

---

# Correlação das mutações nos genes *FGF* e *TWIST1* nas síndromes de apert, crouzon e pfeiffer – revisão de literatura

## Correlation of mutations in *FGF* and *TWIST1* gene in syndromes of apert, crouzon and pfeiffer – literature review

Keren Bastos Valezi<sup>1</sup>;  
Rodrigo Gonçalves Queizi<sup>2</sup>

### RESUMO

As síndromes de Apert, Crouzon e Pfeiffer são craniossinostoses síndrômicas onde ocorre uma anormalidade do desenvolvimento do crânio, devido a uma fusão prematura das suturas cranianas, ocasionando anomalias craniofaciais, também são fenótipos presentes nessas síndromes a sindactilia em membros superiores e inferiores. As síndromes possuem herança autossômica dominante, devido a mutações no gene *FGF*, conhecido como fator de crescimento de fibroblasto e também no gene *TWIST1* no caso da síndrome de Crouzon. O

objetivo do presente trabalho foi realizar uma revisão de literatura sobre as síndromes de Apert, Crouzon e Pfeiffer, enfocando as mutações presentes nos genes e a correlação com o fenótipo de cada doença. Para o desenvolvimento desse trabalho foi utilizado artigos científicos e livros que abordam o tema craniossinostoses. Concluímos com esse estudo que muito se avançou sobre a etiologia dessas síndromes genéticas, o que auxilia o profissional em um diagnóstico diferencial, além de permitir estudos que possam melhorar a qualidade de vida de cada indivíduo portador, sendo de fundamental

1. Graduanda do curso de Biomedicina das Faculdades Integradas de Bauru
2. Docente do curso de Biomedicina das Faculdades Integradas de Bauru

importância quando ocorrer a suspeita de uma dessas craniossinostoses, seja encaminhado ao médico geneticista para um adequado acompanhamento.

**Palavras Chave:** Craniossinostose, mutação missense, estudo genético.

## ABSTRACT

Syndromes Apert, Crouzon and Pfeiffer is a syndromic craniosynostosis is an abnormality where the skull development occurs due to premature fusion of the cranial sutures, causing craniofacial anomalies are also present in these phenotypes syndactyly syndromes in upper and lower limbs. Syndromes have autosomal dominant inheritance due to mutations in *FGF* gene, known as fibroblast growth factor gene and also in the case of *TWIST1* Crouzon syndrome. The aim of this study was to review the literature on the Apert, Crouzon and Pfeiffer, focusing on the mutations present in the genes and the correlation with the phenotype of each disease. To develop this work was used scientific papers and text books on the topic craniosynostosis. We conclude this study with that much progress has been made on the etiology of these genetic syndromes, which assists the practitioner in a differential diagnosis, and allow studies to improve the quality of life of each person, which is paramount when suspected to occur

of these craniosynostosis, is sent to a geneticist for proper monitoring.

**Key Words:** Craniossinostoses, mutação missense, estudo genético.

## INTRODUÇÃO

A genética humana e médica teve seu início no século XX, onde diversos autores perceberam que as leis mendelianas eram capazes de explicar a ocorrência de certos transtornos congênitos ou adquiridos em indivíduos de diversas famílias. Ela passou de uma subespecialidade preocupada com transtornos raros para uma especialidade média reconhecida, seus conceitos e abordagens constituem componentes importantes para o diagnóstico diferencial e específico de cada doença, e conseqüentemente seu tratamento ou aplicações clínicas para que o indivíduo possa ter uma boa qualidade de vida (1).

O estudo genético não aborda apenas o paciente em questão, e sim, sua família como um todo, onde uma história familiar abrangente é a etapa inicial importante na análise de qualquer doença. Uma boa coleta do histórico familiar pode ser crucial para o diagnóstico, podendo verificar se o transtorno é hereditário, além de fornecer informações da história da doença, variação de sua expressão gênica (1).

Nos últimos anos, o projeto Genoma Humano forneceu a sequência completa do DNA humano, onde tornou possível a identificação de todos os genes, podendo determinar o grau da variação gênica presente, identificando os processos, mutações e susceptibilidade para doenças de caráter genético, além de estimar riscos para outros membros da família. (1).

Dentre as doenças genéticas conhecidas, a craniossinostose é ocasionada por mutações gênicas, causando anormalidade no crescimento do crânio ocorrendo à fusão prematura das suturas cranianas sendo que a velocidade do desenvolvimento do cérebro não é compatível com o desenvolvimento da caixa craniana, podendo ocorrer tanto no período pré-natal como pós-natal. (2, 3). Entre as craniossinostoses mais conhecidas, podemos citar as síndromes de Apert, Pfeiffer e Crouzon.

