

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
HOSPITAL DE REABILITAÇÃO DE ANOMALIAS CRANIOFACIAIS

CAMILA WENCESLAU ALVAREZ

**Fissura pré-forame incisivo uni/bilateral e fissura pós-forame
incisivo associadas: estudo genético-clínico.**

Bauru
2010

Livros Grátis

<http://www.livrosgratis.com.br>

Milhares de livros grátis para download.

CAMILA WENCESLAU ALVAREZ

Fissura pré-forame incisivo uni/bilateral e fissura pós-forame incisivo associadas: estudo genético-clínico.

Dissertação apresentada ao Hospital de Reabilitação de Anomalias Craniofaciais da Universidade de São Paulo para obtenção do título de Mestre em Ciências da Reabilitação.

Área de concentração: Fissuras Orofaciais e Anomalias Relacionadas.

Orientadora: Profa. Dra. Maria Leine Guion de Almeida

Bauru
2010

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
HOSPITAL DE REABILITAÇÃO DE ANOMALIAS CRANIOFACIAIS

Rua Silvio Marchione, 3-20
Vila Universitária, Bauru-SP
CEP 17012-900
(14) 3235-8000

Prof. Dr. João Grandino Rodas (Reitor da USP)

Prof. Dr. José Alberto de Souza Freitas (Superintendente do HRAC-USP)

Autorizo, exclusivamente para fins acadêmicos e científicos, a
reprodução total ou parcial deste trabalho.

CAMILA WENCESLAU ALVAREZ

A86f Alvarez, Camila Wenceslau
Fissura pré-forame incisivo uni/bilateral e fissura
pós-forame incisivo associadas: estudo genético-clínico /
Camila Wenceslau Alvarez. Bauru, 2010.
120f. : il. ; 30cm.

Dissertação (Mestrado – Área de concentração: Fissuras
Orofaciais e Anomalias relacionadas) – HRAC-USP

Orientadora: Profa. Dra. Maria Leine Guion-Almeida

1. Fissura labial
2. Fissura palatina
3. Microformas de fissura
4. Embriologia
5. Etiologia

FOLHA DE APROVAÇÃO

Camila Wenceslau Alvarez

Dissertação apresentada ao Hospital de Reabilitação de Anomalias Craniofaciais da Universidade de São Paulo para obtenção do título de Mestre.

Área de concentração: Fissuras Orofaciais e Anomalias Relacionadas.

Aprovado em: ____/____/____.

Banca examinadora

Prof. Dr. _____

Instituição: _____ Assinatura: _____

Prof. Dr. _____

Instituição: _____ Assinatura: _____

Profa. Dra. Maria Leine Guion de Almeida (orientadora)
HRAC-USP

Profa. Dra. Inge Elly Kiemle Trindade
Presidente da Comissão de Pós-Graduação, HRAC-USP

Data de depósito da dissertação junto à SPG: ____/____/____.

DEDICATÓRIA

Aos meus pais, Antonio e Fátima, por me trazerem à vida e pelos incontáveis exemplos que me fizeram ser o que sou e o que penso hoje. Pela dedicação sem medidas de minha mãe, cuja existência sempre se fez de lutas incansáveis contra as duras adversidades de sua realidade. Essa força é o referencial de minhas atitudes e me impulsiona a evoluir cotidianamente. Ao meu pai, cujo carinho e orgulho dirigidos a mim são grandes incentivadores em meu dia a dia.

Às minhas queridíssimas sobrinhas Nathalia, Giulia e Letícia, que me fizeram querer ser uma pessoa melhor.

Ao meu amado Rodrigo, pela paciência com que acompanhou todas as dificuldades neste caminho e que, com sua dedicação incansável, conseguiu transformar dias difíceis em dias felizes.

AGRADECIMENTOS

À Dra. Maria Leine Guion de Almeida, pela impecável orientação, pelo enorme comprometimento com o trabalho, pela presença constante e pela dedicação e respeito dirigidos a mim e a todos os seus demais alunos.

Ao Dr. Antonio Richieri da Costa, mentor deste trabalho, cuja contribuição intelectual foi indispensável desde a ideia inicial até as considerações finais.

Ao Prof. Dr. José Alberto de Souza Freitas, por incentivar meus estudos desde o início e, principalmente, por viabilizar esta Instituição.

A toda a equipe da Seção de Genética Clínica do HRAC-USP, pela contribuição nos atendimentos aos pacientes, na pesquisa bibliográfica e nos esclarecimentos de inúmeras dúvidas.

Aos pacientes, pelo entusiasmo e confiança na pesquisa científica realizada no HRAC-USP.

Ao amigo Rubens Matias Rodrigues, pela constante disposição em ajudar, sempre com bom-humor e simpatia.

Ao Prof. José Roberto Pereira Lauris, pela realização dos testes estatísticos deste trabalho e pela paciência com as inúmeras dúvidas levantadas.

À Andréia Cristina da Silva, Rogério da Silveira e Maria José Bento Lopes, funcionários da Secretaria de Pós-Graduação do HRAC-USP, sempre prestativos e competentes em suas atividades que tanto auxiliam alunos e docentes.

Às profissionais da equipe do Serviço de Informática Hospitalar do HRAC-USP, Márcia Tessaroli Giancristófarro e Rosemari Frediane Motta, pelo auxílio no levantamento desta amostra e pelas listas semanais de pacientes agendados.

Aos funcionários da Seção de Arquivo de Prontuários e da Seção de Recepção e Registro do HRAC-USP, pela indispensável ajuda com os prontuários dos pacientes, sempre prestativos e eficientes, que muito auxiliou na coleta de dados deste trabalho.

À Ana Regina Carvalho, funcionária da Seção de Documentação e Informação do HRAC-USP, pela paciência com que recebeu dezenas de pedidos de levantamento bibliográfico, e pela rapidez com que os realizou. E à Maristela Coelho, também funcionária desta Seção, pelo auxílio no levantamento de registros fotográficos.

A todos os colegas do Serviço de Comunicação do HRAC-USP, em especial à Marisa Romagnolli, pela amizade e pelo incentivo à realização deste trabalho e à Elaine de Sousa, pela revisão ortográfica.

Aos colegas das turmas de mestrado e doutorado, que fizeram estes anos de trabalho mais alegres.

RESUMO

Alvarez, CW. Fissura pré-forame incisivo uni/bilateral e fissura pós-forame incisivo associadas: estudo genético-clínico [Dissertação]. Bauru: Hospital de Reabilitação de Anomalias Craniofaciais, Universidade de São Paulo; 2010.

Objetivo: Contribuir para a ampliação do conhecimento das fissuras orais, descrevendo, sob o aspecto genético-clínico, uma amostra de indivíduos com fissura pré-forame incisivo uni/bilateral incompleta e fissura pós-forame incisivo associadas.

Casuística e metodologia: Foram selecionados 356 indivíduos com fissura pré-forame incisivo uni/bilateral incompleta, sem acometimento do arco alveolar, associada à fissura pós-forame incisivo, cadastrados e em tratamento no Hospital de Reabilitação de Anomalias Craniofaciais da Universidade de São Paulo, Bauru, SP. Dados de razão sexual, idade parental na época da concepção, consanguinidade parental, recorrência familiar, lateralidade da fissura e presença de anomalias associadas à fissura foram investigados. Para análise dos resultados foram destacados dois grupos (Grupos I e Grupo II) da amostra total. No Grupo I foram incluídos os indivíduos que apresentaram fissura pré-forame incisivo cicatricial, independentemente do tipo de acometimento pós-forame. Indivíduos do Grupo I, que, além de apresentarem fissura pré-forame incisivo cicatricial apresentaram também algum tipo de microforma de fissura pós-forame incisivo, foram destacados para formarem também o Grupo II. Testes estatísticos de comparação foram realizados entre os Grupos e o restante da amostra e entre a amostra total e dados da literatura pertinente. **Resultados e Discussão:** Observou-se diferença estatisticamente significativa entre a amostra total e os dados da literatura em relação à lateralidade da fissura, razão sexual, consanguinidade, recorrência familiar

e presença de anomalias associadas. Observou-se, ainda, diferença estatisticamente significativa entre o Grupo II e o restante da amostra total quanto à idade paterna e, entre os Grupos I e II e a amostra total, em relação à ocorrência de múltiplas anomalias associadas à fissura. A amostra estudada apresentou, em geral, as mesmas características genético-clínicas do grupo das fissuras pré e transforame incisivo (FL/P). As diferenças encontradas não permitiram afirmar a distinção da fissura pré-forame associada à fissura pós-forame incisivo, sem acometimento do arco alveolar (FL+FP) das FL/P. Da mesma forma não foi possível afirmar, pelos resultados obtidos, que os Grupos I e II eram distintos da amostra total. **Conclusão:** Embora não se possa afirmar que FL+FP seja distinta das FL/P, suas características peculiares apontam para essa diferenciação. Os indivíduos com quadros de microformas de fissura constituem um grupo alvo de investigações sobre possíveis mecanismos genéticos que levam à gravidade variável dessas malformações.

Descritores: fissura labial, fissura palatina, microformas de fissura, embriologia, etiologia.

ABSTRACT

Alvarez, CW. Cleft lip uni/bilateral and cleft palate associated: a clinical and genetic study [Dissertation]. Bauru: Hospital de Reabilitação de Anomalias Craniofaciais, Universidade de São Paulo; 2010.

Purpose: To contribute to the expansion of knowledge about oral clefts, describing the clinical and genetic aspect of a sample of individuals with cleft lip associated with cleft palate, without alveolar arch involvement, showing or not other abnormalities.

Patients and methods: We selected 356 patients with incomplete cleft lip uni/bilateral associated with cleft palate, without alveolar arch involvement, registered and in treatment at the Hospital de Reabilitação de Anomalias Craniofaciais da Universidade de São Paulo, Bauru, SP. Data for sexual ratio, parental age at the time of conception, parental consanguinity, familial recurrence, laterality of cleft and presence of associated anomalies were investigated. Regarding the analysis of the results two groups were detached (Group I and Group II) from the total sample. In Group I it was included individuals who had healed cleft lip, regardless of the type of palate involvement. Individuals in Group I, which, besides having had healed cleft lip also had some type of microform cleft palate were also detached to form Group II. Statistical tests were performed for comparison between groups and remainder of the sample, and between the total sample and literature data. **Results and Discussion:** There was a statistically significant difference between the total sample and literature data regarding laterality of the cleft, sexual ratio, consanguinity, familial recurrence and presence of associated anomalies. There was also a statistically significant difference between Group II and the remainder of the sample regarding paternal age, and between Groups I and II and the total sample in relation to the occurrence of

multiple anomalies associated with cleft. The sample has, in general, the same genetic and clinical characteristics of the group of cleft lip with or without cleft palate (CL/P). The differences did not allow distinction between cleft lip associated cleft palate without involvement of the alveolar arch (CL+CP) and CL/P. Likewise it is not possible to affirm, from the results obtained, that Groups I and II are distinct from the total sample. **Conclusion:** Although we can not say that CL+CP is distinct from the CL/P, its peculiar features indicate to this differentiation. Individuals with microforms of cleft constitute a target group for research on possible genetic mechanisms that lead to varying severity of these malformations.

Key words: cleft lip, cleft palate, microforms of cleft, embryology, etiology.

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1.** Coração e estomódeo de embrião humano entre o 22º e o 23º dia de gestação (<http://embryology.med.unsw.edu.au/>) 33
- Figura 2.** Primórdios faciais em embrião de camundongo (http://www.med.unc.edu/embryo_images)34
- Figura 3.** Microscopia eletrônica de varredura da região facial de embriões humanos, de 33 dias, ilustrando o padrão de expressão gênica descrita em camundongos (Sperber GH, Sperber SM e Guttman, 2010) 37
- Figura 4.** Embriões de sete, oito e nove semanas (de cima a baixo, respectivamente) ilustrando a elevação e fusão das placas palatinas (Sperber GH, Sperber SM e Guttman 2010)39
- Figura 5.** Fusão dos processos palatinos em feto humano na nona semana de gestação (http://www.med.unc.edu/embryo_images) 39
- Figura 6.** Padrão de expressão gênica durante a fusão palatina de embriões de camundongos (Sperber GH, Sperber SM e Guttman, 2010) 40
- Figura 7.** Indivíduos com fissura pré-forame e pós-forame incisivo associadas, sem comprometimento do arco alveolar, incluídos na amostra total deste estudo71
- Figura 8.** Indivíduos com fissura pré-forame incisivo cicatricial e fissura pós-forame incisivo associadas, sem comprometimento do arco alveolar, incluídos no Grupo I 72
- Figura 9.** Indivíduos com fissura pré-forame incisivo cicatricial e microforma de fissura pós-forame incisivo associadas, sem comprometimento do arco alveolar, incluídos no Grupo II73

LISTA DE QUADROS

Quadro 1. Tipos de fissuras orais segundo a classificação de Spina et al (1972), modificada por Silva-Filho et al (1992)	42
---	----

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Fissura de lábio associada à fissura de palato em 28.745 indivíduos cadastrados no HRAC-USP, segundo Silva-Filho; Souza-Freitas; Okada (2000)	50
Tabela 2. Tipos de fissura pré e pós-forame incisivo na amostra total	69
Tabela 3. Tipos de fissura pré e pós-forame incisivo no Grupo I	72
Tabela 4. Tipos de fissura pré e pós-forame incisivo no Grupo II	73
Tabela 5. Lateralidade da fissura pré-forame incisivo na amostra	74
Tabela 6. Lateralidade da fissura segundo dados da literatura	74
Tabela 7. Distribuição da amostra quanto à fissura pós-forame incisivo	75
Tabela 8. Distribuição da amostra quanto ao gênero	75
Tabela 9. Razão sexual em trabalhos na literatura	76
Tabela 10. Média da idade parental na época da concepção, na amostra ...	77
Tabela 11. Média da idade parental na época da concepção, segundo dados da literatura	77
Tabela 12. Consanguinidade parental na amostra	77
Tabela 13. Consanguinidade parental segundo dados da literatura	78
Tabela 14. Recorrência familiar na amostra	78
Tabela 15. Recorrência familiar segundo dados da literatura	78
Tabela 16. Exposição a agentes químicos/físicos durante o período gestacional, na amostra	79

Tabela 17. Distribuição da amostra quanto à ocorrência de múltiplas anomalias (síndrome, sequência ou associação)	80
Tabela 18. Múltiplas anomalias associadas à fissura, segundo dados da literatura	80
Tabela 19. Quadros com múltiplas anomalias na amostra	81
Tabela 20. Distribuição da amostra quanto à ocorrência de anomalias associadas	82
Tabela 21. Ocorrência de anomalias associadas à fissura isolada, segundo dados da literatura	82
Tabela 22. Anomalias associadas à fissura, nos indivíduos estudados	83

LISTA DE SIGLAS

USP	Universidade de São Paulo
HRAC	Hospital de Reabilitação de Anomalias Craniofaciais
FL	Fissura de lábio (pré-forame incisivo)
FP	Fissura de palato (pós-forame incisivo)
FLP	Fissura de lábio e palato (transforame incisivo)
FL/P	Fissura de lábio com ou sem fissura de palato
FL+FP	Fissura de lábio e fissura de palato associadas
MAC	Múltiplas anomalias congênitas

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	25
2	REVISÃO DE LITERATURA	31
2.1	Desenvolvimento orofacial	33
2.2	Fissuras orais	41
2.2.1	Classificação das fissuras orais	41
2.2.2	Epidemiologia das fissuras orais	43
2.2.3	Etiologia das fissuras orais	45
2.2.3.1	Fatores genéticos	45
2.2.3.2	Fatores ambientais	46
2.2.4	Fissuras orais e anomalias associadas	47
2.2.5	Fissuras pré-forame e pós-forame incisivo associadas	48
2.2.6	Microformas de fissuras orais	51
2.3	A pele e o processo de cicatrização embrionária e fetal	53
3	OBJETIVOS	57
4	CASUÍSTICA E METODOLOGIA	61
4.1	Casuística	63
4.2	Metodologia	63
4.3	Análise dos resultados	65
5	RESULTADOS	67
6	DISCUSSÃO	85
7	CONCLUSÕES	97
8	REFERÊNCIAS	101
	ANEXOS	115

introdução

1 Introdução

O desenvolvimento craniofacial ocorre como consequência de interações complexas entre tecidos embrionários, requerendo regulação precisa de migração, crescimento, padronização e diferenciação celular (Cobourne 2000, Trainor e Krumlauf 2001 e Wilkie e Morriss-Kay 2001).

