e/ ou ossículos da orelha média), que bloqueia a condução do som.

Por outro lado, a perda auditiva na surdez hereditária não-sindrômica com padrão de herança autossômica recessiva<sup>18</sup> é geralmente grave ou profunda, acomete as duas orelhas (bilateral) e, por estar presente desde o nascimento, resulta na privação da percepção e identificação da voz humana pela criança, o que a impede de adquirir naturalmente a linguagem oral. Esta forma de surdez é denominada pré-lingual. Em contraste, a perda auditiva na surdez hereditária não-sindrômica com padrão de herança autossômica dominante<sup>19</sup> (SHNS-AD) de regra se inicia na segunda ou terceira décadas de vida, conseqüentemente após o desenvolvimento espontâneo da fala e da linguagem, sendo então denominada surdez pós-lingual (Petersen e Willems, 2006).

A surdez hereditária não-sindrômica é extremamente heterogênea, tendo sido identificados até o momento cerca de 50 genes nucleares (não associados ao DNA mitocondrial) responsáveis por esta forma de surdez (van Camp e Smith, 2008). O padrão de herança autossômica recessiva é encontrado em 75 a 80% das famílias acometidas por surdez hereditária não-sindrômica pré-lingual (Petersen e Willems, 2006; Smith e Van Camp, 2007).

A surdez pré-lingual é uma das anomalias congênicas mais comuns, com uma prevalência de cerca de 1 em 1.000 nascidos vivos nos países industrializados ocidentais (Schopflocher, Corabian, Eng *et al.*, 2007). Em razão da diminuição dos casos de surdez por infecções bacterianas e virais nesses países, calcula-se que 35% de todos os casos de surdez pré-lingual possam ser atribuídos à surdez hereditária não-sindrômica (Schopflocher, Corabian, Eng *et al.*, 2007).

No Brasil, os poucos estudos de prevalência da surdez existentes são geograficamente restritos. Em Canoas, Rio Grande do Sul, um estudo transversal demonstrou uma prevalência de 1,5% da perda auditiva grave ou profunda (Beria, Raymann, Gigante *et al.*, 2007). Por sua vez estudos realizados com surdos brasileiros, a maioria crianças e adolescentes, relatam o predomínio das causas ambientais, em especial da síndrome da rubéola congênita, que respondeu por 15 a 32% dos casos (Duarte e Silva, 1997; Cecatto, Garcia, Costa *et al.*, 2003; Silva, Queiros, Lima, 2006; Silva, Llerena, Cardoso, 2007). Foi possível determinar a participação das causas genéticas em dois destes estudos, que relataram que este grupo de causas foi responsável por 13% e 20,7% dos casos, respectivamente (Duarte e Silva, 1997; Silva, Llerena, Cardoso, 2007). O estabelecimento da vacina tríplice viral (sarampo, rubéola e caxumba) no calendário básico de vacinação, e a universalização da imunização contra o *Haemophilus influenzae* tipo b, podem apontar para uma tendência à diminuição da surdez grave ou profunda de caráter ambiental no Brasil (Silva, Llerena, Cardoso, 2007).

---

18. O padrão de herança autossômica recessiva é aquele observado em doenças cujos genes responsáveis estão localizados em cromossomos não-sexuais (autossomos) e que se manifestam somente nos indivíduos que herdaram o gene afetado de ambos os genitores (homozigotos).

19. O padrão de herança autossômica dominante é aquele observado em doenças cujos genes responsáveis estão localizados em cromossomos não-sexuais (autossomos) e que se manifestam tanto em indivíduos que herdaram o gene afetado de um dos genitores (heterozigotos), quanto em indivíduos que herdaram o gene afetado de ambos os genitores (homozigotos).

## Diagnóstico e triagem da surdez hereditária não-sindrômica e outras formas de surdez pré-lingual por testes fisiológicos

A surdez pré-lingual, na ausência de diagnóstico e tratamento, afeta de forma definitiva a aquisição da linguagem e da fala, influenciando o comportamento social e emocional da criança e comprometendo seu desempenho escolar (Oliveira, Castro, Ribeiro, 2002). No entanto, a idade média de diagnóstico definitivo de surdez pré-lingual no Brasil é tardia, em torno dos 2 anos de vida, semelhante à dos países desenvolvidos antes da implantação de programas de triagem universal (Cecatto, Garcia, Costa *et al.*, 2003; Silva, Queiros, Lima, 2006; Silva, Llerena, Cardoso, 2007).