A etiologia dessas síndromes são mutações encontradas no gene *FGF*, conhecido como fator de crescimento de fibroblastos. Esse gene induz sinais por meio de uma classe de receptores com domínio tirosina quinase, conhecidos como *FGFR*, importante para o desenvolvimento esquelético. Outro gene envolvido com o surgimento das craniossinostoses, é o *TWIST1*, conhecido como *twist family bHLH transcription factor 1*, responsável pela síndrome de Crouzon (4,5).

## SÍNDROME DE APERT

A síndrome de Apert compreende uma má formação craniofacial caracterizada por acrocefalia e sindactilia de mãos e pés com fusão distal completa e uma tendência da fusão das estruturas ósseas (6). Ela pode ocorrer a cada 1:160.000 nascimentos, apresentando uma herança de caráter autossômico dominante, onde ocorre mutações específicas no gene *FGFR2*. (7) A idade avançada paterna pode ser um fator para o desenvolvimento da síndrome. O risco de ocorrência para pais que não apresentam a síndrome é abaixo, enquanto que pais portadores das mutações tem cerca de 50% de chance para transmitir o alelo mutante ao filho (figura 1) (8).

## SÍNDROME DE PFEIFFER

A síndrome de Pfeiffer apresenta uma herança autossômica dominante, estudos moleculares comprovaram que a origem das diferentes mutações presentes, vem da idade paterna avançada (9), podendo ocorrer a cada 1:100.000 crianças nascidas vivas (10).

A síndrome é constituída por três subtipos clínicos onde o tipo 1 é caracterizado como a forma clássica da síndrome, onde consiste em uma deficiência do terço médio da face, dedos

e pés largos, também apresentando a sindactilia. O tipo 2 é classificado como crânio em formato de trevo, juntamente com a anquilose dos cotovelos. (Figura 3) O tipo 3 apresenta por proptose ocular grave, possuindo a base do crânio mais curta. A morte precoce ocorre na síndrome de Pfeiffer no subtipo 3 devido ao grave comprometimento neurológico e respiratórios (11).

## SÍNDROME DE CROUZON

A síndrome de Crouzon é uma síndrome que pode ocorrer a cada 1:100.000 e 1:500.000 crianças nascidas vivas, variando de acordo com a literatura, sem apresentar diferença entre sexos (12).

A herança é autossômica dominante, a literatura demonstra que podem ocorrer mutações *de novo*, não sendo herdada de nenhum dos pais. (13).

A síndrome de Crouzon apresenta uma taxa de transmissão de 100% pelos pais que possuem a síndrome, tendo uma expressão fenotípica altamente variável (14, 15,16), sendo responsável por 4,8% de todos os casos de craniossinostose, onde a síndrome de Crouzon ocorre em maior proporção. (17,18). A síndrome consiste em fusões prematuras de uma ou mais suturas, ocorrendo uma hipoplasia da face média, órbitas rasas, resultando em uma proptose ocular

e anormalidades do sistema nervoso (Figura 2) As deformidades nas mãos e dos pés são ausentes. (3, 19).

O objetivo do presente trabalho foi realizar uma revisão literária sobre as síndromes de Apert, Crouzon e Pfeiffer, enfocando as mutações presentes nos genes e a correlação entre os fenótipo de cada doença para auxiliar os profissionais num possível diagnóstico diferencial para cada síndrome.

## METODOLOGIA

Estudo de revisão utilizando artigos periódicos baseados nos mecanismos mutacionais presentes das regiões cromossômicas do gene FGF, na qual ocasiona as síndromes de Apert, Crouzon e Pfeiffer, enfocando também o gene TWIST1, utilizando os bancos de dados: PUBMED, LILACS, BIREME, SCIELO, OMIM e Livros de Genética Médica das Faculdades Integradas de Bauru, no período de agosto de 2013 a setembro de 2014.

## RESULTADOS

**Tabela 1** - Correlação das craniossinostoses e as mutações presentes nos respectivos genes

Craniossinostoses Sindrômicas.	Genes	Mutações
Síndrome de Apert	<i>FGFR2</i>	p.252Trp.; p.Pro253Ag.; P.252E; S2551; A3145S e ac.1119-2 A>G.
Síndrome de Crouzon	<i>FGFR2</i> , <i>FGFR3</i> e <i>TWIST1</i> .	Y105C; S267P; F276V; C342W; C342Y; Trp.290-to-Arg; Trp. 290-to Gly. P250 R e substituição da adenina por guanina na porção C340 resultando na troca os aminoácidos asparagina por aspartato na posição 144 da proteína.
Síndrome de Pfeiffer	<i>FGFR1</i> e <i>FGFR2</i>	W290C e Y340H; W290R e Y340H; P252R e transversão de C e G no exon 5 do gene <i>FGFR1</i> , prevendo então uma substituição da prolina em arginina no domínio extracelular.