Com a ampliação do conhecimento, principalmente na área da biologia molecular, sabe-se, atualmente, que o desenvolvimento craniofacial normal é controlado por interação complexa de diversos genes que se expressam durante a embriogênese, os quais incluem fatores de transcrição (Família *MSX*, *DLX*, *BAR*, complexo-*HOX*), fatores de crescimento e seus receptores (*TGF*, *BMP*, *GDF*, *EGF*, *FGF*, *IGF*, *PDGF*) e genes que codificam moléculas sinalizadoras, tais como *SHH* e *GLI* (Cobourne 2000, Trainor e Krumlauf 2001 e Ten Cate 2003). Atividades indutivas e sinalizadoras desses genes coordenam o crescimento do primórdio facial a partir de proeminências mesenquimais indiferenciadas até um mosaico de estruturas ósseas e cartilaginosas que, em conjunto com músculos e outros tecidos, constituirão o arcabouço definitivo da face.

A desregulação nessa rede sinalizadora resulta em desenvolvimento anormal dos arcos faríngeos e/ou da formação, migração e diferenciação das células da crista neural, além do desenvolvimento e fusão dos primórdios faciais, levando a anomalias craniofaciais diversas (Cobourne 2000 e Trainor e Krumlauf 2001).

As malformações craniofaciais representam cerca de dois terços das anomalias congênitas e podem ocorrer de forma isolada ou, ainda, como parte de diversos quadros sindrômicos que se distribuem dentro de um universo clínico e etiológico variável (gênicas, cromossômicas e ambientais), podendo representar

casos esporádicos ou com padrão de recorrência (Trainor e Krumlauf 2001 e Wilkie e Morriss-Kay 2001).

As fissuras orais estão entre as malformações craniofaciais mais frequentes e também podem ocorrer isoladamente ou como achados fenotípicos de síndromes (Gorlin, Cohen e Hennekam 2001). As fissuras orais não sindrômicas compreendem as fissuras de lábio (FL) com ou sem fissura de palato (FL/P) e a fissura de palato (FP), também designadas como pré, trans e pós-forame incisivo, respectivamente, segundo a classificação de Spina et al (1972). Essas malformações representam um importante problema de saúde pública, uma vez que os indivíduos podem apresentar dificuldades respiratórias e alimentares neonatais, problemas de fala e audição, alterações na dentição, entre outros (Jugessur, Farlie e Kilpatrick 2009).

Pela gravidade variável, complexidade e diversidade morfológica das fissuras orais, diferentes classificações foram propostas com a finalidade de padronizar seu diagnóstico e o protocolo de tratamento (Kriens 1990 e Tolarová e Cervenka 1998). Em relação à diversidade morfológica dessas malformações, observa-se a ocorrência das chamadas “microformas de fissura”. Dentre estas destacam-se as fissuras cicatriciais de lábio e/ou pequenos defeitos de arco alveolar (Castilla e Martínez-Frías 1995 e Carstens 2000). Outra microforma comum de fissura orofacial é a alteração de úvula (bífida ou sulcada), considerada uma microforma de fissura de palato, uma vez que resulta de um evento de não fusão de tecidos embriológicos (Shapiro et al, 1971). Essa microforma de fissura palatina representa um dos principais sinais clínicos para o diagnóstico da fissura de palato submucosa e, quando isolada, pode ser subestimada pela ausência de comprometimento estético e funcional. A fissura de palato submucosa, por sua vez, é considerada uma forma subclínica ou microforma de fissura, decorrente de um defeito na musculatura do

palato mole e/ou no tecido ósseo do palato duro que se mantém velado pela camada mucosa íntegra (Saal 2002 e Silva-Filho e Souza-Freitas 2007).

Dentro do universo das fissuras orais, destaca-se um quadro clínico onde há associação de fissura pré e pós-forame incisivo (FL+FP) com preservação do rebordo alveolar. Segundo a literatura pertinente, a etiologia das fissuras orais é complexa e devido às estruturas embriológicas envolvidas na gênese do lábio e do palato, a etiologia da FL/P é considerada distinta da FP (Fogh-Andersen 1942, Mitchell et al 2002 e Mossey e Little 2002). De forma geral, os estudos epidemiológicos e genéticos não contemplam, especificamente, a ocorrência de fissura de lábio e de palato com preservação do rebordo alveolar. Os mecanismos envolvidos na preservação alveolar frente à ocorrência de fissura de lábio e palato são, ainda, pouco conhecidos já que a formação da maxila é complexa e depende do desenvolvimento e fusão de diversos primórdios faciais e, conseqüentemente, da expressão temporal e espacial de inúmeros genes (Ferguson, Tucker e Sharpe 2000 e Sperber GH, Sperber SM e Guttman 2010).

O Hospital de Reabilitação de Anomalias Craniofaciais, HRAC-USP, Bauru, SP, é especializado no tratamento multidisciplinar de pacientes com anomalias craniofaciais. Desenvolvendo seu trabalho há mais de 40 anos, registrava, no ano de 2009, quase 50.000 indivíduos matriculados com fissuras labiopalatinas e anomalias associadas, além dos mais de 25.000 com deficiência auditiva. Levantamento junto ao banco de dados do Serviço de Informática Hospitalar da Instituição mostrou que cerca de 25% desses pacientes apresentaram fissura pré-forame incisivo; 25%, pós-forame; 42%, transforame e cerca de 5% dos pacientes apresentaram fissura pré e pós-forame incisivo associadas (FL+FP), segundo a classificação adotada pelo Hospital - Spina et al (1972), modificada por Silva-Filho et al (1992). Os 3% restantes

referem-se às fissuras medianas e atípicas. Dos indivíduos com FL+FP matriculados, cerca de 65% ainda se encontravam em tratamento no Hospital, dos quais cerca de 24% não apresentaram acometimento do arco alveolar, e constituíram a amostra para este estudo.

Considerando que não está plenamente estabelecido se há diferença etiológica entre FL+FP sem comprometimento alveolar e os tipos de fissura hoje conhecidos, propõe-se estudar, do ponto de vista genético-clínico, uma amostra de indivíduos com este quadro clínico, com a finalidade de contribuir na definição desse tipo de fissura quanto à sua distinção, ou não, em relação à fissura que compromete o alvéolo.

revisão de literatura

2 Revisão de literatura

2.1 Desenvolvimento orofacial

Nas primeiras semanas de vida intrauterina, o embrião humano consiste em um disco que se dobra ventralmente e seu desenvolvimento orofacial é primeiramente demarcado pelo aparecimento da placa precordial, um espessamento na região cranial do disco embrionário, no 14º dia pós-concepção (Sperber 2002, 2010). Conforme a região do encéfalo se desenvolve, o coração se posiciona abaixo dele (Figura 1), o que dá origem a uma cavidade na linha média, entre o encéfalo e o coração, designada *estomódeo* onde se localizará a cavidade bucal (Avery, 2001).

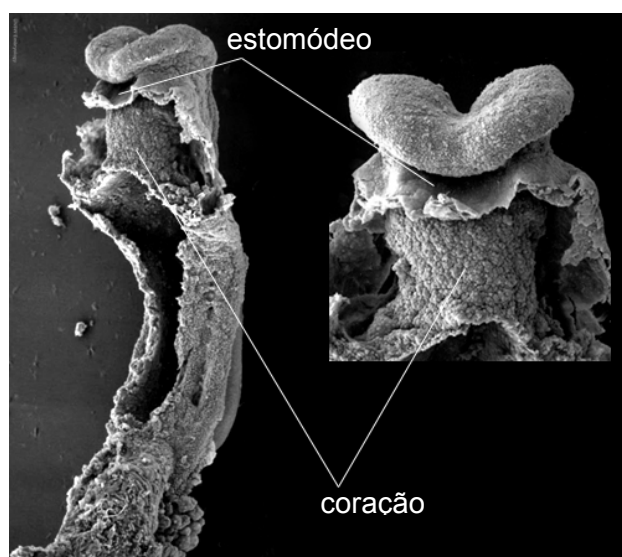


Figura 1. Coração e estomódeo de embrião humano entre o 22º e o 23º dia de gestação (<http://embryology.med.unsw.edu.au/>)

O mesênquima do primórdio facial origina-se das células da crista neural (ectoderma), que migram e diferenciam-se a partir dos vértices das pregas neurais, antes da formação do tubo neural (Sperber, 2002). Com a migração e proliferação das células ectomesenquimais (células da crista neural combinadas com as células mesodérmicas) diferenciam-se, a partir da quarta semana de vida, cinco primórdios faciais (Figura 2): a *proeminência frontal* (mais tarde denominada *frontonasal*), o par

de *proeminências maxilares* e o par de *proeminências mandibulares* (Ten Cate 1998, Avery 2001, Berkovitz 2004 e Nie, Luukko e Kettunen 2006).

O primeiro par de arcos faríngeos, denominado arco mandibular, localizado no limite inferior do estomódeo, forma as *proeminências mandibulares*, as quais são as primeiras a se fusionar para dar origem à mandíbula e ao lábio inferior, bem como o rebordo alveolar inferior e os dentes que nele crescerão. Desta forma, estas estruturas ficam pouco tempo suscetíveis à ação de teratógenos, razão pela qual as fissuras de lábio inferior são raras (Moore e Persaud, 1998). No final da quarta semana, na região inferolateral da *proeminência frontonasal*, desenvolvem-se os *placóides nasais* e ao redor destes há uma rápida proliferação do mesênquima formando espessamentos com formato de ferradura que irão se diferenciar nas *proeminências nasais mediais e laterais* (Moore e Persaud 1998 e Ten Cate 1998).

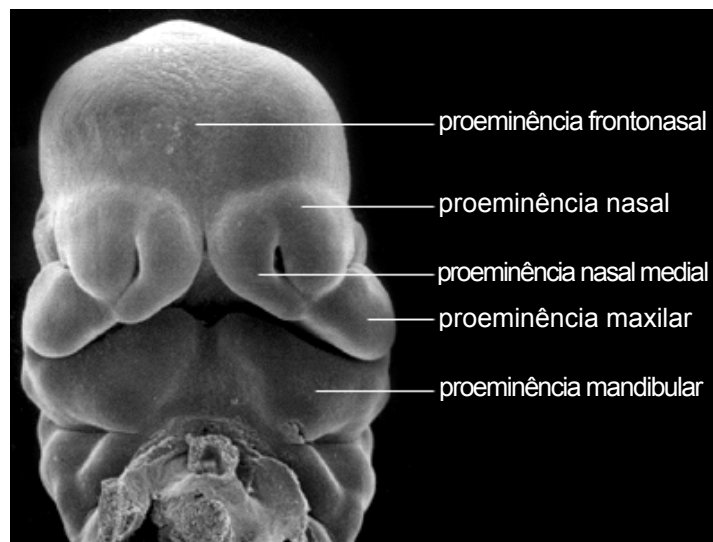


Figura 2. Primórdios faciais em embrião de camundongo (http://www.med.unc.edu/embryo_images)

As *proeminências maxilares* começam a se desenvolver e formam o limite lateral do estomódeo. Parece que essas estruturas são derivadas do primeiro arco faríngeo (Berkovitz 2004 e Sperber GH, Sperber SM e Guttman 2010), mas alguns

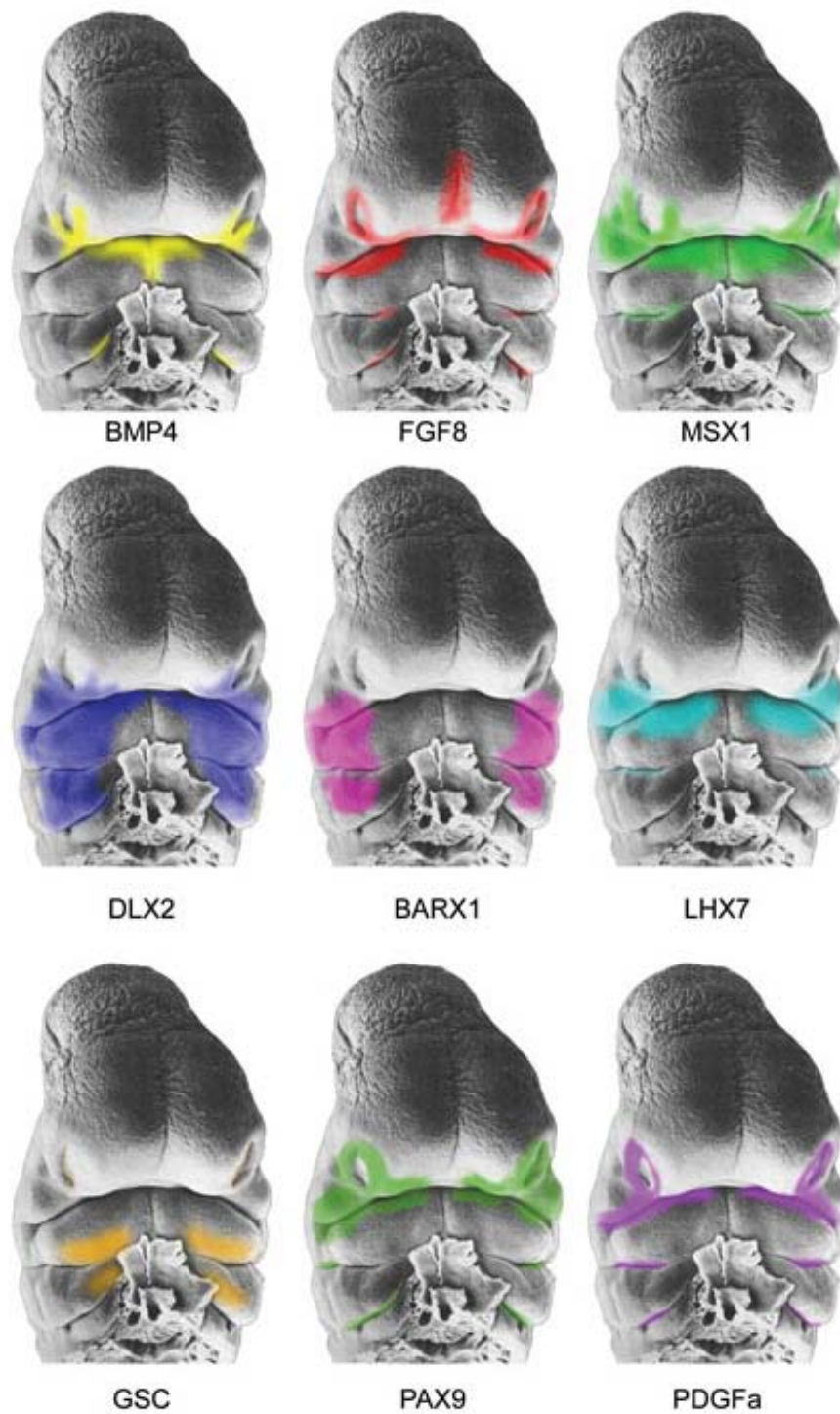
autores acreditam que as proeminências maxilares tenham desenvolvimento independente, ou seja, resultam de sinalização, diferenciação e proliferação celular única, independente da proeminência mandibular e, portanto, independente do primeiro arco faríngeo (Ferguson, Tucker e Sharpe 2000 e Lee et al 2004).