Atualmente há um consenso de que a simples observação médica e a suspeita dos pais não são suficientes para a detecção precoce da surdez pré-lingual, sendo utilizados na triagem desta condição testes fisiológicos que determinam objetivamente o estado funcional do sistema auditivo, não dependendo de cooperação da criança (Oliveira, Castro, Ribeiro, 2002). Os dois testes mais utilizados nos estudos de triagem neonatal universal ou de recém-nascidos em risco de surdez pré-lingual são: a pesquisa dos potenciais evocados auditivos do tronco cerebral (PEATC) e a pesquisa das otoemissões acústicas evocadas transitórias (OEAET). A pesquisa das OEAET pode ser realizada uma única vez ou ser repetida nas crianças que apresentaram falha, isto é, cuja orelha interna (cóclea) não respondeu adequadamente ao som com a geração das otoemissões acústicas, com vistas a reduzir o número de falso-positivos a um nível aceitável. Por sua vez, a pesquisa dos PEATC em razão de ser um teste de duração relativamente longa e requerer pessoal altamente qualificado é usualmente utilizada como exame de confirmação diagnóstica quando há falha nas OEAET (MSAC, 1999; Corbillon, Obrecht, Barré *et al.*, 2007).

Não existe um exame de referência (padrão-ouro) para o diagnóstico da perda auditiva em recém-nascidos e lactentes, contra o qual possa ser comparada a pesquisa das OEAET e dos PEATC. Não obstante, uma revisão sistemática de estudos de eficácia das OEAET, admitindo os PEATC como referência, demonstrou sensibilidade de 50 a 100%, especificidade de 52 a 95%, valor preditivo positivo de 4 a 73% e valor preditivo negativo de 93 a 100% (MSAC, 1999). A significativa variação da sensibilidade e da especificidade das OEAET entre os estudos pode ser resultante da falta de padronização das condições de realização do teste e de diferenças entre as populações estudadas (recém-nascidos saudáveis versus de alto risco, incluindo os internados em unidades de terapia intensiva ou em outros ambientes hospitalares). Por outro lado, em virtude de o valor preditivo positivo ser influenciado pela prevalência da condição na população estudada, e considerando que a surdez pré-lingual é relativamente rara, era esperado um valor preditivo positivo baixo, isto é, um grande número de crianças que apresentaram falha nas OEAET (teste positivo) acabou no seguimento não tendo o diagnóstico de perda auditiva confirmado.

A pesquisa das OEAET, seguida da pesquisa dos PEATC como exame de confirmação diagnóstica, vêm sendo utilizadas em programas de triagem seletiva de recém-nascidos de alto risco de surdez pré-lingual e em programas de triagem neonatal universal. Embora esta última estratégia tenha se mostrado capaz de aumentar a detecção de recém-nascidos acometidos, em comparação à triagem seletiva, permanece ainda incerta a capacidade da triagem universal em alterar a longo prazo os desfechos relativos à aquisição da fala e da linguagem e ao desempenho escolar (Thompson, McPhillips, Davis *et al.*, 2001; Puig, Municio, Meda, 2005).

É nesse contexto de incerteza em relação ao desempenho dos testes de triagem da surdez pré-lingual, por um lado, e dos próprios programas de triagem neonatal universal pelo outro, que será abordada aqui a utilidade clínica dos testes genéticos moleculares para a surdez hereditária

não-sindrômica pré-lingual, que provavelmente é responsável por cerca de 10% dos casos de surdez pré-lingual no Brasil.

### Diagnóstico molecular da surdez hereditária não-sindrômica pré-lingual

Entre os testes moleculares para a surdez hereditária não-sindrômica pré-lingual, destaca-se a detecção de mutações nos genes associados ao loco<sup>20</sup> DFNB1<sup>21</sup>, GJB2 e GJB6<sup>22</sup>, que codificam as conexinas 25 e 30, respectivamente. Mutações nestes genes são responsáveis por surdez hereditária não-sindrômica pré-lingual com padrão de herança autossômica recessiva. Há uma significativa variabilidade intra-familiar na gravidade da surdez associada a mutações neste loco. Não obstante, mutações no loco DFNB1 estão envolvidas em 50% dos casos de surdez hereditária não-sindrômica pré-lingual com padrão de herança autossômica recessiva nos EUA, França, Reino Unido, Austrália e Nova Zelândia (Read, 2000). A mais freqüente mutação do gene GJB2 associada à surdez é a 35delG<sup>23</sup>, que responde por 70% das mutações deste gene nas populações da Europa Setentrional e Meridional e na população branca dos Estados Unidos da América (Oliveira, Alexandrino, Abe-Sandes *et al.*, 2004).