**Tabela 2.** Proporção da frequência de mutações nos genes *FGFRs* e a relação com os fenótipos das Craniossinostose

Fenótipo	Genes		
	<i>FGFR1</i>	<i>FGFR2</i>	<i>FGFR3</i>
Síndrome de Crouzon		100%	
Síndrome de Crouzon com acantose nigricans (AN)			100%
Síndrome de Apert		100%	
Síndrome de Pfeiffer tipo 1	5%	95%	
Síndrome de Pfeiffer tipo 2		100%	
Síndrome de Pfeiffer tipo 3		100%	



Figura 1 - Paciente com síndrome de Apert. Fonte: YEH, 2011



Figura 2 - Paciente com síndrome de Crouzon. Fonte: <http://giemsanotserology.cascadiat.net/wp-content/uploads/2010/06/crouzon.jpg>



Figura 3 - Paciente com os subtipos da Síndrome de Pfeiffer. Fonte: <http://www.thecraniofacialcenter.org/images/pfeiffer.jpg>

## DISCUSSÃO

As síndromes de Apert, Crouzon e Pfeiffer são síndromes que fazem parte do grupo de craniossinostose sindrômicas. As craniossinostoses sindrômicas são conhecidas por afetar o comprometimento das suturas cranianas, deformidades faciais, sindactilia e outros fatores que geram as características fenotípicas exclusivas de cada síndrome, o que difere das craniossinostoses não sindrômicas, onde afeta apenas as suturas cranianas (3,20).

Para a ocorrência das síndromes, é preciso várias mutações em genes específicos, produzindo um padrão de herança autossômica dominante(3). Um tipo de mutação, denominada mutação *missense*, ocorre alteração em um ou vários pares de base, provocando a substituição de um aminoácido por outro diferente, podendo ocasionar mudança na estrutura ou na função das proteínas (21).

As síndromes são correlacionadas pelas mutações presentes no gene *FGF*, onde são 18 glicoproteínas presentes nos mamíferos cujo peso molecular apresenta um intervalo de 17-34 kDa (unidade de massa atômica) (22). Essas glicoproteínas são encontrados na matriz celular, importante no desenvolvimento embrionário, como proliferação, migração e diferenciação celular, enquanto nos adultos, sua

função é reparo de tecidos na ocorrência de lesões, e também nos processos homeostáticos (22,23).

A família de genes *FGF* é constituída por genes que codificam receptores tirosina quinase na qual exercem as funções biológicas estimuladas pelo gene *FGF*. Esses genes são conhecidos como *FGFR1*, *FGFR2*, *FGFR3*, *FGFR4* e *FGFR5*, encontrado nos mamíferos. Dentre esses receptores, o *FGFR1*, *FGFR2* e *FGFR3* são os principais genes da família *FGF*, onde acontecem as mutações nas síndromes de Apert, Crouzon e Pfeiffer (24).

Os genes *FGFR1* e *FGFR2* são os mais afetados por mutações que ocorrem em indivíduos com craniossinostoses, embora também já tenha sido descritas mutações no gene *FGFR3*. A expressão alterada desse gene, afeta o desenvolvimento das suturas cranianas, sendo que a maioria das mutações nas síndromes ocorrem em seu terceiro domínio Ig extracelular e regiões formado por três alças parecidas com a imunoglobulina, sendo conhecido como *immunoglobulin like domains* IgI, IgII e IgIII, mantidos por ligações de pontes de dissulfeto e domínios transmembrânicos com 22 aminoácidos e dois domínios tirosina quinase citoplasmático (22).

Os genes *FGFR1-FGFR4* são ativados através das vias de ligações, por apresentarem um complexo formados

por FGF-FGFR-HSGAG em um dímero simétrico. Os ligantes presentes nesse dímero se liga aos receptores nas alças dos domínios IgII e IgIII (tirosina quinase dos *FGFR*), e os receptores que se ligam diretamente na base do IgII (25, 26).