Com a proliferação do mesênquima nesta região, as proeminências maxilares se aproximam de ambas as proeminências nasais, empurrando-as até que as proeminências nasais mediais se encontram na linha média e, entre a sétima e a décima semana, fusionam-se entre si, originando um segmento intermaxilar, designado *palato primário*. Este segmento, que dará origem a estruturas localizadas anteriormente ao forame incisivo, funde-se também, neste momento, com as proeminências maxilares, as quais estarão se fundindo com as proeminências nasais laterais (Li, Dudas e Kaartinen 2008, Moore e Persaud 1998 e Ten Cate 1998). Desta forma, este evento leva à formação das estruturas da face média, que incluem o nariz, a columela nasal, o filtro e o lábio superior, bem como de toda a maxila, o rebordo alveolar superior e os dentes que nele se desenvolverão. Além disso, de acordo com Sperber GH; Sperber SM; Guttmann (2010), a fusão das proeminências nasais mediais com as proeminências maxilares prevê a continuidade da maxila e do lábio superior e a separação das fossas nasais da cavidade oral.

Durante este processo, ocorrem proliferação e espessamento do epitélio em toda a borda superior do arco mandibular, bem como na borda inferior dos processos maxilares e na face lateral dos processos nasais mediais. Esta área espessada é denominada *epitélio odontogênico* e se forma após a fusão dos processos faciais para formar uma única placa espessada de epitélio, ou seja, uma lâmina epitelial primária em forma de arco contínuo de epitélio odontogênico (Ten Cate, 1998).

Segundo Sperber GH; Sperber SM; Guttman (2010), a união das proeminências faciais se dá por dois diferentes tipos de eventos que ocorrem em regiões distintas. A fusão que ocorre nas proeminências frontonasal, maxilares e mandibulares é decorrente de migração interna e/ou proliferação do mesênquima subjacente que provoca o desaparecimento do sulco ou fissura entre eles. Enquanto que a fusão que ocorre de cada lado das proeminências nasais mediais com as maxilares e as nasais laterais, requer desintegração da superfície de contato epitelial para permitir entrelaçamento das células mesenquimais subjacentes, conseqüente proliferação celular, produção de matriz extracelular, invasão vascular etc.

Todo esse complexo processo de desenvolvimento craniofacial é dependente da ação de inúmeros genes (Figura 3), que atuam em regiões e momentos diferentes do desenvolvimento embrionário (Ferguson, Tucker e Sharpe 2000 e Sperber GH, Sperber SM e Guttman 2010).



© 2010 Geoffrey H. Sperber

Figura 3. Microscopia eletrônica de varredura da região facial de embriões humanos, de 33 dias, ilustrando o padrão de expressão gênica descrita em camundongos (Sperber GH, Sperber SM e Guttman 2010)

O palato propriamente dito é também denominado *palato secundário*, já que sua formação ocorre após o pronto estabelecimento do palato primário, entre a sétima e a oitava semana de gestação se estendendo até a décima semana, quando o feto já apresenta cerca de 4cm de comprimento. Seu desenvolvimento inicia-se a partir de duas projeções que se estendem do lado interno das proeminências maxilares – as *proeminências palatinas laterais* ou *placas palatinas* – que se projetam, no início, inferiormente de cada lado da língua e depois se alongam e ascendem a uma posição horizontal, superiormente à língua. A cavidade oral se expande, a língua descende e ocorre a elevação das placas. Gradualmente essas placas se aproximam e, entre si, fusionam-se no plano mediano (Figuras 4 e 5). Fusionam-se, também, superiormente com o septo nasal e anteriormente com o palato primário (Ten Cate 1998 e Jugessur, Farlie e Kilpatrick 2009).

A transição da posição vertical para horizontal das placas palatinas acontece em algumas horas, mas há uma considerável diferença entre os sexos neste processo. A elevação e fusão iniciam-se alguns dias mais cedo em embriões masculinos (Sperber GH, Sperber SM e Guttman 2010), o que explica a diferença na incidência da fissura de palato entre os sexos.

O desenvolvimento do palato, que inclui todos os processos de proliferação, diferenciação e fusão dos tecidos embrionários, é também regulado pela expressão espacial e temporal de diversos genes (Figura 6), alguns já identificados (Sperber GH, Sperber SM e Guttman 2010).

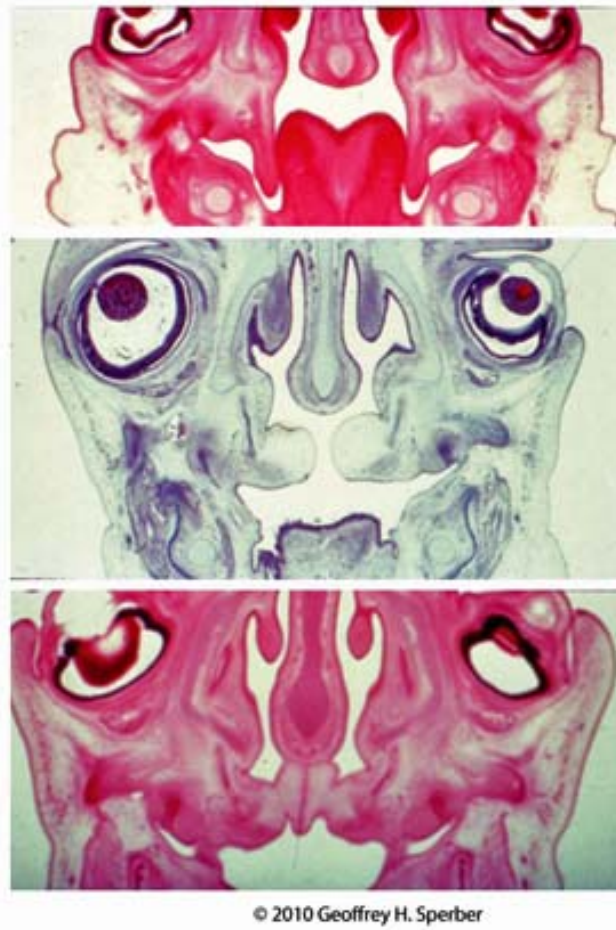


Figura 4. Embriões de sete, oito e nove semanas (de cima a baixo, respectivamente) ilustrando a elevação e fusão das placas palatinas (Sperber GH, Sperber SM e Guttman 2010)

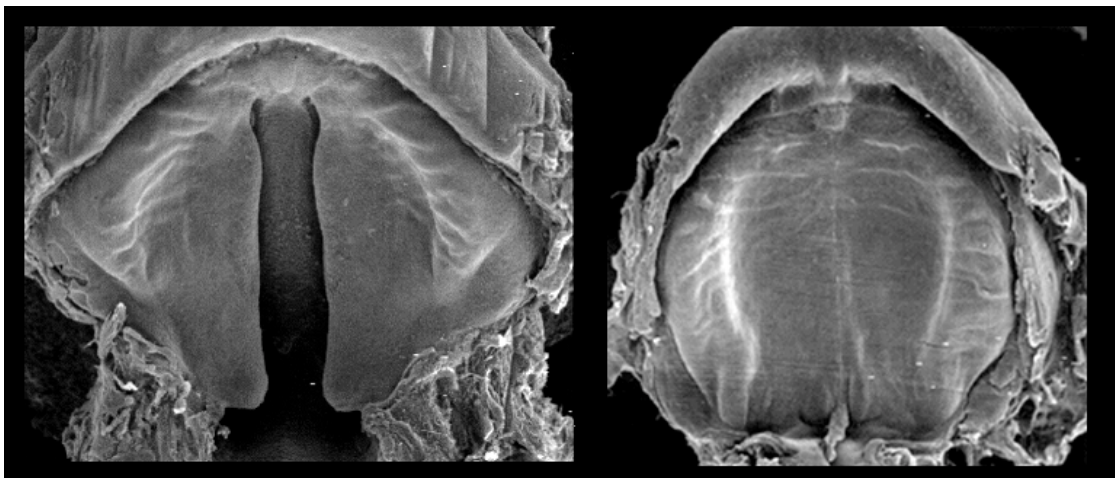


Figura 5. Fusão dos processos palatinos em feto humano, na nona semana de gestação (http://www.med.unc.edu/embryo_images)

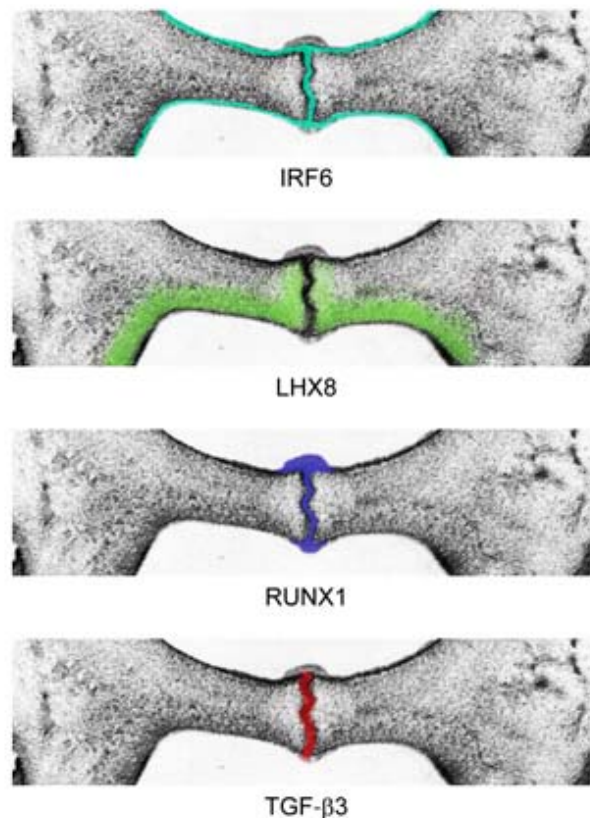


Figura 6. Padrão de expressão gênica durante a fusão palatina de embriões de camundongos (Sperber GH, Sperber SM e Guttman 2010)

O desenvolvimento e a complexa diferenciação do processo alveolar ainda são pouco conhecidos. Sabe-se que, ao contrário de outros ossos que se desenvolvem a partir de uma cartilagem preexistente (*ossificação endocondral*), o osso maxilar é desenvolvido diretamente de células mesenquimais (*ossificação intramembranosa*), e se especializa para formar a estrutura primária para o suporte da dentição (Zhang et al 2003, Cerny et al 2004 e Fleischmannova et al 2010). Modelos experimentais em aves e mamíferos sugerem que células da crista neural regulam o tamanho e formato do maxilar superior durante o desenvolvimento facial e este padrão de crescimento pode gerar a diversidade morfológica espécie-específica. Além disso, alterações discretas na organização dos padrões da expressão gênica na região da *zona ectodérmica frontonasal* poderiam ser

responsáveis pelas variações morfológicas observadas inter e entre espécies (Hu e Marcucio, 2009).

Embora a maioria dos autores considere as fissuras orais como decorrentes de defeitos de desenvolvimento e eventos de não fusão dos processos embrionários, alguns demonstraram que as fissuras palatinas podem ocorrer como fenômenos pós-fusão, ou seja, de ruptura depois que a fusão tenha ocorrido (Kitamura 1991 e Jin e Ding 2006). Remanescentes epiteliais encontrados em placas palatinas fissuradas; epitélio regenerado encontrado em fissuras palatinas de embriões humanos; epitélio imaturo visível nas margens da fissura; ductos nasopalatinos interrompidos pela fissura e fissuras que se apresentam como perfurações no palato duro foram evidências citadas por Kitamura (1991) para o fenômeno pós-fusão.

2.2 Fissuras orais

2.2.1 Classificação das fissuras orais

Diversos sistemas de classificação para as fissuras orais foram propostos, os quais tiveram como base aspectos morfológicos (Tolarová e Cervenka, 1998) e aspectos embriológicos (Kriens, 1990). O HRAC-USP, especializado no tratamento de fissuras orofaciais, tem utilizado a classificação proposta por Spina et al (1972) e modificada por Silva-Filho et al (1992). Essa classificação se baseia na evolução embriológica dos tecidos envolvidos na formação orofacial e na morfologia da face, tendo o *forame incisivo* como referência anatômica, já que simboliza o único vestígio do que separava, na vida intrauterina, o palato primário do palato secundário (Silva-Filho e Souza-Freitas, 2007). Os prefixos *pré*, *trans* e *pós-forame incisivo*, utilizados na sinonímia referem-se, respectivamente, às fissuras de lábio, comprometendo ou

não o rebordo alveolar; às fissuras de lábio e palato, comprometendo a maxila em toda a sua extensão, o palato primário e o palato secundário; e às fissuras de palato secundário. As fissuras são subclassificadas em relação à extensão em *completa* e *incompleta*, quando alcançam ou não o forame incisivo, e quanto à lateralidade em *unilateral*, *bilateral* e *mediana*. Silva-Filho et al (1992) incluíram na classificação de Spina et al (1972) as fissuras transforame medianas.