Contudo, em razão de sua forte ligação a populações brancas de origem europeia, é esperada uma freqüência bem menor da mutação 35delG no Brasil, em razão de sua expressiva heterogeneidade étnica. Uma redução significativa da freqüência da mutação 35delG em brasileiros afrodescendentes e descendentes de japoneses já foi demonstrada em um estudo com 307 brasileiros não-aparentados (Oliveira, Alexandrino, Abe-Sandes *et al.*, 2004). Não se pode determinar de antemão a freqüência da mutação 35delG em nosso país, sendo necessários estudos com tamanho amostral adequado. Por esta razão, no Brasil ainda há uma grande incerteza quanto ao desempenho da pesquisa direta desta mutação em indivíduos com diagnóstico definitivo de surdez não-sindrômica pré-lingual com vistas à elucidação da etiologia genética. Em países com composição étnica heterogênea como o Brasil, recomendam-se estratégias mais complexas, tal como o seqüenciamento de toda a região codificadora do gene GJB2, acrescida da pesquisa de deleções<sup>24</sup> no gene GJB6 em indivíduos com surdez hereditária não-sindrômica pré-lingual com padrão de herança autossômica recessiva (Smith e Van Camp, 2005).

Cinco estudos avaliaram o desempenho de testes genéticos moleculares em surdos brasileiros (Oliveira, Maciel-Guerra, Sartorato, 2002; Pfeilsticker, Stole, Sartorato *et al.*, 2004; Piatto, Bertollo, Sartorato *et al.*, 2004; Bernardes, Bortoncello, Christiani *et al.*, 2006; Magni, 2007). A respeito especificamente da análise da mutação 35delG do gene GJB2, dos 346 surdos analisados nestes estudos, 46 (13%) eram homozigotos<sup>25</sup> para a mutação 35delG. Contudo, foram observados 37 (11%) surdos heterozigotos<sup>26</sup> com uma única cópia da mutação 35delG, sendo necessário

20. Loco: sítio, local de um gene em um cromossomo (Borém e Vieira, 2005).

21. Os diferentes locos da surdez hereditária não-sindrômica são designados pela abreviação DFN (do inglês *deafness*) seguida pelas letras A ou B, que se referem ao padrão de herança autossômica dominante (DFNA) e autossômica recessiva (DFNB), respectivamente. Quando utilizada isoladamente DFN implica em um padrão de herança ligada ao X. Após as letras, acompanha um número que indica a ordem de descoberta do loco (Piatto, Nascimento, Alexandrino *et al.*, 2005). Assim DFNB1 designa o primeiro loco descoberto associado à surdez hereditária não-sindrômica autossômica recessiva.

22. Proteínas de junções tipo fenda beta 2 ("*gap junction protein*", beta-2; GJB2), que corresponde à conexina 26 e beta 6 ("*gap junction protein*", beta-6; GJB6), que corresponde à conexina 30. As junções tipo fenda são conexões entre células que permitem a passagem de pequenas moléculas e corrente elétrica, sendo formadas por proteínas denominadas conexinas (DeCS, 2008a).

23. Mutações que consistem na deleção de uma guanina (G) localizada em seqüência de seis guaninas, que se estende da posição 30 até a posição 35 no gene GJB2. Alguns autores referem o nucleotídeo deletado como 30G, a primeira das 6 G - 30delG, enquanto outros o referem como 35G, a última das 6 G - 35delG (OMIM, 2008).

24. Deleção: mutação que envolve a perda de uma base nitrogenada ou de uma seqüência de bases nitrogenadas na molécula de DNA (Borém e Vieira, 2005).

25. Homozigoto: indivíduo que apresenta variantes gênicas idênticas nos cromossomos homólogos herdados de seus genitores (King, Stansfield, Mulligan, 2006).

26. Heterozigoto: indivíduo que apresenta variantes gênicas diferentes nos cromossomos homólogos herdados de seus genitores (King, Stansfield, Mulligan, 2006).

nestes indivíduos uma investigação mais complexa que incluísse o seqüenciamento de toda a região codificadora do gene GJB2 e a pesquisa de deleções no gene GJB6. Em razão das dificuldades de acesso a estes testes complementares, somente em um estudo ambos foram realizados, permanecendo incompleta a avaliação genética molecular em 28 (8%) surdos heterozigotos para a mutação 35delG.