As vias de ligações são conhecidas como via da PLC, via da PCK, via das RAS-MPK, via da PL3K-Akt onde então ocorre o processo de ativação do gene *FGF* e os receptores *FGFR* (27, 28, 29)

As mutações podem ocorrer em um ou mais de um gene, como podemos demonstrar na síndrome de Apert, onde sua etiologia é devido por mutações apenas no gene *FGFR2*, enquanto que na Síndrome de Crouzon, ocorrem nos genes *FGFR2* e *FGFR3*, embora estudos relatam uma possível ocorrência no gene *FGFR4*, e por fim, a síndrome de Pfeiffer os genes *FGFR2* e o *FGFR3* possuem mutação (Tabelas 1 e 2).

Na Síndrome de Crouzon, além das mutações encontradas nos receptores de crescimento dos fibroblastos, elas podem ser decorrentes de alterações sobre outro gene, denominados como *TWIST1*. Esse gene é conhecido também pela presença de mutações que são responsáveis pela Síndrome de Saethre-Chotzen.

O gene *TWIST1* é também conhecido na literatura como “*twist family bHLH transcription factor 1*” e fornece instruções onde as proteínas desempenham seus papéis

no desenvolvimento humano, sendo um fator de transcrição onde ocorrem ligações específicas no DNA. O *TWIST1* faz parte de uma gama de proteínas chamada bHLH, que auxilia o desenvolvimento embrionário de vários órgãos e tecidos. Esse gene se torna imprescindível para as células que dão origem aos ossos, músculos e tecidos da cabeça, além de estudos demonstrarem que o *TWIST1* pode regular genes que auxiliam na formação dos ossos, como o *FGFR2* (5, 30, 31)

A síndrome Saethre-Chotzen apresenta braquiocéfalia ou acrocefalia com sinostose da sutura coronais e pacientes que não apresentam variações nos membros são classificados como síndrome de Crouzon (32). Os estudos relataram que as chances de ocorrências de mutações acontecerem nas regiões cromossômicas 7p21.1 do gene *TWIST1* na síndrome de Crouzon, são menores do que na Síndrome de Saethre-Chotzen (13, 3).

Na síndrome de Apert, existe uma correlação de aproximadamente 99% dos casos relatados de mutações no gene *FGFR2*. Duas dessas mutações acontecem no *éxon 7* do gene *FGFR2*, mais precisamente na sua região cromossômica 10q26. Elas são conhecidas como c.755C-> G ocasionado pela substituição p.252Trp e c.758c-> resultando em p.Pro253Ag (3), acontecendo nas regiões IgII e IgIII

do domínio de ligação tirosina quinase do receptor *FGFR2*. Outras mutações já foram relatadas em estudos no decorrer dos anos, onde foi encontrada uma troca de dois nucleotídeos denominados 7556\_756CG>T, uma substituição que resultou em p.252F (33).

Métodos foram desenvolvidos para quantificar substituições no nucleotídeo 755 no gene *FGFR2*, onde essas substituições também possuíam mutações no códon 252 em amostras de espermatozoides (34). Essa substituição foi observada na presença da mutação 755C->G em pais não afetados de crianças com a síndrome de Apert (35).

Outros estudos realizados junto a um grupo de pesquisas genéticas envolvendo craniossinostose, na Universidade de São Paulo, e demonstraram a presença de uma nova mutação presente na síndrome de Apert, conhecida como ac.1119-2 A>G no gene *FGFR2*, antes encontrada apenas na síndrome de Pfeiffer (36).

A proteína *FGFR2* apresenta duas isoformas principais que são expressas especificadamente em tecido de origem epitelial (*FGFR2IIIa*) e outra que se expressa em tecido de origem mesenquimal (*FGFR2IIIC*). Cada isoforma são expressas corretamente nos seus tecidos de origem, exceto na síndrome de Apert onde devido às mutações P. Pro253Ag e p.Ser252Trp, sofrem alterações nas suas funções.(37).

Um dos procedimentos cirúrgicos dessa síndrome é a cirurgia de avanço craniofacial, onde há a correção da retrusão da face, e foi observado que após essa cirurgia, ocasionou uma fibrose temporomandibular em um paciente, onde os estudos realizados determinaram que a etiologia foi a presença da mutação c.1119-2 A>G no gene *FGFR2*. Essa mutação ocasionou uma maior presença da isoforma epitelial pela mutação e a presença de colágeno, que é o principal marcador do início de uma transição epitélio mesenquimal, onde induz as células epiteliais e mesenquimais através de estímulos a sofrerem atividades migratórias, explicando então a fibrose ocorrida nos tecidos craniofaciais (38).

Essa ocorrência poderia ser explicada pela presença da mutação, como outros fatores cirúrgicos envolvidos. A relevância dessa mutação é que permite futuros estudos da fibrogênese de pacientes com síndrome de Apert, podendo ter um melhor controle cirúrgico para evitar complicações com antifibrinolíticos entre outros métodos (37).