Os tipos de fissura, segundo a classificação de Spina et al (1972), modificada por Silva-Filho et al (1992), estão listados no Quadro 1.

Quadro 1. Tipos de fissuras orais segundo a classificação de Spina et al (1972), modificada por Silva-Filho et al (1992)

Grupo I	unilateral	direita completa
Fissuras pré-forame incisivo		direita incompleta
		esquerda completa
		esquerda incompleta
	bilateral	completa
		incompleta
	mediana	completa
		incompleta
Grupo II	unilateral	direita
Fissuras transforame incisivo		esquerda
	bilateral	
	mediana	
Grupo III		completa
Fissuras pós-forame incisivo		incompleta
Grupo IV		
Fissuras raras da face		

Para as fissuras do grupo I, o termo *incompleta* significa o envolvimento somente do lábio (FL) e o termo *completa*, o envolvimento do lábio e rebordo alveolar até o forame incisivo. As fissuras transforame incisivo (FLP) pertencem ao grupo II e envolvem o lábio e o palato completamente. O grupo III se refere às fissuras de palato (FP) que podem ser: completa, quando envolve o palato mole e o palato duro até o forame incisivo, ou incompleta, quando envolve somente o palato mole ou também parte do palato duro, sem alcançar o forame incisivo. As demais fissuras envolvendo crânio, olhos, nariz e cavidade oral são chamadas de *fissuras raras da face* (grupo IV), segundo Spina et al (1972), modificada por Silva-Filho et al (1992).

2.2.2 Epidemiologia das fissuras orais

De forma geral, trabalhos epidemiológicos têm mostrado diferenças na incidência e prevalência das fissuras orofaciais isoladas, conforme a etnia e distribuição geográfica estudada. Segundo Gorlin; Cohen; Hennekam (2001), a incidência da FL/P varia de 1:200 a 1:2000 nascidos vivos, dependendo do grupo étnico estudado, e, há mais meninos afetados do que meninas (2M:1F). Já a FP, grupo considerado etiologicamente distinto da FL/P, apresenta incidência de aproximadamente 1:2000 nascidos vivos, com pouca variação entre as etnias e a proporção de meninas afetadas é maior do que a de meninos (Fogh-Andersen 1971 e Gorlin, Cohen e Heenekam 2001).

O estudo realizado por Gregg et al (2008), na Irlanda do Norte, mostrou prevalência de 1,47:1000 crianças nascidas com fissura de lábio com ou sem fissura de palato, no período de 1981 a 2000. Já na Jordânia, a prevalência de fissuras, nos estudos de Al-Omari F; Al-Omari IK (2004), foi de 1,39 para cada 1000 nascidos

vivos no período de 1991 a 2001. Rajabian; Sherkat (2000) encontraram, no Irã, uma incidência de fissura de 1,03 para cada 1000 nascidos vivos. E, entre os anos de 1983 a 2000, na Austrália, foi observada a incidência de 0,78:1000 crianças nascidas com fissura facial (Vallino-Napoli, Riley e Halliday 2004).

Diferenças na incidência e prevalência são também observadas nos países da América do Sul. Estudo Colaborativo Latino-Americano para Malformações Congênitas (ECLAMC), no período de 1967 a 1981, examinando mais de 800 mil recém-nascidos em oito países da América do Sul, verificou a prevalência total de 0,87:1000 (Menegotto e Salzano, 1991). Já na Bolívia, de acordo com McLeod; Urioste; Saeed (2004), esta prevalência é de 1,23:1000, entre os nascidos vivos de 1995 a 2001. No Brasil, variações regionais em relação à incidência das fissuras e à frequência dos diferentes tipos de fissuras foram relatadas (Nagem-Filho, Moraes e Rocha 1968, Souza, Buchalla e Laurenti 1987, Loffredo et al 2001, França e Locks 2003 e Martelli-Júnior et al 2007). Contudo, admite-se que a incidência das fissuras labiopalatinas na população brasileira oscila em torno de 1:650 (1,5 para cada 1000 nascimentos). Segundo Silva-Filho e Souza-Freitas (2007), este dado é aceito uma vez que se refere ao levantamento epidemiológico realizado na cidade de Bauru-SP, no ano de 1968, e confirmado em estudos subsequentes.

Em relação ao tipo de fissura, as mais comuns são as do grupo transforame incisivo (Silva-Filho e Souza-Freitas, 2007). O lado esquerdo é duas vezes mais afetado que o direito (Al Omari F e Al Omari IK, 2004). Já as fissuras bilaterais são mais comuns em FLP do que em FL (Gregg et al, 2008).

No que diz respeito à fissura de úvula, os dados de literatura são discrepantes, provavelmente por ser um achado clínico que pode não cursar com comprometimento estético e funcional e, portanto, subestimado. Trabalhos realizados mostram frequência de, aproximadamente, 2,5% na população

caucasiana; 9,95% em japoneses; 6,8% em chineses e 0,27% em afro-americanos (Meskin, Gorlin e Isaacson 1966, Tolarová 1969 e Shapiro et al 1971).

2.2.3 Etiologia das fissuras orais

2.2.3.1 Fatores genéticos

A ocorrência de fissuras orais associadas às síndromes genéticas (cromossômicas ou gênicas) constitui uma indicação importante de que estas malformações dependem de fatores genéticos para sua manifestação. Além disso, a forte tendência familiar sugere também que o fator genético desempenha importante papel na etiologia das fissuras orofaciais (Gorlin, Cohen e Hennekam 2001, Carinci et al 2007 e Sperber GH, Sperber SM e Guttmann 2010). Por outro lado, estudos realizados em diferentes populações têm indicado modelo de *herança multifatorial* para as fissuras orofaciais, onde a manifestação clínica da malformação é resultante da interação de vários fatores genéticos e ambientais (Gorlin, Cohen e Hennekam 2001, Prescott, Winter e Malcolm 2001 e Jugessur e Murray 2005). E, ainda, estudos genéticos em populações têm demonstrado que famílias com FP isolada têm *background* genético diferente daquelas famílias com FL/P (Fogh-Andersen 1971 e Carinci et al 2007). Entretanto, a ocorrência tanto de FL/P como de FP em algumas síndromes gênicas têm indicado que um único gene poderia estar envolvido na etiologia de diferentes tipos de fissura, como na síndrome de van der Woude (OMIM 119300, 606713), causada por mutação no gene *IRF6* e caracterizada por fissura de lábio e/ou palato, fístulas de lábio inferior e agenesias dentárias. Em famílias com essa condição é observada recorrência de FL/P e/ou FP (van der Woude 1954, Cervenka, Gorlin e Anderson 1967 e Ranta e Rintala 1983) e, pela variabilidade clínica dessa síndrome, observa-se que 15% dos indivíduos afetados representam

fenocópia de fissura isolada (Jugessur et al, 2008). Esse fato tem levado os pesquisadores a considerarem que variantes do gene *IRF6*, causador desta síndrome, podem também estar envolvidos na etiologia da fissura isolada (Kondo et al 2002, Zuccherro et al 2004, Scapoli et al 2005 e Jugessur et al 2008), como apresentado em estudo recente de Jehee et al (2009), que encontraram mutação patogênica no gene *IRF6* em alguns indivíduos com fissura orofacial aparentemente isolada e com recorrência familiar.

Os avanços na área da biologia molecular têm evidenciado que a etiologia genética para as fissuras orofaciais é complexa, provavelmente heterogênea, e possivelmente decorrente da interação de efeitos de múltiplos *loci* acoplados a covariáveis ambientais (Marazita et al, 2009). Diferentes regiões cromossômicas, tais como 1q32, 2p13, 3q27-28, 4q, 6p24, 8p, 9q21, 12p11, 14q21-24, 16q24, 17q e 19q13.2, têm sido consideradas locos gênicos para fissuras orofaciais e mutações nos genes *MSX1*, *IRF6*, *PVRL1*, *TP73L*, *SUNO1*, *MTHFR*, *TGF-β3*, *FGFR1*, *TBX2*, *RARα* e *FOXE1* foram relacionadas a esta malformação (Prescott, Winter e Malcom 2001, Marçano et al 2004, Jugessur e Murray 2005, Carinci et al 2007, Riley et al 2007 e Marazita et al 2009). Segundo Jugessur e Murray (2005) mutações nos genes *IRF6*, *MSX1*, *FGFR1* são responsáveis por cerca de 15% das fissuras isoladas.

2.2.3.2 Fatores ambientais

Apesar do evidente componente genético, sugere-se que algumas anomalias craniofaciais não sejam apenas resultado da ação de genes envolvidos no desenvolvimento embriológico, mas também de perturbações ambientais ocorridas durante este período. Essa interação gene-ambiente, durante o desenvolvimento,

leva a diferentes ações de fatores ambientais, considerados de risco para as fissuras orais, em diferentes populações homogêneas devido ao seu *background* genético (Prescott, Winter e Malcom 2001, Zeiger e Beaty 2002 e Carinci et al 2007).

Estudos indicam, por exemplo, que o tabagismo durante a gestação provoca um aumento moderado do risco para as fissuras orofaciais (Little, Cardy e Munger 2004). Os aspectos nutricionais de gestantes também apresentam importante papel no desenvolvimento embrionário. Sugere-se que a baixa ingestão de vitaminas do complexo B, além de exposição excessiva ou deficiente de vitamina A, esteja associada com o aumento do risco para fissuras orais (Munger, 2002). Alguns tipos de medicamentos, como os corticóides e anticonvulsivantes, também têm sido considerados fatores ambientais de risco para essas anomalias, assim como o uso excessivo de bebidas alcoólicas durante a gestação (Carinci et al 2007 e Leite e Koifman 2009).

2.2.4 Fissuras orais e anomalias associadas

As fissuras orofaciais podem ocorrer isoladamente ou associadas a outras anomalias congênitas podendo, ou não, representar quadros de *síndromes*, de *sequência* ou *associação*. Os quadros sindrômicos são assim definidos quando apresentam um padrão de múltiplas anomalias etiológica e patogeneticamente relacionadas, sem constituir sequência ou um defeito de campo politópico. As sequências são denominadas como um padrão de múltiplas anomalias derivadas de uma anomalia primária. E a ocorrência, não ao acaso, em dois ou mais indivíduos, de múltiplas anomalias não conhecidas como um defeito de campo politópico, sequência ou síndrome é definida como uma associação. Um *defeito de campo*

politópico envolve estruturas distantes anatomicamente, mas com relação desenvolvimental (Cohen, 1997).

Trabalhos na literatura têm mostrado que cerca de 70% dos casos de FL/P e 50% dos casos de FP são isolados, ou seja, não apresentam outras anomalias física e/ou de desenvolvimento (Milerad et al 1997, Tolarová e Cervenka 1998, Stoll et al 2000, Saal 2000, 2002 e Jugessur e Murray 2005).

De acordo com recente levantamento realizado por Beriaghi et al (2009), a prevalência de anomalias associadas às fissuras orais, relatada na literatura, varia consideravelmente (de 3% a 71,1%). Os autores consideram essa discrepância decorrente, provavelmente, das diferenças nas populações estudadas, bem como na coleta de dados, método e avaliação diagnóstica.

Shprintzen et al (1985) e Beriaghi et al (2009) encontraram anomalias craniofaciais mais frequentemente associadas às fissuras orais, enquanto que Lilius (1992) encontrou uma frequência maior de anomalias de extremidades. Malformações esqueléticas, de sistema nervoso central e cardiovasculares, também foram relatadas como anomalias importantes associadas às fissuras orais (Stoll et al 2000, Calzolari et al 2007 e Beriaghi et al 2009). Além disso, Stoll et al (2000) observou que as anomalias associadas foram mais frequentes em casos de FP do que em FL e FLP.

2.2.5 Fissuras pré-forame e pós-forame incisivo associadas

Usualmente, os estudos consideram a fissura pré-forame incisivo (FL) patogenticamente similar à fissura transforame incisivo (FLP), variando apenas em gravidade (Fogh-Andersen 1942, Mitchell et al 2002 e Mossey e Little 2002). Como a maioria dos estudos não separa os dois tipos, não está clara a diferença

epidemiológica entre ambos (Christensen, 1999). Sugere-se que, do ponto de vista embriológico, um mecanismo alterando o processo de desenvolvimento do palato primário pode alterar o processo de desenvolvimento do palato secundário (Ranta e Rintala, 1984). Por outro lado, o fato de a FL envolver apenas o palato primário, enquanto que a FLP compromete o palato primário e o secundário, representa um argumento a favor da distinção entre essas fissuras. Além disso, dados recentes sugerem que as FL e as FLP podem ter diferentes aspectos genéticos e devem, quando possível, ser analisadas separadamente (Jugessur, Farlie e Kilpatrick 2009).

Conceitualmente, a FP isolada é considerada etiologicamente distinta da FL/P, tendo como base não somente os dados epidemiológicos, mas também a origem embriológica do lábio e do palato e os diferentes riscos de recorrência (Fogh-Andersen 1971, Harville et al 2005 e Carinci et al 2007). Como mostram os dados epidemiológicos em diferentes populações, a prevalência de FP é geralmente menor que a de FL/P e famílias com alto risco para um tipo de fissura não têm risco aumentado para o outro tipo, o que demonstra a origem distinta de desenvolvimento de cada tipo de fissura (Jugessur e Murray, 2005). Por outro lado, as FL/P e FP podem ocorrer dentro de uma mesma família, o que sugere alguma sobreposição na etiologia destas duas categorias de fissura. Estes casos são comumente observados na Síndrome de Van der Woude (Jugessur, Farlie e Kilpatrick 2009).

Dentro da diversidade morfológica das fissuras orofaciais, observa-se um quadro clínico particular em que há associação de fissura pré e pós-forame incisivo, sem envolvimento do arco alveolar (FL+FP). Poucos estudos da literatura abordam a ocorrência deste quadro no que se refere a dados epidemiológicos e etiológicos. É possível que, nos trabalhos epidemiológicos, esse tipo de associação esteja incluído no grupo das fissuras transforame incisivo (FLP). Segundo Saal (2002), casos incomuns de fissura de lábio com o palato primário intacto, mas com fissura do

palato secundário, são frequentemente sindrômicos. França e Locks (2003) em estudo epidemiológico com indivíduos com fissura, nascidos na cidade de Joinville, SC, no período de 1994 a 2000, encontraram frequência de 4,17% de indivíduos com fissura pré-forame e pós-forame incisivo associadas. Silva-Filho; Souza-Freitas; Okada (2000), estudando a distribuição das fissuras diagnosticadas em 28.745 indivíduos cadastrados no HRAC-USP, encontraram 1.432 indivíduos (4,97%) com essa associação de fissuras, conforme mostra a Tabela 1.

Tabela 1. Fissura de lábio associada à fissura de palato em 28.745 indivíduos cadastrados no HRAC-USP, segundo Silva-Filho; Souza-Freitas; Okada (2000).