Em resumo, a pesquisa da mutação 35delG em estudos brasileiros apresentou resultados inconclusivos em cerca de 10% dos surdos, na grande maioria dos casos pela não disponibilidade dos testes complementares à pesquisa desta mutação, especialmente o seqüenciamento do gene GJB2.

Concluindo, diante das incertezas quanto ao desempenho da pesquisa da mutação 35delG e mesmo do seqüenciamento de toda a região codificadora do gene GJB2 na avaliação de crianças com surdez hereditária não-sindrômica pré-lingual, de maneira especial no Brasil, estes dois testes genéticos moleculares por ora não atendem ao critério de utilidade clínica.

## Discussão

Na descrição de três das quatro doenças acima abordadas, com a possível exceção da surdez pré-lingual, fica evidente que a aplicação de critérios clínicos por médicos assistentes capacitados e experientes é fundamental para o sucesso das estratégias de diagnóstico que incluam os testes genéticos moleculares.

Outro fator que tem de ser levado em conta na avaliação do desempenho de testes genéticos moleculares, especialmente a pesquisa de mutações específicas, é a composição étnica da população em que o teste é aplicado, já que algumas mutações, como a 35delG da surdez hereditária não-sindrômica, têm uma forte associação com etnia. Isto é particularmente importante no Brasil, que tem uma população etnicamente bastante heterogênea e miscigenada.

A positividade de cerca de 70% do teste genético molecular aplicado em meninas brasileiras com síndrome de Rett clássica (Lima, 2004), contra 90-95% de positividade descrita por alguns autores estrangeiros (Williamson e Christodoulou, 2006), pode ser explicada pela capacidade do médico assistente em selecionar uma população de indivíduos com alta probabilidade pré-teste, pela adoção de critérios clínicos bem definidos.

Contudo, mesmo nos países desenvolvidos, nos quais o diagnóstico clínico de doenças raras é geralmente realizado em centros de referência e as populações são geralmente mais homogêneas ou bem menos miscigenadas que a população brasileira, destaca-se o grande número de indivíduos acometidos (10-50%) com quadros clínicos típicos de síndrome de Rett e de craniossinostoses sindrômicas (síndromes de Crouzon, Pfeiffer e Saethre-Chotzen) que não apresentam mutações detectáveis pelas técnicas moleculares usuais (Ratisoontorn e Cunningham, 2005; Weaving, Ellaway, Gecz *et al.*, 2005; Christodoulou, 2006; Robin e Falk, 2006). Assim, a aplicação de critérios clínicos bem definidos associada a achados radiológicos, no caso específico das craniossinostoses sindrômicas, deve prevalecer sobre os resultados dos testes genéticos moleculares.

No caso da surdez hereditária não-sindrômica pré-lingual, se agregam às questões étnicas as evidentes diferenças de peso dos fatores ambientais e genéticos entre o Brasil e os países desenvolvidos onde os estudos com testes genéticos moleculares são em geral desenvolvidos. Assim, a pesquisa da mutação 35delG, e mesmo estratégias mais complexas como o seqüenciamento de toda a região codificadora do gene GJB2, acrescida da pesquisa de deleções

no gene GJB6, são capazes de esclarecer a causa de cerca de 10% dos casos de surdez pré-lingual no Brasil.

Quanto à FSHMD, os testes genéticos moleculares usuais apresentam diversos problemas metodológicos, e somente uma avaliação molecular mais complexa e detalhada é capaz de alcançar uma sensibilidade de cerca de 95% quando aplicada a indivíduos com suspeita clínica.