As mutações presentes na síndrome de Crouzon foram observadas nos receptores *FGFR2*, *FGFR3*, observando uma correlação deste com a síndrome de Crouzon com acantose nigricans, e também no gene *TWIST1*. Cerca de 50 mutações são encontradas no *FGFR2*, onde são ocasionadas pela mutação

*missense*, ou seja, troca de nucleotídeos na cadeia do gene. As mesmas mutações que são encontradas na síndrome de Crouzon podem ser correlacionadas com a síndrome de Pfeiffer, sendo elas classificadas como Y105C, S267P, F276V, C342W, C342Y (22, 16).

No gene *TWIST1*, localizado na região cromossômica 7p21, foi observada a substituição da adenina por guanina na porção c.340, resultando na troca dos aminoácidos asparagina por aspartato na posição 144 da proteína. Essa mutação é responsável pela braquiocéfalia, hipoplasia e sindactilia cutânea (3)

A mutação conhecida como P250R, é encontrada no receptor *FGFR3*, localizado na região 4p16.3, é responsável pela fusão precoce das suturas coronais, hipoplasia da face, proptose ocular e sindactilia das mãos e dos pés. Além dessas mutações, ocorre a substituição do Trp.290-to-Arg, onde é achado em casos mais clássicos da Síndrome de Crouzon, enquanto que Trp290-to-Gly, acontece nas formas clínicas mais raras da síndrome (3).

Estudos realizados em modelos animais relataram que a mutação C342Y presente no gene *FGFR2*, na síndrome de Crouzon, em conjunto com as mutações denominadas A391, L424A, B426Acis, resulta na atenuação das vias de sinalização/ativação do *FGFR2*, onde impede a fusão prematura das suturas

cranianas, sendo também demonstrado que em culturas de órgãos com inibidor *FGFR*, ocorre o mesmo efeito (39).

Experimentos realizados por inserção retroviral em camundongos levou a identificação de um fenótipo parecido com o de Crouzon com implantação do *FGFR4* em crânios de camundongos neonatais, onde ocasionou o fechamento das suturas cranianas, em decorrência do aumento da proliferação e diferenciação dos osteoblastos, provenientes do tecido ósseo, o que indica uma possível mutação no gene *FGFR4* para a síndrome de Crouzon (13).

As mutações na síndrome de Pfeiffer ocorrem na proteína codificada pelo gene *FGFR1* e *FGFR2*, embora foi também demonstrado que essas mutações possam ocorrer em outros genes (22), também ocasionadas por troca de aminoácidos. As mutações presentes são conhecidas como p.Ser351cys, p.Trp290cys, p.Cys342Arg, responsáveis pelo comprometimento visceral presente nos pacientes (40).

Mutações foram observadas devido transverso de C e G no éxon 5 do gene *FGFR1*, localizado na região cromossômica 8p11-2.p11.1, causando a substituição da prolina em arginina no domínio extracelular de pacientes afetados. Outra mutação, conhecida como P252R, no gene *FGFR1*, apresentou a malformação características dos pés

em casos onde a craniosinostose é moderada (41).

Foi classificada também uma transversão G para C no exon III no gene *FGFR2*, em pacientes com a síndrome de Pfeiffer, onde resulta em uma troca de aminoácidos conhecida como Trp-to-Cys ou também denominada T290C, onde corresponde aos casos de síndrome de Pfeiffer do tipo 2, antes sendo uma mutação observada somente na síndrome de Crouzon (42)

A presença da mutação D321A na proteína *FGFR2*, ocasionou um aumento com ligação na isoforma *FGFR2IIIc* expressa nas suturas cranianas, chegando a conclusão que um aumento na expressão de *FGFR2IIIc*, podem resultar em uma craniossinostoses (35).

Mutações observadas em procedimentos realizados em modelos animais, onde duas mutações no gene *FGFR2* criam resíduos da cisteína, sendo elas W290C e Y340H, que causavam formas graves da síndrome de Pfeiffer. Enquanto que convertendo esses resíduos para outros aminoácidos, sendo eles respectivamente W290R e Y340H resultou no fenótipo de Crouzon (33).

As síndromes de Apert, Crouzon e Pfeiffer são um grupo de síndromes que não possuem tratamentos não cirúrgicos. Portanto, inúmeros estudos vem sendo desenvolvidos a fim de proporcionar tratamentos que não sejam necessárias intervenções cirúrgica

e os resultados estão próximos de uma possível prevenção.