Tipo da fissura	Frequência
pré-forame unilateral incompleta esquerda + pós-forame incompleta	1,60%
pré-forame unilateral incompleta direita + pós-forame incompleta	0,94%
pré-forame bilateral incompleta + pós-forame incompleta	0,62%
pré-forame unilateral completa esquerda + pós-forame incompleta	0,51%
pré-forame unilateral completa direita + pós-forame incompleta	0,38%
pré-forame unilateral incompleta esquerda + pós-forame completa	0,30%
pré-forame bilateral incompleta + pós-forame completa	0,27%
pré-forame unilateral incompleta direita + pós-forame completa	0,26%
pré-forame bilateral completa + pós-forame incompleta	0,09%

Ranta e Rintala (1984) observaram em seu estudo que FL e FP podem ocorrer associadas em um mesmo indivíduo. De acordo com os autores, duas hipóteses poderiam explicar a ocorrência dessas fissuras: 1) ambas as fissuras poderiam pertencer à mesma classe etiológica; 2) ocorrência de duas anomalias distintas. Para testar essas hipóteses os autores investigaram 2.471 indivíduos com fissura orofacial e, desse total, 66 casos (2,7%) apresentaram fissura de lábio e

fissura de palato associadas (FL+FP). A razão sexual encontrada nesse subgrupo foi similar à observada no grupo com FL/P. Os autores observaram ainda que dos 66 casos, 82% apresentaram fissura de lábio unilateral, com ou sem envolvimento do alvéolo, e 10% tinham história familiar positiva. Avaliação odontológica em 38 indivíduos mostrou que 37% tinham hipodontia na dentição permanente (excluindo terceiro molar) e no lado oposto ao da fissura. Nenhum desses indivíduos apresentava elevações cônicas no lábio inferior. Os autores concluíram que FL+FP pertence à mesma classe etiológica que FL/P.

2.2.6 Microformas de fissuras orais

O termo *microforma* tem sido utilizado para indicar expressão fenotípica mais sutil das fissuras orais, como as fissuras cicatriciais de lábio, as alterações de úvula e a fissura de palato submucosa (Shapiro et al 1971, Castilla e Martínez-Frías 1995, Carstens 2000, Saal 2002 e Suzuki et al 2009). Além disso, outros sinais clínicos como assimetria nasal, alterações dentárias e/ou de arco alveolar, alterações nas fibras do músculo orbicular da boca, entre outros, são também considerados microformas de fissura (Tolarová 1969, Thaller e Lee 1995 e Gorlin, Cohen e Rennekam 2001 e Saal 2002).

As *fissuras de lábio cicatriciais* ou *fissuras cicatriciais congênitas* (OMIM 600625) apresentam-se na forma de pequenos defeitos no lábio, dando a impressão de cicatriz de correção cirúrgica de fissura típica (Castilla e Martínez-Frías 1995, Carstens 2000 e Suzuki et al 2009). Acredita-se que esses quadros podem ser resultado de fusão defeituosa dos processos faciais no período embrionário ou, ainda, de reparo espontâneo tardio de uma fissura completa (Castilla e Martínez-Frías, 1995). Em estudo com camundongos *knockout* para o fator de transcrição

Bmp-4 (proteína morfogenética do osso), encontrou-se, no 14,5º dia após a concepção, um fenótipo de cicatrização não-usual de fissura de lábio em cerca de 78% dos embriões, os quais haviam apresentado fissura bilateral de lábio no 12º dia. Recentemente, Susuki et al (2009) investigaram alterações no gene *BMP4* em indivíduos com fissura de lábio propriamente dita (968 casos); com defeito subepitelial do músculo oro-orbicular (87 casos) e com microformas de fissura (30 casos). Mutação no gene *BMP4* foi detectada em oito dos indivíduos, sendo que dois deles apresentavam a alteração do músculo oro-orbicular e um deles microforma de fissura. Segundo os autores, esses resultados podem dar subsídios para considerar que as microformas e os defeitos subepiteliais do músculo oro-orbicular fazem parte do espectro das FL/P e sugerem que o gene *BMP4* desempenha papel na cicatrização.

A *fissura de palato submucosa*, por sua vez, decorre de um defeito na musculatura do palato mole e/ou no tecido ósseo do palato duro que se mantém velado pela camada mucosa íntegra. A integridade da mucosa confere uma falsa ideia de normalidade (Silva-Filho e Souza-Freitas, 2007). Dada a dificuldade de diagnóstico, sua prevalência na população não está bem definida. No HRAC-USP, entre os anos de 1990 e 1999, 4,32% dos pacientes com fissuras orais matriculados apresentavam fissura de palato submucosa (Santiago, 2003).

Alterações de úvula, como úvula sulcada ou bífida, também são consideradas microformas de fissura de palato, uma vez que resultam de um evento de não fusão de tecidos embrionários (Shapiro et al, 1971). Essa microforma de fissura palatina representa um dos principais sinais clínicos para o diagnóstico das fissuras submucosas e, quando isolada, pode ser subestimada pela ausência de comprometimento estético e funcional.

2.3 A pele e o processo de cicatrização embrionária e fetal

A pele representa o maior órgão humano e, entre o sétimo e o oitavo dia de vida embrionária, a epiderme é representada por uma simples camada de células ectodérmicas que se diferenciará, entre as 22^a e 24^a semanas, num epitélio estratificado e queratinizado (Colwell, Longaker e Lorenz 2003 e Coolen et al 2010). A pele dos mamíferos, na fase embrionária ou nos primeiros meses de vida fetal, tem capacidade de reparo sem deixar cicatrizes e apresenta transição fenotípica que vai desde a cura sem vestígios de cicatriz até o reparo da cicatrização durante o desenvolvimento embrionário. Contudo, os mecanismos assim como os fatores e/ou os genes envolvidos nos fenótipos resultantes destes processos ainda são pouco conhecidos (Cheng et al, 2010). Alguns autores têm sugerido que este processo se assemelha mais a um modelo de regeneração do que reparo (Samuels e Tan 1999, Dang et al 2003 e Chen et al 2005,). A regeneração da pele no feto ocorre com pouca ou nenhuma inflamação, rápida re-epitelização e sem formação de cicatriz, propriedades intrínsecas da pele fetal. (Bullard, Longaker e Lorenz 2003, Dang et al 2003 e Wilgus 2007). Os ferimentos que ocorrem durante a vida embrio-fetal são tempo-dependentes, assim aqueles que ocorrem mais precocemente usualmente se resolvem sem deixar cicatriz; aqueles que ocorrem na fase intermediária da gestação, pelo aumento de miofibroblastos, podem alterar o alinhamento das fibrilas do colágeno e cursar com linhas anormais que se assemelham a cicatrizes; já os que ocorrem na fase final da gestação ou no período neonatal, quando os feixes de miofibroblastos se tornam mais prevalentes e formam arranjos paralelos compactos, resultam num processo mais lento de cicatrização (Samuels e Tan 1999 e Lanning et al 2000).

Mais de uma centena de genes têm sido responsabilizados por este fenômeno, havendo também indícios de que propriedades intrínsecas do líquido

amniótico possam ter papel significativo neste processo (Ozgenel e Filiz 2003, Castro-Combs et al 2008 e Kerimoğlu et al 2009). Estudos mais recentes têm mostrado que os *microRNAs* (miRNAs) desempenham papel essencial em diversos processos fisiopatológicos, entre eles a morfogênese e a patogênese cutânea. MiRNAs compreendem uma nova classe de pequenos RNAs, altamente conservados, que regulam a expressão temporal e espacial de outros genes durante o desenvolvimento. A evolução de novas famílias de miRNAs durante o processo evolutivo resultou na diversidade das espécies – a macro evolução – e com ela a origem dos vertebrados (Sand et al, 2009).

Observações funcionais por meio da abordagem *in silico* (bio-informática) sobre alvos de expressão diferencial de miRNAs revelam que estes alvos previstos estão significativamente aumentados em diversas vias de sinalização importantes no processo de resolução de ferimentos cutâneos livres de cicatrizes. A análise *in silico* sugere, ainda, que os miRNAs contribuem para a transição fenotípica da pele embrionária, provavelmente agindo sobre múltiplos genes alvos e vias sinalizadoras (Cheng et al, 2010). Cada tecido tem um padrão de expressão de miRNAs, no entanto poucos miRNAs específicos para a pele têm sido descritos. Até o momento, 695 miRNAs diferentes foram identificados em humanos; e, prevê-se que eles são responsáveis pela regulação de até 30% de todos os genes do genoma humano, principalmente por meio da repressão transcricional (Griffiths-Jones et al, 2008).

O papel dos miRNAs na cicatrização fetal não está claramente definido, no entanto miRNAs estão envolvidos em diversos aspectos deste evento. O processo de cicatrização envolve quatro fases: inflamatória, proliferativa, fibroplasia e maturação. Após vasoconstrição e inflamação, as plaquetas secretam diversas citocinas, incluindo PDGF (platelet-derived growth factor), fator plaquetário IV e TGF- β . Durante a embriogênese, diferentes isoformas da família TGF beta desempenham

importante papel em diversos processos, regulando vários aspectos do desenvolvimento palatino. TGF beta1 e TGF beta2 estão envolvidos no crescimento palatal e o TGF beta3 regula a transformação da borda epitelial mediana em mesênquima para a finalização da confluência palatina (Nawshad, LaGamba e Hay 2004). Estudos recentes, no campo da *epigenética*, particularmente relacionados à metilação do DNA e à regulação da expressão gênica por miRNAs, mostram o papel crítico destes processos no controle da diferenciação celular e tecidual. Recentemente, mostrou-se que miRNAs, mais especificamente o miRNA-24, desempenha papel crítico na regulação genética da sinalização do TGF beta 1, levando à melhor compreensão da morfogênese palatina (Sun et al, 2008).

objetivos

3 Objetivos

Objetivo geral

- O presente estudo teve como objetivo contribuir para a ampliação do conhecimento das fissuras orais.

Objetivos específicos

- Descrever, sob o aspecto genético-clínico, uma amostra de indivíduos com fissura pré-forame incisivo uni/bilateral incompleta e fissura pós-forame incisivo associadas, apresentando ou não outras anomalias;
- Determinar na amostra: razão sexual, idade parental, consanguinidade parental e recorrência familiar;
- Identificar, na amostra, possível correlação entre fatores ambientais e a ocorrência da fissura;
- Verificar, na amostra, a ocorrência de anomalias associadas à fissura;
- Identificar, na amostra, a ocorrência de quadros sindrômicos.

casuística e metodologia

4 Casuística e Metodologia

4.1 Casuística

Foram selecionados 356 indivíduos com fissura pré-forame incisivo uni/bilateral incompleta (sem acometimento do arco alveolar) e fissura pós-forame incisivo associadas, cadastrados e em tratamento no Hospital de Reabilitação de Anomalias Craniofaciais da Universidade de São Paulo, Bauru, SP. Deste total, 322 indivíduos fizeram parte do estudo retrospectivo e 34, de estudo prospectivo.

4.2 Metodologia

Os registros dos indivíduos do estudo retrospectivo foram levantados junto ao banco de dados do Serviço de Informática Hospitalar da Instituição. Os prontuários selecionados foram analisados e os seguintes dados foram coletados e registrados em protocolo específico (Anexo 1): identificação, data de nascimento, raça, sexo, naturalidade, identificação dos pais, data de nascimento dos pais, idade dos pais na época da concepção, naturalidade dos pais, tempo gestacional, intercorrências gestacionais (uso de substâncias químicas, exposição à radiação, traumas físicos e psíquicos, doenças crônicas e/ou infecciosas etc.), condições peri-natais, levantamento do histórico familiar de, pelo menos, três gerações (consanguinidade, recorrência e presença de outras anomalias), caracterização da fissura e descrição das anomalias associadas. Os dados de prontuários, no que se refere aos achados clínicos, foram complementados pela avaliação da respectiva documentação fotográfica existente na Instituição, com orientação da equipe da Seção de Genética Clínica.

Os indivíduos incluídos no estudo prospectivo foram aqueles que apresentaram a fissura pré-forame uni/bilateral incompleta associada à fissura pós-forame incisivo, sem comprometimento alveolar, matriculados durante o ano de 2009 e aqueles, inicialmente selecionados junto ao banco de dados (incluídos no estudo retrospectivo), que tiveram retorno ambulatorial de rotina durante esse mesmo ano. Os indivíduos foram avaliados, do ponto de vista genético-clínico, pela pesquisadora (sob supervisão da orientadora ou de profissional da Seção de Genética Clínica da Instituição) que, nessa ocasião, realizou a coleta de dados diretamente dos indivíduos ou de seus responsáveis. O protocolo utilizado foi o mesmo do estudo retrospectivo. Essa coleta foi programada, sempre que possível, de acordo com a rotina de atendimento do indivíduo, sem alteração de datas e horários agendados para o mesmo. Os pacientes e/ou seus responsáveis foram informados dos objetivos da pesquisa e os indivíduos foram incluídos mediante a concordância e assinatura do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (Anexo 2). O presente estudo foi devidamente aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa do HRAC-USP (Anexo 3). Os dados obtidos de ambos os estudos foram analisados conjuntamente.

Para a caracterização da fissura considerou-se a classificação adotada no HRAC-USP - modelo de Spina et al (1972), modificado por Silva-Filho et al (1992). O não-acometimento do arco alveolar foi clinicamente detectado por meio de fotografias. Este estudo não realizou avaliação odontológica.

Quanto às anomalias associadas à fissura, utilizou-se a designação “fissura isolada” para os indivíduos sem anomalias associadas (SA) à fissura ou para os indivíduos com anomalias associadas (CA) desde que não configurasse quadro de múltiplas anomalias congênitas. “Múltiplas anomalias congênitas” (MAC) foi a designação utilizada para os indivíduos que apresentaram síndromes, associações, seqüências e outros quadros malformativos. Estudo citogenético (cariótipo) foi

realizado, ou não, nos pacientes participantes deste estudo, de acordo com a rotina do Serviço de Genética do HRAC-USP.

4.3 Análise dos resultados

Para análise dos resultados foram destacados dois grupos (Grupos I e Grupo II) da amostra total. No Grupo I foram incluídos os indivíduos que apresentaram fissura pré-forame incisivo cicatricial, independentemente do tipo de acometimento pós-forame incisivo. Indivíduos do Grupo I, que, além de apresentarem a fissura pré-forame incisivo cicatricial, apresentaram também algum tipo de microforma de fissura pós-forame incisivo, foram destacados para formarem também o Grupo II. As fissuras cicatriciais foram assim designadas quando da presença de cicatriz congênita no vermelhão do lábio, apenas no filtro labial ou em ambos. Os indivíduos com acometimento bilateral, os quais apresentavam fissura típica em um dos lados e fissura cicatricial no outro, não foram incluídos nestes grupos. Foram consideradas microformas de fissura pós-forame incisivo as fissuras submucosas e as fissuras de úvula (úvula bífida ou sulcada).