## Referências Bibliográficas

- Amir, R. E.; Van den Veyver, I. B.; Wan, M., *et al.* Rett syndrome is caused by mutations in X-linked MECP2, encoding methyl-CpG-binding protein 2. Nat. Genet., v.23, n.2, Oct, p.185-8. 1999.
- Arduino-Meirelles, A. P.; Lacerda, C. B. F. d.; Gil-da-Silva-Lopes, V. L. Aspectos sobre desenvolvimento de linguagem oral em craniossinostoses síndrômicas  
Developmental aspects of oral language in craniosynostosis. Pro-fono, v.18, n.2, p.213-220. 2006.
- Arnaud-Lopez, L.; Fragoso, R.; Mantilla-Capacho, J., *et al.* Crouzon with acanthosis nigricans. Further delineation of the syndrome. Clin. Genet., v.72, n.5, Nov, p.405-10. 2007.
- Aviv, R. I.; Rodger, E.; Hall, C. M. Craniosynostosis. Clin. Radiol., v.57, n.2, Feb, p.93-102. 2002.
- Baraitser, M. e Winter, R. M. Color Atlas of Congenital Malformation Syndromes. London: Mosby-Wolfe. 1996
- Beria, J. U.; Raymann, B. C.; Gigante, L. P., *et al.* Hearing impairment and socioeconomic factors: a population-based survey of an urban locality in southern Brazil. Rev. Panam. Salud Pública, v.21, n.6, Jun, p.381-7. 2007.
- Bernardes, R.; Bortoncello, S.; Christiani, T. V., *et al.* Estudo molecular em crianças candidatas e submetidas ao implante coclear  
Molecular investigation in children candidates and submitted to cochlear implantation. Rev. Bras. Otorrinolaringol., v.72, n.3, p.333-336. 2006.
- Bienvenu, T.; Philippe, C.; De Roux, N., *et al.* The incidence of Rett syndrome in France. Pediatr. Neurol., v.34, n.5, May, p.372-5. 2006.
- Bologna, J. L. e Braverman, I. M. Skin Manifestations of Internal Disease In: D. L. Kasper, A. S. Fauci, *et al* (Ed.). Harrison's Principles of Internal Medicine 16th ed. New York: McGraw-Hill Professional, 2004
- Borém, A. e Vieira, M. L. C. Glossário de Biotecnologia. Viçosa, MG: Folha de Viçosa. 2005
- Brown, R. H. J. e Mendell, J. R. Muscular Dystrophies and Other Muscle Diseases. In: D. L. Kasper, A. S. Fauci, *et al* (Ed.). Harrison's Principles of Internal Medicine 16th ed: McGraw-Hill Professional, 2004
- Bruck, I.; Antoniuk, S. A.; Halick, S. M., *et al.* Síndrome de Rett: Estudo retrospectivo e prospectivo de 28 pacientes. Arq. Neuropsiquiatr., v.59, n.2-B, Jun, p.407-10. 2001.

Cecatto, S. B.; Garcia, R. I. D.; Costa, K. S., *et al.* Análise das principais etiologias de deficiência auditiva em Escola Especial “Anne Sullivan”. Rev. Bras. Otorrinolaringol., v.69, n.2, p.235-40. 2003.

Christodoulou, J. MECP2-Related Disorders. GeneReviews at GeneTests: Medical Genetics Information Resource (database online). Seattle: University of Washington. 2006. Disponível em: <http://www.genetests.org>. Acesso em: 03/09/2007.

Corbillon, E.; Obrecht, O.; Barré, S., *et al.* Évaluation du dépistage neonatal systématique de la surdité permanente bilatérale. Haute Autorité de Santé. Saint-Denis La Plaine, France. 2007. Disponível em: [http://www.has-sante.fr/portail/upload/docs/application/pdf/rapport\\_-\\_evaluation\\_du\\_depistage\\_neonatal\\_systematique\\_de\\_la\\_surdite\\_permanente\\_bilaterale.pdf](http://www.has-sante.fr/portail/upload/docs/application/pdf/rapport_-_evaluation_du_depistage_neonatal_systematique_de_la_surdite_permanente_bilaterale.pdf). Acesso em: 30/11/2008.

DeCS. Junções GAP: Biblioteca Virtual em Saúde. Descritores em Ciências da Saúde 2008a.

\_\_\_\_\_. Orelha Interna: Biblioteca Virtual em Saúde. Descritores em Ciências da Saúde 2008b.

Duarte, A. R. e Silva, E. O. d. Causas de surdez pré-verbal em uma população institucionalizada, enfatizando a etiologia genética. J. Pediatr. (Rio J.), v.73, n.4, p.239-43. 1997.

Ehrlich, M.; Jackson, K.; Tsumagari, K., *et al.* Hybridization analysis of D4Z4 repeat arrays linked to FSHD. Chromosoma, v.116, n.2, Apr, p.107-16. 2007.

Engerstrom, I. W. Rett syndrome in Sweden. Neurodevelopment--disability--pathophysiology. Acta Paediatr. Scand. Suppl., v.369, p.1-60. 1990.

Figlewicz, D. A. e Tawil, R. Facioscapulohumeral Muscular Dystrophy. GeneReviews at GeneTests: Medical Genetics Information Resource (database online). Seattle: University of Washington. 2005. Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/bookshelf/br.fcgi?book=genet&part=fsh#fsh>. Acesso em: 09/08/2007.