Dentre esses estudos, foi desenvolvido experimentos onde induziram a mutação S252W em camundongos, através de uma metodologia Cre-LoxP, criando um bloqueio da sequência do gene pLoxpneo no intron 6 do gene *FGFR2*, onde a mutação passou para linhagem germinativa (43).

Com isso, foi realizado o cruzamento entre camundongos portadores da mutação S252W no gene *FGFR2* com camundongos transgênicos conhecidos como Ella-cre. Os ratinhos nascidos apresentaram as anomalias encontradas em indivíduos com síndrome de Apert (44).

Foi observado uma correlação com as vias de ativação do gene *FGF*, conhecida como MEK-ERK que é importante na diferenciação, proliferação e diferenciação dos receptores do gene *FGF*. Neste procedimento, utilizaram uma metodologia, onde induziu um inibidor farmacológico U0126 em camundongos portadores da síndrome de Apert após o cruzamento, onde a intenção foi inibir a MERL-ERK, sobre o gene *FGFR2* com a mutação S252W, bloqueando a diferenciação (45, 46).

Com isso, os resultados foram diversos, onde camundongos nasceram normais, demonstrando que o tratamento U0126 reprimia com sucesso

as anormalidades que ocorriam no desenvolvimento embrionário, como também camundongos que nasceram com anormalidade, tentando induzir novamente a metodologia U0126, embora o tratamento neste período de tempo pode ser tarde demais para um impacto sobre fenótipos já desenvolvidos, ocasionando a morte como também outras deficiências (44)

## CONCLUSÕES/ CONSIDERAÇÕES FINAIS

As síndromes de Apert, Crouzon e Pfeiffer são craniossinostoses sindrômica de etiologia complexa devido a variedade de mutações presentes em 5 diferentes genes. Embora a etiologia dessas síndromes seja bastante heterogênea, nos últimos anos com o avanço das técnicas de biologia molecular aplicada a genética humana e médica muito se sabe sobre essas síndromes podendo assim, realizar o diagnóstico e o aconselhamento genético de qualidade. Os trabalhos apresentado nesse estudo mostraram que os principais genes envolvidos nas craniossinostoses são os genes *FGFR1*, *FGFR2*, *FGFR3* e *TWIST1*.

O estudo das três síndromes ainda é constante, pela descoberta de novas mutações de acordo com o desenvolvimento de novas tecnologias, o que auxilia profissional num melhor diagnóstico diferencial, além de

permitir estudos que possam melhorar a qualidade de vida de cada indivíduo portador, sendo de fundamental importância quando ocorrer a suspeita de uma dessas craniossinostoses, seja encaminhada ao médico geneticista para um adequado acompanhamento.

## REFERÊNCIAS

01. McInnes, Roderick, Nussbaum, Robert L, Willard, Huntington F. Thompson&Thompson: Genética Médica. Rio de Janeiro: Elsevier, 2000.
02. Fitzpatrick, DR. Filling in the gaps in cranial suture biology. *Nature Genetics*. 2013 Mar;45(3):231-2
03. COHEN, JR. Crouzon Syndrome. *Inborn Errors of Development: The molecular basics of clinical disorders of morphogenesis*. New York Oxford University Press. (1):361-365, 2004.
04. Moerlooze L., Spencer-Dene B, Revest JM., Hajihosseini M., Rosewell I., Dickson C. An important role for the IIIb isoforms of fibroblast growth factor receptor 2 in mesenchymal-epithelial signalling during mouse organogenesis. *Development*. 2000 Feb;127(3):483-92.
05. Gripp KW, Zackai EH, Stolle CA. Mutations in the human TWIST gene. *Human mutation*. 2000;15(2):150-5.
06. Apert, M. E. De l'acrocephalosyndactylie. *Bulletin de la Société des médecins et hôpitaux de Paris*. 1906 23(1): 1310-1330.