Dados de razão sexual, idade parental na época da concepção, consanguinidade parental, recorrência familiar, lateralidade da fissura e presença de anomalias associadas à fissura foram levantados da literatura pertinente para estudo comparativo. Os dados apresentados foram analisados por meio de estatística básica descritiva e, para as comparações realizadas entre os grupos e com a literatura, foram utilizados o teste de qui-quadrado (para as variáveis qualitativas) e teste t (para as variáveis quantitativas). As comparações somente foram realizadas entre: o Grupo I e o restante da amostra total; entre o Grupo II e o restante da amostra total, além das comparações realizadas entre a amostra total estudada e os

resultados encontrados em trabalhos realizados com indivíduos com FL/P, na literatura pertinente. Como alguns indivíduos se repetiam nos grupos, ou seja, parte dos indivíduos do Grupo I (G.I) foi destacado para formar também o Grupo II (G.II), os testes estatísticos de comparação foram executados entre indivíduos G.I e indivíduos não-G.I e entre indivíduos G.II e não-G.II. Assim, os indivíduos não foram comparados a eles mesmos, o que poderia alterar a interpretação dos dados.

resultados

5 Resultados

A amostra total deste estudo foi composta por 356 indivíduos com fissura pré-forame e pós-forame incisivo associadas, sem comprometimento do arco alveolar. Desse total, 92 indivíduos que apresentaram fissura pré-forame incisivo cicatricial, independentemente do tipo de acometimento pós-forame incisivo, foram destacados para compor o Grupo I e, destes, 30 indivíduos com os quadros mais leves, ou seja, que além da fissura pré-forame incisivo cicatricial também apresentaram microformas de fissura pós-forame incisivo, formaram o Grupo II. As diferentes associações de fissura pré e pós-forame na amostra total, no Grupo I e no Grupo II, foram distribuídas nas Tabelas 2, 3 e 4 e ilustradas nas Figuras 7, 8 e 9.

Tabela 2. Tipos de fissura pré e pós-forame incisivo na amostra total.

Fissuras	n=356
Pré-forame incisivo à esquerda + pós-forame completa	15 (4,2%)
Pré-forame incisivo à esquerda + pós-forame incompleta	58 (16,3%)
Pré-forame incisivo à esquerda + pós-forame submucosa	52 (14,6%)
Pré-forame incisivo à esquerda + úvula	10 (2,8%)
Pré-forame incisivo cicatricial à esquerda + pós-forame completa	10 (2,8%)
Pré-forame incisivo cicatricial à esquerda + pós-forame incompleta	19 (5,3%)
Pré-forame incisivo cicatricial à esquerda + pós-forame submucosa	10 (2,8%)
Pré-forame incisivo cicatricial à esquerda + úvula	1 (0,3%)
Pré-forame incisivo à direita + pós-forame completa	10 (2,8%)
Pré-forame incisivo à direita + pós-forame incompleta	28 (7,9%)
Pré-forame incisivo à direita + pós-forame submucosa	29 (8,1%)
Pré-forame incisivo à direita + úvula	6 (1,7%)

Tabela 2 (continuação). Tipos de fissura pré e pós-forame incisivo na amostra total.

Fissuras	n=356
Pré-forame incisivo cicatricial à direita + pós-forame completa	9 (2,5%)
Pré-forame incisivo cicatricial à direita + pós-forame incompleta	13 (3,7%)
Pré-forame incisivo cicatricial à direita + pós-forame submucosa	10 (2,8%)
Pré-forame incisivo cicatricial à direita + úvula	4 (1,1%)
Pré-forame bilateral + pós-forame completa	15 (4,2%)
Pré-forame bilateral + pós-forame incompleta	18 (5,1%)
Pré-forame bilateral + pós-forame submucosa	9 (2,5%)
Pré-forame bilateral + úvula	2 (0,6%)
Pré-forame bilateral com cicatriz à esquerda + pós-forame incompleta	3 (0,8%)
Pré-forame bilateral com cicatriz à esquerda + pós-forame submucosa	1 (0,3%)
Pré-forame bilateral com cicatriz à direita + pós-forame completa	4 (1,1%)
Pré-forame bilateral com cicatriz à direita + pós-forame incompleta	1 (0,3%)
Pré-forame bilateral com cicatriz à direita + pós-forame submucosa	3 (0,8%)
Pré-forame com cicatriz bilateral + pós-forame completa	5 (1,4%)
Pré-forame com cicatriz bilateral + pós-forame incompleta	6 (1,7%)
Pré-forame com cicatriz bilateral + pós-forame submucosa	4 (1,1%)
Pré-forame com cicatriz bilateral + úvula	1 (0,3%)
Total	356 (100%)

Os indivíduos destacados são os que foram selecionados para formar o Grupo I, por apresentarem fissura pré-forame incisivo cicatricial.



Figura 7. Indivíduos com fissura pré-forame e pós-forame incisivo associadas, sem comprometimento do arco alveolar, incluídos na amostra total deste estudo.

Tabela 3. Tipos de fissura pré e pós-forame incisivo no Grupo I.

Fissuras	n=92
Pré-forame incisivo cicatricial à esquerda + pós-forame completa	10 (10,9%)
Pré-forame incisivo cicatricial à esquerda + pós-forame incompleta	19 (20,7%)
Pré-forame incisivo cicatricial à esquerda + pós-forame submucosa	10 (10,9%)
Pré-forame incisivo cicatricial à esquerda + úvula	1 (1,1%)
Pré-forame incisivo cicatricial à direita + pós-forame completa	9 (9,8%)
Pré-forame incisivo cicatricial à direita + pós-forame incompleta	13 (14,1%)
Pré-forame incisivo cicatricial à direita + pós-forame submucosa	10 (10,9%)
Pré-forame incisivo cicatricial à direita + úvula	4 (4,3%)
Pré-forame com cicatriz bilateral + pós-forame completa	5 (5,4%)
Pré-forame com cicatriz bilateral + pós-forame incompleta	6 (6,5%)
Pré-forame com cicatriz bilateral + pós-forame submucosa	4 (4,3%)
Pré-forame com cicatriz bilateral + úvula	1 (1,1%)
Total	92 (100%)

Os indivíduos destacados são os que foram selecionados para formar o Grupo II, por apresentarem fissura pré-forame incisivo cicatricial e microforma de fissura pós-forame incisivo.



Figura 8. Indivíduos com fissura pré-forame incisivo cicatricial e fissura pós-forame incisivo associadas, sem comprometimento do arco alveolar, incluídos no Grupo I

Tabela 4. Tipos de fissura pré e pós-forame incisivo no Grupo II.

Fissuras	n=30
Pré-forame incisivo cicatricial à esquerda + pós-forame submucosa	10 (33,3%)
Pré-forame incisivo cicatricial à esquerda + úvula	1 (3,3%)
Pré-forame incisivo cicatricial à direita + pós-forame submucosa	10 (33,3%)
Pré-forame incisivo cicatricial à direita + úvula	4 (13,3%)
Pré-forame com cicatriz bilateral + pós-forame submucosa	4 (13,3%)
Pré-forame com cicatriz bilateral + úvula	1 (3,3%)
Total	30 (100%)



Figura 9. Indivíduos com fissura pré-forame incisivo cicatricial e microforma de fissura pós-forame incisivo associadas, sem comprometimento do arco alveolar, incluídos no Grupo II

A lateralidade da fissura pré-forame incisivo dos indivíduos da amostra e da literatura foi apresentada nas Tabelas 5 e 6, respectivamente. Na amostra total e no Grupo I, o lado esquerdo foi o mais frequentemente afetado. No Grupo II houve frequência maior de fissura do lado direito, porém sem diferença estatisticamente significativa com o restante da amostra total. Houve diferença estatisticamente significativa no que diz respeito a um maior número de indivíduos com fissura à

direita, na amostra total deste estudo, do que bilateralmente como em trabalhos na literatura pertinente.

Tabela 5. Lateralidade da fissura pré-forame incisivo na amostra.

	Amostra total (n=356)	Grupo I (n=92)	Grupo II (n=30)
Esquerda	175 (49%)	40 (44%)	11 (37%)
Direita	109 (31%)	36 (39%)	14 (47%)
Bilateral	72 (20%)	16 (17%)	5 (17%)
Total	356 (100%)	92 (100%)	30 (100%)

Amostra total e Grupo I: $p=0,11989$. Amostra total e Grupo II: $p=0,13529$

Tabela 6. Lateralidade da fissura segundo dados da literatura.

Trabalhos/ Local	E	D	B	Total	p
Amostra total do presente estudo	175 (49%)	109 (31%)	72 (20%)	356 (100%)	
Woolf (1971)/ EUA**	126 (25%)	82 (17%)	96 (19%)	496 (100%)	0,004*
Bellis e Wohlgemuth (1999)/Escócia	65 (44%)	31 (21%)	53 (35%)	149 (100)	0,001*
Kim et al (2002)/ Coréia do Sul***	42 (47%)	19 (21%)	21 (23%)	90 (100%)	0,322
González et al (2008)/ México	258 (44%)	186 (31%)	146 (25%)	590 (100%)	0,178
Gregg et al (2008)/ Irlanda do Norte	89 (40%)	66 (30%)	68 (30%)	223 (100%)	0,014*

E=Esquerda; D=Direita; B: Bilateral. * Diferença estatisticamente significativa. ** Registros de 192 indivíduos não traziam informação sobre lateralidade. *** Registros de oito não traziam informação sobre lateralidade.

Em relação à fissura pós-forame incisivo, como mostra a Tabela 7, observou-se que a fissura incompleta foi a mais frequente na amostra total e no Grupo I. Entre as microformas, a fissura submucosa foi a mais frequente. Não foi realizado tratamento estatístico para este dado.

Tabela 7. Distribuição da amostra quanto à fissura pós-forame incisivo.

Tipo da fissura	Total (n=356)	Grupo I (n=92)	Grupo II (n=30)
Completa	68 (19%)	24 (26%)	-
Incompleta	146 (41%)	38 (41%)	-
Submucosa	118 (33%)	24 (26%)	24 (80%)
Úvula	24 (7%)	6 (7%)	6 (20%)
Total	356 (100%)	92 (100%)	30 (100%)

As Tabelas 8 e 9 mostram, respectivamente, a razão sexual da presente casuística e da literatura. Na amostra total, a razão sexual foi de 2,2M:1F; no Grupo I foi de 2,15M:1F e no Grupo II, 1,73M:1F. Não houve diferença estatisticamente significativa entre a amostra total e os Grupos I e II. Em relação à literatura, em três trabalhos houve diferença significativa em relação ao presente estudo.

Tabela 8. Distribuição da amostra quanto ao gênero.

Gênero	Amostra total (n=356)	Grupo I (n=92)	Grupo II (n=30)
Masculino	246 (69%)	63 (68,%)	19 (63,3%)
Feminino	110 (31%)	29 (32%)	11 (36,7%)
Razão sexual	2,2:1	2,15:1	1,73:1
Total	356 (100%)	92 (100%)	30 (100%)

Amostra total e Grupo I: $p=0,88065$. Amostra total e Grupo II: $p=0,474959$

Tabela 9. Razão sexual em trabalhos da literatura.

Trabalhos/ Local	Local	M	F	Razão sexual	Total
Amostra total do presente estudo	Brasil	246	110	2,2:1	356
Woolf (1971)	EUA	036	014	2,5:1 (p=0,677)	050
Owens; Jones; Harris (1985)	Inglaterra	-	-	1,98:1 (p=0,420)	166
Shin; Lee; Lew (1985)	Coréia do Sul	552	165	3,3:1 (p=0,005)*	717
Menegoto; Salzando (1991)	América do Sul	447	294	1,52:1 (p=0,005)*	741
Stoll et al (1991)	França	044	026	1,6:1F (p=0,306)	070
Das et al (1995)	EUA	116	63	1,8:1 (p=0,316)	179
Bellis; Wohlgemuth (1999)	Escócia	099	050	1,9:1 (p=0,558)	149
Rajabian; Sherkat (2000)	Irã	547	249	2,1:1 (p=0,897)	796
Cooper et al (2000)	China	200	144	1,39:1 (p=0,003)*	344
Vallino-Napoli; Riley; Halliday (2004)	Austrália	334	178	1,8:1 (p=0,234)	512
Martelli-Junior et al (2007)	Brasil	036	014	2,5:1 (p=0,677)	050
González et al (2008)	México	373	217	1,74:1 (p=0,065)	590
Gregg et al (2008)	Irlanda do Norte	152	73	2:1 (p=0,696)	225
Coutinho et al (2009)	Brasil	367	217	1,6:1 (p=0,051)	584

*Diferença estatisticamente significativa. M=Masculino, F=Feminino.

Na amostra total, a média da idade paterna e materna, na época da concepção, foi de 29,8 e 26,2 anos, respectivamente. No Grupo I, essa média foi de 28,7 para a idade paterna e de 25,6, para a materna. Para o Grupo II foi de 30 e 23,4, respectivamente. Houve diferença estatisticamente significativa em relação à média de idade paterna do Grupo II quando comparado ao restante da amostra total (Tabela 10). Em relação à literatura consultada, não houve diferença estatisticamente significativa com a amostra total do presente estudo (Tabela 11).

Tabela 10. Média da idade parental na época da concepção, na amostra.

Idade	Amostra total	Grupo I	Grupo II
Idade paterna	29,8 (275**)	28,7 (73**)	30* (22**)
Idade materna	26,2 (296**)	25,6 (80**)	23,4 (25**)

*Diferença estatisticamente significativa. Amostra total e Grupo I: $p=,139$ e $0,363$. Amostra total e Grupo II: $0,196$ e $0,049$. **Número de prontuários informativos para este dado.

Tabela 11. Média da idade parental na época da concepção, segundo dados da literatura.

Idade	Idade paterna	Idade materna
Amostra do presente estudo	29,8	26,2
Baroneza et al (2005)	29,8	25,5

Idade paterna ($p=1,000$). Idade materna ($p=0,303$).

Consanguinidade parental, na amostra total, foi observada em 17 (5,4%) dos casos informativos; no Grupo I, em 5 casos (6,6%), e, no Grupo II em apenas um caso (4,3%). Não houve diferença estatisticamente significativa entre a amostra total e dos Grupos (Tabela 12). Comparados com a literatura, os dados da amostra total deste estudo apresentaram diferença estatisticamente significativa (Tabela 13).

Tabela 12. Consanguinidade parental na amostra.

Consanguinidade	Amostra total (n=313)	Grupo I (n=76)	Grupo II (n=23)
Sem consanguinidade	296 (94,6%)	71 (93,4%)	22 (95,6%)
Com consanguinidade	17 (5,4%)	5 (6,6%)	1 (4,3%)
Total*	313 (100%)	76 (100%)	23 (100%)

* Número de prontuários informativos para este dado. Amostra total e Grupo I: $p=0,61193$. Amostra total e Grupo II: $p=0,81173$.