Finsterer, J. Myotonic Dystrophy. In: J. Fuchs e M. Podda (Ed.). Encyclopedia of Medical Genomics and Proteomics. New York: Marcel Dekker, 2005. p.885-890

Flores-Sarnat, L. New insights into craniosynostosis. Semin. Pediatr. Neurol., v.9, n.4, Dec, p.274-91. 2002.

GeneTests. GeneReviews Illustrated Glossary at GeneTests: Medical Genetics Information Resource (database online). Seattle: University of Washington. 1997-2007. Disponível em: <http://www.genetests.org>. Acesso em: 11/09/2007.

Hampson, K.; Woods, C. G.; Latif, F., *et al.* Mutations in the MECP2 gene in a cohort of girls with Rett syndrome. J. Med. Genet., v.37, n.8, Aug, p.610-2. 2000.

Kemp, E. Física da Fala e da Audição. Campinas: Instituto de Física Gleb Wataghin (IFGW), UNICAMP. 2002. Disponível em: <http://www.ifi.unicamp.br/~kemp/f105wp/downloads/parte04a.pdf>. Acesso em: 03/06/2008.

Kimonis, V.; Gold, J. A.; Hoffman, T. L., *et al.* Genetics of craniosynostosis. Semin. Pediatr. Neurol., v.14, n.3, Sep, p.150-61. 2007.

King, R. C.; Stansfield, W. D.; Mulligan, P. K. A Dictionary of Genetics. 7th ed. Oxford: Oxford University Press. 2006.

Kleefstra, T.; Yntema, H. G.; Nillesen, W. M., *et al.* MECP2 analysis in mentally retarded patients: implications for routine DNA diagnostics. Eur. J. Hum. Genet., v.12, n.1, Jan, p.24-8. 2004.

Laurvick, C. L.; de Klerk, N.; Bower, C., *et al.* Rett syndrome in Australia: a review of the epidemiology. J. Pediatr., v.148, n.3, Mar, p.347-52. 2006.

Lemmers, R. J. L.; de Kievit, P.; van Geel, M., *et al.* Complete allele information in the diagnosis of facioscapulohumeral muscular dystrophy by triple DNA analysis. Ann. Neurol., v.50, n.6, Dec, p.816-9. 2001.

Lima, F. T. d. Estudo clínico e molecular de pacientes com síndrome de Rett. Escola Paulista de Medicina, Universidade Federal de São Paulo, São Paulo, 2004. 163 p.

Lupescu, I.; Hermier, M.; Georgescu, S. A., *et al.* Exploration des crâniosténoses par scanner spiralé. J. Neuroradiol., v.27, n.2, Jun, p.128-39. 2000.

Magni, C. Deficiência auditiva não-sindrômica: avaliação genética (genes de conexinas) e fenotípica (clínica e audiológica). Setor de Ciências Biológicas. Programa de Pós-Graduação em Genética, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2007. xix; 161 p.

Matsuo, M. Becker Muscular Dystrophy. In: J. Fuchs e M. Podda (Ed.). Encyclopedia of Medical Genomics and Proteomics. New York: Marcel Dekker, 2005. p.111-113

Mercadante, M. T.; Van der Gaag, R. J.; Schwartzman, J. S. Transtornos invasivos do desenvolvimento não-autísticos: síndrome de Rett, transtorno desintegrativo da infância e transtornos invasivos do desenvolvimento sem outra especificação. Rev. Bras. Psiquiatr., v.28 Suppl 1, May, p.S12-20. 2006.

MSAC. Oto-acoustic emission audiometry. Medicare Services Advisory Committee (MSAC). Canberra: Aug 1999, p.43. 1999. (MSAC application 1002). Disponível em: [http://www.msac.gov.au/internet/msac/publishing.nsf/Content/959C48A63A8AFD3ECA25745D0080A829/\\$File/1002%20-%20Oto-acoustic%20emission%20audiometry%20-%20Report.pdf](http://www.msac.gov.au/internet/msac/publishing.nsf/Content/959C48A63A8AFD3ECA25745D0080A829/$File/1002%20-%20Oto-acoustic%20emission%20audiometry%20-%20Report.pdf). Acesso em: 01/12/2008.