07. Neville B, Damm, D, Allen C. Patologia oral e maxilofacial. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1998.
08. Longhi, I, Silva SO. Síndrome de Apert. Revista Faculdade de Odontologia. 2012 Jan;7(1):55-60.
09. Glaser RL, Jiang W. Paternal origin of FGFR2 mutations in sporadic cases of n syndrome and Pfeiffer syndrome. American journal of human genetics. 2000 Mar;66(3):768-77.
10. Roldan-Arce J, Villarroel C. Síndrome de Pfeiffer tipo 2. Informe de um caso y revisión de la literatura. Acta Pediátrica de México 2013 Ago;34(1):43-47
11. Cohen Jr. M. M. Pfeiffer syndrome update, clinical subtypes, and guidelines for differential diagnosis. American journal of medical genetics. 1993 Feb; 1-45(3):300-7.
12. Carinci F, Pezzetti F, Locci P, Becchetti E, Carls F, Avantiaggiato A. et al. Apert and Crouzon Syndromes: Clinical Findings, Genes and Extracellular Matrix. J The Journal of craniofacial surgery. 2005 May;16(3):361-8.
13. Oliveira NA, Passos-Bueno MR. Estudo molecular das craniossinostoses síndrômicas: Crouzon, Pfeiffer e Saerthre-Chotzen. [Tese de Doutorado]. São Paulo: Universidade de São Paulo. Instituto de Biociências, 2006. 104p.
14. Pfeiffer Syndrome [Internet]. OMIM: Johns Hopkins University National Library of Medicine (US); 1986 - [citado em 2014 Jul 10]. Disponível em: <http://www.omim.org/entry/101600?search=Pfeiffer%20Syndrome&highlight=syndrome%20pfeiffer>
15. Moyen G, Mbika, C. Forme congénitale de la maladie de Crouzon. Archives de pédiatrie. 2006 Ap 13(4):397-398.
16. Romiti R, Aguiar C, OLIVEIR Z, et al. Acantose nigricante associada à síndrome de Crouzon: relato de caso. Anais Brasileiros de Dermatologia. 1996 Feb; 71(4):77-78.
17. Silva DL, Neto FXP, Carneiro SG, Palbeta ACP, Monteiro M, Cunba SC. Síndrome de Crouzon: Revisão de literatura. Arquivo Internacional de Otorrinolaringologia. 2008 Fev;12(3):436-441.
18. Laybauer, A, Goldenber, M. Síndromes: Uma perspectiva audiológica. [ Teste de Mestrado] Porto Alegre: Centro de Especialização de Fonoaudiologia Clínica. Audiologia Clínica. 1999. 75p.
19. Baroni T, Lilli C, Marinucci L, Bellocchio S, Pezzetti F, Carinci F, et al. Crouzon's syndrome: differential in vitro secretion of bFGF, TFG beta I isoforms and extracellular matrix macromolecules in patient with FGFR2 gene mutation. Cytokine. 2002 Jul 21;19(2):94-10.
20. Warren SM, Longaker MT. The pathogenesis of craniosynostosis in the fetus. Yonsei medical journal. 2001 Dec;42(6):646-59.

21. Stone, A. E. ; Sidow, E. Physicochemical constraint violation by missense substitutions mediates impairment of protein function and disease severity. *Genome Research*. 2005 Jul;15(7):978-86.
22. Yeh E, Passos-Bueno M.R. Estudo da contribuição molecular e celular do periósteo na craniossinostose da Síndrome de Apert. [Tese de Doutorado] São Paulo: Universidade de São Paulo. Instituto de Biociências, 2011. 55p.
23. Ornitz D, Nouyuki I. Protein family review: Fibroblasts Growth Factor *Genome Biology*. 2001 Mar;2(3):11:12
24. Wiedemann M, Trueb B. Characterization of a novel protein (FGFRL1) from human cartilage related to FGF receptors. *Genomics*. Oct 15;69(2):275-9.
25. Schlessinger J, Plotnikov AN, Ibrahimi OA, Eliseenkova AV, Yeh BK, et al. Crystal structure of a ternary FGF-FGFR-heparin complex reveals a dual role for heparin in FGFR binding and dimerization. *Molecular cell*. 2000 Sep;6(3):743-50.
26. Ibrahimi OA, Yeh BK, Eliseenkova AV, Zhang F, Olsen SK, et al. Analysis of mutations in fibroblast growth factor and a pathogenic mutation in FGF receptor provides direct evidence for the symmetric two-end model for FGFR dimerization. *Molecular and cellular biology*. 2005 Jan;25(2):671-84.
27. Mohammadi M, Olsen SK, Ibrahimi OA. Structural basis for fibroblast growth factor receptor activation. *Cytokine Growth Factor Review* 2005 Apr;16(2):107-37.
28. Thisse B, Thisse C. Functions and regulations of fibroblasts growth factor signaling during embryonic development. *Developmental biology*. 2005 Nov 15;287(2):390-402.
29. Miraoui H, Marie PJ. Fibroblasts growth factor receptor signaling crosstalk in skeletogenesis *Science signaling*. 2010 Nov; 2(3):146-150.
30. Cai, J, Jabs EW. A twisted hand: bHLH protein phosphorylation and dimerization regulate limb development. *BioEssays : news and reviews in molecular, cellular and developmental biology*, 2005 Nov;27(11):1102-6.
31. Seto ML, Hing AV, Chang J, Hu M, Kapp-Simon KA, Patel PK, et al. Isolated sagittal and coronal craniosynostosis associated with TWIST1 box mutations. *American journal of medical genetics.*, 2007 Apr 1;143A(7):678-86.
32. Bourgeois P, Bolcato-Bellemin AL, Danse JM, Bloch-Zupan A, Yoshida K, Stoetzel C, et al. The variable expressivity and incomplete penetrance of the twist-mull heterozygous mouse phenotype resemble those of human Saethre-Chotzen syndrome. *Human Molecular Genetic* 1998 Jun;7(6):945-57.
33. Lajeunie E, Heuertz S, El Ghouzzi V, Martinovic J, Renier D, Le Merrer M, et al. Mutation screening in patients with