Tabela 13. Consangüinidade parental segundo dados de literatura.

Trabalho	Local	CC	SC	p	Total
Leite; Coifman (2009)	Brasil	10 (9%)	98 (91%)	0,753	108 (100%)
Rajabian;Sherkat (2000)	Irã	423 (25%)	1246 (75%)	0,001*	1669 (100%)

* Diferença estatisticamente significativa. CC=Com consanguinidade, SC=Sem consanguinidade.

Dados sobre recorrência familiar, da amostra total e da literatura, foram dispostos nas Tabelas 14 e 15. Na amostra total, recorrência familiar foi observada em 73 (21%) dos casos informativos; no Grupo I em 19 casos (23%), e, no Grupo II em 6 (23%). Não houve diferença estatisticamente significativa entre a amostra total e os Grupos. Com relação aos dados de literatura, houve diferença estatisticamente significativa com a amostra total deste estudo.

Tabela 14. Recorrência familiar na amostra.

Recorrência	Amostra total (n=336)	Grupo I (n=84)	Grupo II (n=26)
Sem recorrência	263 (78%)	65 (77%)	20 (77%)
Com recorrência	73 (22%)	19 (23%)	6 (23%)
Total*	336 (100%)	84 (100%)	26 (100%)

*Número de prontuários informativos para este dado. Amostra total e Grupo I: p=0,81876. Amostra total e Grupo II: p=0,86196.

Tabela 15. Recorrência familiar segundo dados da literatura.

Trabalho	Local	CR	SR	p	Total
Martelli-Junior et al (2007)	Brasil	57 (38%)	94 (62%)	0,001*	151 (100%)
Kim et al (2002)	Coréia do Sul	6 (7%)	84 (93%)	0,001*	90 (100%)
González et al (2008)	México	137 (23%)	453 (77%)	0,602	590 (100%)
Shin; Lee; Lew (1985)	Coréia do Sul	51 (7%)	666 (93%)	0,001*	717 (100%)

* Diferença estatisticamente significativa. CR=Com recorrência, SR=Sem recorrência.

Exposição a agentes químicos/físicos, considerados de risco para fissuras orais durante o período gestacional, foi mostrada na Tabela 16. Na amostra total, observou-se exposição a diferentes agentes em 31 (10,9%) dos casos informativos para esse dado. No Grupo I foi observado em 7 casos (9,4%), e, no Grupo II em um (5%) dos casos. Não foi realizado tratamento estatístico para este dado.

Tabela 16. Exposição a agentes químicos/físicos durante o período gestacional, na amostra.

Agentes químicos/físicos	Amostra total (n=286)	Grupo I (n=74)	Grupo II (n=22)
Tabagismo	17 (6%)	3 (4%)	1 (5%)
Anticonvulsivantes	7 (2,4%)	2 (2,7%)	0 (0%)
Corticóides	1 (0,4%)	0 (0%)	0 (0%)
Raio-X	6 (2,1%)	2 (2,7%)	0 (0%)
Subtotal	31 (10,9%)	7 (9,4%)	1 (5%)
Sem exposição	255 (89,1%)	67 (90,5%)	21 (95%)
Total*	286 (100%)	74 (100%)	22 (100%)

* Número de prontuários informativos para este dado.

A ocorrência, ou não, de anomalias associadas à fissura, tanto na presente casuística quanto nos dados levantados da literatura, foi disposta nas Tabelas 17 e 18, respectivamente. Dos indivíduos da amostra total, 321 (90%) apresentavam fissura isolada e 35 (10%) apresentaram múltiplas anomalias congênitas (MAC), configurando quadro de síndrome, sequência ou associação. No Grupo I, 75 casos (82%) apresentavam fissura isolada e 17 (18%), MAC. E, no Grupo II, 23 casos (77%) apresentavam fissura isolada e 7 (23%), MAC. Houve diferença estatisticamente significativa entre os Grupos e a amostra total. Na literatura, os

trabalhos apresentaram diferença estatisticamente significativa com relação à amostra total deste estudo.

Tabela 17. Distribuição da amostra quanto à ocorrência de múltiplas anomalias (síndrome, sequência ou associação).

	Amostra total (n=356)	Grupo I (n=92)	Grupo II (n=30)
Fissura isolada	321 (90%)	75 (82%)	23 (77%)
Múltiplas anomalias congênitas	35 (10%)	17 (18%)*	7 (23%)*
Total	356 (100%)	92 (100%)	30 (100%)

* Diferença estatisticamente significativa. Amostra total e Grupo I: p=0,00122. Amostra total e Grupo II: p=0,00944.

Tabela 18. Múltiplas anomalias associadas à fissura, segundo dados da literatura.

Trabalhos/ Local	FI	MAC	Total	p
Amostra do presente estudo	321 (90%)	35 (10%)	356 (100%)	
Stoll et al (1991)/ França	83 (72%)	33 (28%)	116 (100%)	0,001*
Tolarova; Cervenka (1998)/ EUA	1217 (68%)	580 (32%)	1797 (100%)	0,001*
Duarte e Leal (1999)/ Portugal	181(97%)	06 (3%)	187 (100%)	0,006*
Stoll; Alembik; Dott (2007)/ França	281 (72%)	109 (28%)	390 (100%)	0,001*
Beriaghi et al (2009)/ EUA	504 (85%)	91 (15%)	595 (100%)	0,006*
Dai et al (2010)/ China	3727 (86%)	598 (14%)	4325 (100%)	0,034*

FI=Fissura isolada. MAC=Múltiplas anomalias congênitas. *Diferença estatisticamente significante.

A tabela 19 mostra os quadros de síndrome, sequência ou associação apresentados pelos indivíduos da amostra total deste estudo. Os casos cujo diagnóstico não estava definido no momento da realização deste trabalho foram designados como “quadro a esclarecer”.

Tabela 19. Quadros com múltiplas anomalias na amostra.

Diagnóstico	Amostra total (n=356)	Grupo I (n=92)	Grupo II (n=30)
Síndrome de Van der Woude	4	2	0
Síndrome de Goltz	2	0	0
Síndrome de Down	2	1	1
Síndrome Pterígio Poplíteo	1	1	0
Síndrome Branquio-Oculo-Facial	1	1	0
Síndrome Oculo-Auriculo-Vertebral	1	1	0
Síndrome Femural-Facial	1	1	0
Síndrome Blefaroqueilodôntica	1	0	0
Síndrome de Say	1	1	0
Sequência de VACTERL	1	1	0
Sequência de bridas amnióticas	1	0	0
Holoprosencefalia like	1	0	0
Keratoconus posticus circumscriptus	2	1	1
Cromossomopatia (del21)	1	0	0
Nevus basal do tronco (maligno)	1	1	1
Quadro de provável etiologia ambiental	1	1	1
Quadro a esclarecer	13	5	3
Total	35 (10%)	17 (18%)	7 (23%)

Na Tabela 20, os indivíduos da amostra com fissura isolada foram distribuídos quanto à presença de anomalias associadas. A Tabela 21 mostra esses dados em trabalhos da literatura. Dos 321 indivíduos com fissura isolada, 43 casos (13%) apresentaram anomalias associadas; no Grupo I, 11 casos (15%) tinham outras anomalias, e, no Grupo II, 5 casos (22%), sem diferença estatisticamente significativa entre eles. Na literatura, os trabalhos apresentaram diferença estatisticamente significativa quando comparados com amostra de indivíduos (n=321) do presente estudo.

Tabela 20. Distribuição da amostra quanto à ocorrência de anomalias associadas.

	Amostra total (n=321)	Grupo I (n=75)	Grupo II (n=23)
Sem anomalias associadas	278 (87%)	64 (85%)	18 (78%)
Com anomalias associadas	43 (13%)	11 (15%)	5 (22%)
Total	321 (100%)	75 (100%)	23 (100%)

Amostra total e Grupo I: p=0,71201. Amostra total e Grupo II: p=0,22274.

Tabela 21. Ocorrência de anomalias associadas à fissura isolada, segundo dados da literatura.

Trabalhos/ Local	SA	CA	Total	p
Amostra total do presente estudo	278 (87%)	43 (13%)	321 (100%)	
Duarte; Leal (1999)/ Portugal	142 (78%)	39 (22%)	181 (100%)	0,006*
Beriaghi et al (2009)/ EUA	347 (69%)	157 (31%)	504 (100%)	0,006*

SA=Sem anomalia associada. CA=Com anomalia associada. * Diferença estatisticamente significante.

Na tabela 22 estão listadas as diferentes anomalias observadas nos 43 dos 321 indivíduos com fissura isolada, pertencentes à amostra total estudada.

Tabela 22. Anomalias associadas à fissura, nos indivíduos estudados.

	Número de indivíduos (n=43)
Craniofaciais	
Base nasal larga	1
Braquicefalia	1
Epicanto	4
Estreitamento bitemporal (discreto)	1
Fendas palpebrais oblíquas para cima	3
Fendas palpebrais oblíquas para baixo	4
Fendas palpebrais pequenas/ estreitas	4
Frênulo lingual curto	1
Frontal proeminente	1
Olhos encovados	1
Olhos grandes	1
Orelha(s) anômala(s)	12
Sinofres	4
Sobrancelhas espessas	1
Telecanto	1
Extremidades	
Clinodactilia	1
Dígitos longos	1
Unhas hipoplásicas	1
Outras	
Hirsutismo	1

* Uma determinada anomalia pode estar presente em mais de um indivíduo.

discussão

6 Discussão

Embora sejam as malformações craniofaciais mais comuns na espécie humana, as fissuras orofaciais, em todas as suas formas, ainda representam um grande desafio aos pesquisadores. Apesar de todas as classificações existentes e das diferentes metodologias propostas, somente na última década é que parte do véu que cobre tal complexidade começou a ser levantada. O avanço nas técnicas de biologia molecular permitiu estabelecer estratégias que levaram ao reconhecimento de fissuras orofaciais isoladas, dependentes da ação de genes determinantes de síndromes complexas como é o caso, por exemplo, dos genes *IRF6*, *SHH* e *GAS1* (Zuccherro et al 2004, Scapoli et al 2005 Seppala et al 2007, Jugessur et al 2008 Jehee et al 2009, Richieri-Costa e Ribeiro 2010 e Ribeiro et al 2010). Estes novos achados têm levado diversos pesquisadores a reconsiderar as classificações atuais dessas malformações. No presente trabalho abordamos apenas uma pequena parte deste universo: as fissuras pré-forame incisivo com integridade do arco alveolar acompanhadas de fissura pós-forame incisivo. Em consequência da seleção e delineamento desta amostra, observamos frequência significativa de quadros mais leves denominados microformas de fissuras. Diante deste fato é que se determinou o estudo da presente amostra (n=356), em princípio, destacando os indivíduos com fissura pré-forame incisivo cicatricial (microforma de fissura labial). Notavelmente, este grupo (Grupo I; n=92) apresentou um número expressivo de uma condição ainda mais sutil: as microformas de fissura pós-forame incisivo associadas à microformas de fissura labial. Por sua característica peculiar, estes pacientes foram agrupados e analisados separadamente (Grupo II; n=30). As considerações que se

seguem são referentes à caracterização da amostra total comparada a esses Grupos e, ainda, quanto aos dados da literatura, em relação às FL/P.

Em relação à lateralidade do acometimento labial, os trabalhos de literatura mostram que o lado esquerdo é mais frequentemente afetado que o direito (Tabela 6). Esses dados estão compatíveis com os obtidos no presente trabalho quando se considera a amostra total, porém, no Grupo II, observou-se maior número de indivíduos com fissura à direita. Esse achado poderia ser um indicativo importante para a distinção deste grupo, porém, não houve diferença estatisticamente significativa em relação ao restante da amostra total (Tabela 5). Nos trabalhos consultados na literatura o acometimento bilateral apresentou-se, em geral, mais frequente do que à direita e, quando esses dados foram comparados aos obtidos no presente trabalho, houve diferença estatisticamente significativa no que diz respeito ao maior número de indivíduos com fissura à direita do que bilateralmente. Possíveis explicações sobre essas diferenças de acometimento entre os lados são apresentadas nos trabalhos de Mittwoch (2008). Segundo a autora, os eventos celulares de proliferação e migração demandam alto gasto de energia proveniente do complexo mitocondrial. Estes eventos ocorrem de forma significativa durante o desenvolvimento das estruturas labiais que demandam alto gasto energético. Diferenças regionais na concentração mitocondrial durante o desenvolvimento embrionário podem resultar em alterações variáveis, desde grandes danos estruturais resultantes de falhas no desenvolvimento do fluxo nodal até alterações menores que dependem de pequenos ajustes na sintonia final das estruturas definitivas (Opitz et al, 2002). Além disso, interações anormais entre genes nucleares e mitocondriais podem levar a uma quantidade insuficiente de energia disponível para que as células desempenhem sua função normal. Genes que se

expressam diferencialmente em ambos os lados são conhecidos, mas seus efeitos metabólicos ainda não foram esclarecidos. Mittwoch (2008) sugere, ainda, que tendo em vista o grau de assimetria entre as fissuras unilaterais, pode valer a pena examinar também as fissuras bilaterais.

Quanto ao acometimento palatino, a fissura incompleta foi mais frequente na amostra total e no Grupo I. No Grupo II, composto apenas de indivíduos com microformas de fissura, observou-se maior frequência de fissura de palato submucosa do que de úvula (Tabela 7). Como os Grupos foram divididos considerando a fissura labial, não foi realizado tratamento estatístico para este dado entre os Grupos, bem como com a literatura, já que os trabalhos levantados foram realizados com indivíduos com FL/P.

Em relação à razão sexual, os resultados do presente trabalho não mostraram diferenças estatisticamente significativas entre a amostra total e os Grupos I e II (Tabela 8), os quais foram compatíveis com a maioria dos trabalhos da literatura (Woolf 1971, Owens, Jones e Harris 1985, Stoll et al 1991, Das et al 1995, Bellis e Wohlgemuth 1999, Rajabian e Sherkat 2000, Vallino-Napoli, Riley e Halliday 2004, Martelli-Júnior et al 2007, González et al 2008, Gregg et al 2008, Coutinho et al 2009) (Tabela 9). Diferença estatisticamente significativa, quando comparada à presente casuística, foi observada em estudo realizado em oito países da América do Sul (Menegotto e Salzano 1991) e no continente asiático (Shin, Lee e Lew 1985 e Cooper et al 2000). Nos trabalhos de Cooper et al (2000) e Menegotto e Salzano (1991) esta diferença pode ser explicada pela exclusão de indivíduos sindrômicos, já no trabalho de Shin; Lee; Lew (1985), provavelmente, está relacionada ao maior número de meninos nascidos na população coreana, resultado de tecnologias de

seletividade sexual preferencial, prática comum em muitos países asiáticos (Hesketh e Xing 2006).