Nascimento, S. R.; de Mello, M. P.; Batista, J. C., *et al.* Clinical findings in four Brazilian families affected by Saethre-Chotzen syndrome without TWIST mutations. Cleft Palate-Craniofac. J., v.41, n.3, May, p.250-5. 2004.

Oliveira, C. A.; Alexandrino, F.; Abe-Sandes, K., *et al.* Frequency of the 35delG mutation in the GJB2 gene in samples of European, Asian, and African Brazilians. Hum. Biol., v.76, n.2, Apr, p.313-6. 2004.

Oliveira, C. A.; Maciel-Guerra, A. T.; Sartorato, E. L. Deafness resulting from mutations in the GJB2 (connexin 26) gene in Brazilian patients. Clin. Genet., v.61, n.5, May, p.354-8. 2002.

Oliveira, N. A. J. Estudo molecular das cranioossinostoses síndrômicas: Crouzon, Pfeiffer e Saethre-Chotzen. Instituto de Biociências. Departamento de Genética e Biologia Evolutiva, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2006.

Oliveira, P.; Castro, F.; Ribeiro, A. Surdez infantil. Rev. Bras. Otorrinolaringol., v.68, n.3, Maio/Jun, p.417-423. 2002.

OMIM. Facioscapulohumeral Muscular Dystrophy 1A; FSHMD1A. McKusick-Nathans Institute of Genetic Medicine, Johns Hopkins University and National Center for Biotechnology Information, National Library of Medicine. Baltimore (MD) and Bethesda (MD). 2007. (MIM Number: 158900). Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/dispomim.cgi?cmd=entry&id=158900>. Acesso em: 11/09/2007.

\_\_\_\_\_. Gap Junction Protein, Beta-2; GJB2. McKusick-Nathans Institute of Genetic Medicine, Johns Hopkins University and National Center for Biotechnology Information, National Library of Medicine. Baltimore (MD) and Bethesda (MD). 2008. (MIM Number: 121011). Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/dispomim.cgi?cmd=entry&id=121011>. Acesso em: 01/12/2008.

Pandya, S.; King, W. M.; Tawil, R. Facioscapulohumeral dystrophy. Phys. Ther., v.88, n.1, Jan, p.105-13. 2008.

Petersen, M. B. e Willems, P. J. Non-syndromic, autosomal-recessive deafness. Clin. Genet., v.69, n.5, May, p.371-92. 2006.

Pfeilsticker, L. N.; Stole, G.; Sartorato, E. L., *et al.* A investigação genética na surdez hereditária não-sindrômica. Rev. Bras. Otorrinolaringol., v.70, n.2, p.182-186. 2004.

Piatto, V. B.; Bertollo, E. M. G.; Sartorato, E. L., *et al.* Prevalence of the GJB2 mutations and the del(GJB6-D13S1830) mutation in Brazilian patients with deafness. Hear. Res., v.196, n.1-2, Oct, p.87-93. 2004.

Piatto, V. B.; Nascimento, E. C. T.; Alexandrino, F., *et al.* Genética molecular da deficiência auditiva não-sindrômica. Rev. Bras. Otorrinolaringol., v.71, n.2, p.216-223. 2005.

Puig, T.; Muncio, A.; Meda, C. Universal neonatal hearing screening versus selective screening as part of the management of childhood deafness. Cochrane Database Syst. Rev., n.2, p.CD003731. 2005.

Ratisoontorn, C. e Cunningham, M. L. Saethre-Chotzen Syndrome. GeneReviews at GeneTests: Medical Genetics Information Resource (database online). Seattle: University of Washington. 2005. Disponível em: <http://www.genetests.org>. Acesso em: 01/08/2007.

Read, A. P. Hereditary deafness: lessons for developmental studies and genetic diagnosis. Eur. J. Pediatr., v.159 Suppl 3, Dec, p.S232-5. 2000.

Robin, N. H. e Falk, M. J. FGFR-Related Craniosynostosis Syndromes. GeneReviews at GeneTests: Medical Genetics Information Resource (database online). Seattle: University of Washington. 2006. Disponível em: <http://www.genetests.org>. Acesso em: 31/07/2007.

Schopflocher, D.; Corabian, P.; Eng, K., *et al.* The use of the automated auditory brainstem response and otoacoustic emissions tests for newborn hearing screening. Institute of Health Economics. Alberta, Canada: Feb, p.1-100. 2007. Disponível em: [http://www.ihe.ca/documents/IHE\\_Report\\_Screening\\_Newborns\\_for\\_Hearing\\_Feb\\_2007.pdf](http://www.ihe.ca/documents/IHE_Report_Screening_Newborns_for_Hearing_Feb_2007.pdf). Acesso em: 01/12/2008.