- syndromic craniosynostoses indicates that a limited number of recurrent *FGFR2* mutations accounts for severe forms of Pfeiffer syndrome. *European journal of human genetics* . 2006 Mar;14(3):289-98.
34. Goriely A<sup>1</sup>, McVean GA, Røjmyr M, Ingemarsson B, Wilkie AO. Evidence for selective advantage of pathogenic *FGFR2* mutations in the male germ line. *Science* 2003 Aug 1;301(5633):643-6.
35. Ibrahimi OA, Zhang F, Eliseenkova AV, Itoh N, Linhardt RJ, et al. Biochemical analysis of pathogenic ligand-dependent *FGFR2* mutations suggests distinct pathophysiological mechanisms for craniofacial and limb abnormalities. *Human molecular genetics*. 2004 Oct 1;13(19):2313-24.
36. Passos-Bueno MR, Sertié AL, Zatz M, Richieri-Costa A. et al. Pfeiffer mutation in an Apert patient: how wide is the spectrum of variability due to mutations in the *FGFR2* gene. *American journal of medical genetics*. 1997 Aug 8;71(2):243-5.
37. Passos-Bueno MR, Yeh E, Asso LT, Kobayashi, GS, Bastos EO, Alonso, N. Complicações cirúrgicas em pacientes com Síndrome de Apert podem estar relacionadas com o tipo da mutação do paciente. *Revista Brasileira de Cirurgia Craniomaxilofacial*, 2011 Jun;14(2): 97-101
38. Strutz F, Zeisberg M, Ziyadeh FN, Yang CQ, Kalluri R, Müller GA, et al. Role of basic fibroblast growth factor-2 in epithelial-mesenchymal transformation. *Kidney International* 2002 May;61(5):1714-28.
39. Eswarakumar VP, Ozcan F, Lew ED, Bae JH, Tomé F, Booth CJ, et al. Attenuation of signaling pathways stimulated by pathologically activated *FGF*-receptor 2 mutants prevents craniosynostosis. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 2006 Dec 5;103(49):18603-18608.
40. WILKIE, A. O. Bad bones, absent smell, selfish tests: the pleiotropic consequences of human *FGF* receptor mutations. *Cytokine Growth Factors Review* 2005 Apr;16(2):187-203.
41. Muenke M, Schell U, Hehr A, Robin NH, Losken HW, Schinzel A, et al. A common mutation in the fibroblast growth factor receptor 1 gene in Pfeiffer syndrome. *Nature Genetics* 1994 Nov;8(3):269-74.
42. Tartaglia M, Valeri S, Velardi F, Di Rocco C, Battaglia PA, et al. Trp290Cys mutation in exon IIIa of the fibroblast growth factor receptor 2 (*FGFR2*) gene is associated with Pfeiffer syndrome. *Human Genetics* 1997 May;99(5):602-6.
43. Chen L, Li D, Li C, Engel A, Deng CX. Ser252Trp substitution in mouse fibroblast growth factor receptor 2 (*Fgfr2*) results in craniosynostosis. *Bone*. 2003 Aug;33(2):169-78.
44. Shukla V, Coumoul X, Wang RH, Kim HS, Deng CX.. RNA interference and inhibition of MEK-ERK signaling prevent abnormal skeletal phenotypes in a mouse model of craniosynostosis. *Natural genetics*. 2007 Sep;39(9):1145-50

45. Favata MF, Horiuchi KY, Manos EJ, Daulerio AJ, Stradley DA, Feeser WS, et al. Identification of a novel inhibitor of mitogen-activated protein kinase. *The journal of Biological Chemistry*. 1998 Jul 17;273(29):18623-18632.

46. Rubinfeld H, Seger R. The ERK cascade: a prototype of MAPK signaling. *Molecular biotechnology*. 2005 Oct;31(2):151-74.