Shevell, M.; Ashwal, S.; Donley, D., *et al.* Practice parameter: evaluation of the child with global developmental delay: report of the Quality Standards Subcommittee of the American Academy of Neurology and The Practice Committee of the Child Neurology Society. Neurology, v.60, n.3, Feb 11, p.367-80. 2003.

Silva, E. J.; Llerena, J. C., Jr.; Cardoso, M. H. Estudo seccional descritivo de crianças com deficiência auditiva atendidas no Instituto Nacional de Educação de Surdos, Rio de Janeiro, Brasil. Cad. Saúde Pública, v.23, n.3, Mar, p.627-36. 2007.

Silva, L. P. A.; Queiros, F.; Lima, I. Fatores etiológicos da deficiência auditiva em crianças e adolescentes de um centro de referência APADA em Salvador-BA. Rev. Bras. Otorrinolaringol., v.72, n.1, p.33-6. 2006.

Smith, R. J. H. e Van Camp, G. Nonsyndromic Hearing Loss and Deafness, DFNB1. GeneReviews at GeneTests: Medical Genetics Information Resource (database online). Seattle: University of Washington. 2005. Disponível em: <http://www.genetests.org>. Acesso em: 21/04/2008.

\_\_\_\_\_. Deafness and Hereditary Hearing Loss Overview GeneReviews at GeneTests: Medical Genetics Information Resource (database online). Seattle: University of Washington. 2007. Disponível em: <http://www.genetests.org>. Acesso em: 13/04/2008.

Stachon, A.; Assumpcao, F. B., Jr.; Raskin, S. Rett syndrome: clinical and molecular characterization of two Brazilian patients. Arq. Neuropsiquiatr., v.65, n.1, Mar, p.36-40. 2007.

Thompson, D. C.; McPhillips, H.; Davis, R. L., *et al.* Universal newborn hearing screening: summary of evidence. JAMA, v.286, n.16, Oct 24-31, p.2000-10. 2001.

Trappe, R.; Laccone, F.; Cobilanschi, J., *et al.* MECP2 mutations in sporadic cases of Rett syndrome are almost exclusively of paternal origin. Am. J. Hum. Genet., v.68, n.5, May, p.1093-101. 2001.

van Camp, G. e Smith, R. Hereditary Hearing Loss Homepage: University of Antwerp. 2008. Disponível em: <http://webh01.ua.ac.be/hhh/>. Acesso em: 01/12/2008.

van der Maarel, S. M.; Frants, R. R.; Padberg, G. W. Facioscapulohumeral muscular dystrophy. Biochim. Biophys. Acta, v.1772, n.2, Feb, p.186-94. 2007.

Weaving, L. S.; Ellaway, C. J.; Gecz, J., *et al.* Rett syndrome: clinical review and genetic update. J. Med. Genet., v.42, n.1, Jan, p.1-7. 2005.

Webb, T. e Latif, F. Rett syndrome and the MECP2 gene. J. Med. Genet., v.38, n.4, Apr, p.217-23. 2001.

Wijmenga, C.; Sandkuijl, L. A.; Moerer, P., *et al.* Genetic linkage map of facioscapulohumeral muscular dystrophy and five polymorphic loci on chromosome 4q35-qter. Am. J. Hum. Genet., v.51, n.2, Aug, p.411-5. 1992.

Wilkie, A. O.; Bochukova, E. G.; Hansen, R. M., *et al.* Clinical dividends from the molecular genetic diagnosis of craniosynostosis. Am. J. Med. Genet. A., v.143, n.16, Aug 15, p.1941-9. 2007.

Williamson, S. L. e Christodoulou, J. Rett syndrome: new clinical and molecular insights. Eur. J. Hum. Genet., v.14, n.8, Aug, p.896-903. 2006.

Zatz, M.; Marie, S. K.; Cerqueira, A., *et al.* The facioscapulohumeral muscular dystrophy (FSHD1) gene affects males more severely and more frequently than females. Am. J. Med. Genet., v.77, n.2, May 1, p.155-61. 1998.

Zatz, M.; Marie, S. K.; Passos-Bueno, M. R., *et al.* High proportion of new mutations and possible anticipation in Brazilian facioscapulohumeral muscular dystrophy families. Am. J. Hum. Genet., v.56, n.1, Jan, p.99-105. 1995.