Quanto à idade parental, na época da concepção, os dados obtidos na amostra total não apresentaram divergência estatística em relação àqueles observados por Baroneza et al (2005), em indivíduos com fissuras labiopalatinas no estado do Paraná. Observou-se, porém, diferença estatisticamente significativa na média de idade paterna dos indivíduos com microformas de fissuras (Grupo II) em relação aos demais indivíduos estudados (Tabela 10). Segundo Vallino-Napoli; Riley; Halliday (2004), na literatura em geral a correlação da ocorrência de fissuras com desvios da idade materna e paterna é controversa. Dai et al (2010) associaram idade materna elevada a todos os tipos de fissuras. Já Bille et al (2005) mostraram que tanto idade materna quanto idade paterna elevadas estão associadas a ocorrência de FL/P e que somente a idade paterna elevada pode estar associada ao aumento de risco de FP isolada. Diante da inconsistência dos dados sobre a real influência da idade parental na etiologia das fissuras orais, a diferença encontrada no Grupo II, deste estudo, não pode ser considerada relevante para determinar sua distinção dos demais indivíduos da amostra.

No que diz respeito à consanguinidade parental na amostra total e nos Grupos I e II não houve diferença estatisticamente significativa (Tabela 12). Já a comparação da amostra total com dados de literatura mostrou concordância com os estudos de Leite e Koifman (2009) e diferença estatisticamente significativa com os estudos de Rajabian e Sherkat (2000) (Tabela 13). Esses últimos autores encontraram consanguinidade em 25% dos casos de uma amostra de indivíduos com FL/P. Este alto índice encontrado pode ser resultado de um aspecto cultural, pois, segundo Saad; Ansari-Lari; Farhud (2004), em países do sudoeste da Ásia o

casamento consanguíneo é uma das principais características dos sistemas familiares. Já no estudo realizado por Leite e Koifman (2009) foi observado índice de 5% de consanguinidade, em uma amostra de indivíduos com FL/P, do estado do Rio de Janeiro, resultado esse estatisticamente semelhante ao encontrado no presente estudo. Segundo Liascovich et al (2001), os índices de consanguinidade observados para a população brasileira variam de acordo com a região. Nos estados do Rio de Janeiro, Pernambuco e São Paulo foram observados os maiores índices (3,13%, 2,27% e 2,04%, respectivamente), porém, considerando a população geral, estes índices foram estimados em 1,60%.

Em relação à recorrência familiar, os resultados obtidos na presente casuística não mostraram diferença estatisticamente significativa entre a amostra total e os Grupos I e II (Tabela 14). Comparando a amostra total com dados de literatura houve concordância com os estudos de González et al (2009), que encontraram recorrência familiar em 23% da amostra estudada e discordância com os estudos de Shin; Lee; Lew (1985), Kim et al (2002) e Martelli et al (2010). Os dois levantamentos realizados na Coréia do Sul demonstraram que em 7,1% (Shin, Lee e Lew 1985) e 6,7% (Kim et al, 2002) dos casos de indivíduos com FL/P houve recorrência familiar da fissura. Em contrapartida, um estudo brasileiro demonstrou recorrência familiar em 38% da amostra investigada (Martelli et al, 2010). Estes dados apresentaram diferença estatisticamente significativa em relação aos encontrados no presente estudo, provavelmente em decorrência, nos dois primeiros casos, das diferentes populações estudadas e, no último, da metodologia adotada, já que Martelli et al (2010) excluiu indivíduos sindrômicos ou com anomalias associadas à fissura (Tabela 15).

Exposição a agentes químicos e físicos considerados de risco para fissura, outro aspecto levantado na amostra, apontou que a exposição ao tabaco foi a mais frequente na amostra total e nos Grupos I e II (Tabela 16). Considerando que este estudo foi, em grande parte, retrospectivo, os dados sobre dosagem, período gestacional, tempo de exposição, composição dos medicamentos administrados, entre outros, não puderam ser investigados e, em decorrência disso, não foi possível a comparação com dados da literatura.

Na presente casuística, 10% dos casos apresentaram múltiplas anomalias associadas à fissura (Tabela 17), representando quadros com diagnóstico estabelecido ou não (Tabela 19). Analisando os Grupos I e II em relação à presença de outras anomalias, encontrou-se 18% dos casos do Grupo I e 7% do Grupo II com múltiplas anomalias, resultados esses com diferença estatística significativa em relação ao restante da amostra total. Estudos realizados com indivíduos com FL/P em países da Europa, Ásia e América do Norte, quanto à presença de múltiplas anomalias, mostraram diferença estatística significativa em relação aos resultados apresentados pela amostra total deste estudo (Tabela 18). Estes dados podem indicar que a fissura pré e pós-forame incisivo associadas, sem acometimento alveolar, são menos frequentes em quadros mais complexos, o que aponta para um evento regional. As anomalias associadas à fissura, sem constituir síndrome, sequência ou associação, observada em 13% dos 321 casos com fissura isolada, também mostraram diferença estatisticamente significativa em relação aos trabalhos da literatura consultados, os quais apresentaram maior frequência de anomalias associadas (Tabela 20 e 21). Das anomalias associadas, as craniofaciais foram as mais frequentes tanto no presente estudo (Tabela 22) como nos trabalhos de Shprintzen et al (1985) e Beriaghi et al (2009). Apesar das diferenças estatísticas em

relação às anomalias associadas, não se pode afirmar que o grupo aqui apresentado é distinto dos estudados em literatura, uma vez que devemos considerar as diferenças entre as populações estudadas e, especialmente, as variações decorrentes da atuação de diferentes profissionais envolvidos na coleta de dados e no delineamento clínico.

Neste contexto, considerando os resultados até aqui apresentados, mesmo diante da diferença estatística significativa encontrada em alguns aspectos analisados, não se pode afirmar, ainda, que a amostra estudada representa um grupo à parte do grupo das FL/P descrito na literatura. Da mesma forma não se pode afirmar que os Grupos I e II são distintos do restante da amostra deste estudo. Por outro lado, perante à característica peculiar dos indivíduos da presente amostra, ou seja, a preservação do arco alveolar e, ainda, a ocorrência de possível falha de regeneração tecidual em casos de microformas de fissura, acreditamos que este grupo necessita de maiores investigações no sentido de esclarecer sua origem embriológica e sua etiologia. Para isso, devem-se considerar outros mecanismos, além dos tradicionalmente conhecidos, que podem estar envolvidos na ocorrência destes achados.

Se levarmos em conta que, em fases precoces da vida embrionária, os primórdios que formarão as estruturas labiais, nasais e palatinas são separados; que para sua coalescência há a necessidade de diferentes eventos celulares e que a pele embrionária possui mecanismos de reparo e regeneração distintos dos demais tecidos, poderíamos considerar que o desenvolvimento normal dessas estruturas trata-se, portanto, de processos de regeneração bem-sucedidos. Nesta perspectiva, a ocorrência das fissuras orofaciais seria resultado da não coalescência das proeminências faciais devido à falha nesta regeneração tecidual. E o que

determinaria a diferença de gravidade desta falha entre os indivíduos? Segundo Mansilla et al (2005), a ação de fatores epigenéticos poderia estar envolvida nesta diferenciação. De acordo com os autores, a comparação de sequências de DNA em gêmeos monozigóticos discordantes em relação ao tipo de fissura pode servir de ferramenta para a busca de mutações determinantes de fissuras ou para o estudo de outros mecanismos mais complexos. Recentemente, Kimani et al (2009) investigaram alterações (deleções, ampliações e perda de heterozigosidade) em amostras de DNA de linfócitos de gêmeos monozigóticos discordantes para fissuras orais, por meio da verificação de sequências de SNPs (*single nucleotide polymorphisms*), porém não identificaram qualquer discordância genômica entre os pares de gêmeos. Diferenças na expressão de genes do sistema nervoso central de gêmeos monozigóticos discordantes, quanto ao diagnóstico ou gravidade das manifestações clínicas dentro do espectro autista, sugerem que estes achados devem ser atribuídos a fatores epigenéticos tais como metilação do DNA ou microRNAs (Haque et al 2009 e Sarachana et al 2010).

Os *microRNAs* (*miRNA*) são um grupo de pequenos RNAs regulatórios que, geralmente, atenuam a função dos genes, atuando como reguladores pós-transcricionais. É previsto que, nos mamíferos, eles podem controlar a atividade de cerca de 30% de todos os genes codificadores de proteínas, ligando-se a regiões complementares nos RNA mensageiros, levando à sua degradação ou à repressão de sua tradução (Griffiths-Jones et al 2008, He, Eberhart e Postlethwait 2009 e Cheng et al 2010). Segundo Clouthier (2008), um segmento específico de células da crista neural - células cuja migração é pré-requisito para a morfogênese das estruturas craniofaciais - é delicadamente sensível a concentrações de um miRNA cujo alvo é o RNA mensageiro do *Pdgfra* (*platelet-derived growth factor receptor*

alpha). Estudos de Eberhart et al (2008) confirmam essa susceptibilidade com comparações de sequências que mostraram que os receptores *Pdgfra* têm um sítio de ligação para o miRNA140, conservado na filogenia dos vertebrados. Demonstraram, ainda, que o aumento na expressão do miRNA140 causou fissura de lábio e palato em peixes *Brachydanio rerio*. Além disso, nesta mesma espécie de peixes, “nocaute” para *Pdgfra*, também ocorreu fissura labiopalatina, em estudo de Soriano (1997). Sabendo que, nessa espécie, as células da crista neural expressam *Pdgfra* (He et al 2009), é possível esperar que tanto uma mutação neste gene, alvo do miRNA140, quanto a alta expressão do próprio miRNA140, deve ocasionar fissura labiopalatina.

Diante disso, parece que a diferença de gravidade fenotípica depende da alteração ser no gene-alvo ou na expressão do miRNA que o regula. Deste modo, é possível supor que diferenças de gravidade das fissuras típicas orofaciais e microformas sejam decorrentes destes eventos.

conclusões

7 Conclusões

Do presente estudo pudemos concluir que:

- O grupo das fissuras pré-forame incisivo e fissura pós-forame incisivo associadas, sem acometimento do arco alveolar (FL+FP), possui, em geral, as mesmas características genético-clínicas do grupo das fissuras pré e transforame incisivo (FL/P);
- Não é possível afirmar, ainda, que a FL+FP com preservação do arco alveolar represente uma forma etiológica e patogenticamente distinta dos demais tipos de fissuras;
- As características peculiares de preservação de arco alveolar e a ocorrência relevante de microformas de fissuras na amostra indicaram que fatores adicionais ou algum mecanismo biológico no embrião agiram de forma a preservar estruturas, com resolução parcial ou total da falha embriológica;
- Os indivíduos com os quadros mais leves, ou seja, de microformas de fissuras tanto pré como pós-forame incisivo, destacados da amostra total deste estudo, podem constituir um grupo alvo de investigações sobre os mecanismos genéticos que atuam no processo de cicatrização fetal e/ou de coalescência das proeminências faciais.

Dessa forma, os resultados obtidos pelo presente estudo, além de ampliar o conhecimento das fissuras orofaciais, indicaram que os grupos etiológicos e a diversidade morfológica, hoje observados, devem ser reconsiderados a partir dos novos conhecimentos biológicos. Investigações de expressão gênica ou de epigenética poderiam ser conduzidos para esclarecer os pontos levantados neste estudo.

referências

8 Referências

Al-Omari F, Al-Omari IK. Cleft lip and palate in Jordan: birth prevalence rate. *Cleft Palate Craniofac J*. 2004;41(6):609-12.

Avery JK (coord). *Fundamentos de histologia e embriologia bucal*. 2ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 2001. 200p.

Baroneza JE, Faria MJSS, Kuasne H, Carneiro JLV, Oliveira JC. Dados epidemiológicos de fissuras labiopalatinas de uma instituição especializada de Londrina, Estado do Paraná. *Acta Sci Health*. 2005;27(1):31-5.

Bellis TH, Wohlgemuth B. The incidence of cleft lip and palate deformities in the south-east of Scotland (1971 - 1990). *BR J Orthod*. 1999;26(2):121-5.

Beriaghi S, Myers SL, Jensen AS, Kaimal S, Chan CM, Schaefer GB. Cleft lip and palate: association with other congenital malformation. *J Clin Pediatr Dent*. 2009;33(3):207-10.

Berkovitz BKB, Holland GR, Moxham BJ. *Anatomia, Embriologia e Histologia Bucal*, 3ed. Porto Alegre: Artmed, 2004. 378p.

Bille C, Skytthe A, Vach W, Knudsen LB, Andersen AM, Murray JC. Parent's age and the risk of oral clefts. *Epidemiology*. 2005;16(3):311-6.

Bullard KM, Longaker MT, Lorenz HP. Fetal wound healing: current biology. 2003;27(1):54-61.

Calzolari E, Pierini A, Astolfi G, Bianchi F, Neville AJ, Rivieri F. Associated anomalies in multi-malformed infants with cleft lip and palate: Na epidemiologic study of nearly 6 million births in 23 EUROCAT registries. *AM J Med Genet A*. 2007;143(6):528-37.

Carstens MH. The spectrum of minimal clefting: process-oriented cleft management in the presence of an intact alveolus. *J Craniofac Surg*. 2000;11:270-94

Castilla EE, Martínez-Frías ML. Congenital healed cleft lip. *AM J Med Genet*. 1995;58(2):106-12

Castro-Combs J, Noguera G, Cano M, Yew M, Gehlbach PL, Palmer J, Behrens A. Corneal wound healing is modulated by topical application of amniotic fluid in an ex vivo organ culture model. *Exp Eye Res.* 2008;87(1):56-63.

Carinci F, Scapoli L, Palmieri A, Zollino I, Pezzetti F. Human genetic factors in nonsyndromic cleft lip and palate: an update. *Int J Ped Otor.* 2007;71(10):1509-19.

Carstens MH. The spectrum of minimal clefting: process oriented cleft management in the presence of intact alveolus. *J Craniofac Surg.* 2000;11(3):270-94.

Cerny R, Lwigale P, Ericsson R, Meulemans D, Hans-Henning E, Bronner-Fraser, M. Developmental origins and evolution of jaws: new interpretation of “maxillary” and “mandibular”. *Dev Biol.* 2004;276(1):225-36.

Cervenka J, Gorlin RJ, Anderson VE. The syndrome of pits of the lower lip and cleft lip and/or palate: genetic considerations. *Am J Hum Genet.* 1967;19(2):416-32.

Chen W, Fu X, Ge S, Sun T, Zhou G, Jiang D, Sheng Z. Ontogeny of expression of transforming growth factor-beta and its receptors and their possible relationship with scarless healing in human fetal skin. *Wound Repair Regen.* 2005;36(2):96-104.

Cheng J, Yu H, Deng S, Shen G. MicroRNA profiling in mid- and late-gestacional fetal skin: implication for scarless wound healing. *Tohoku J Exp.* 2010;221(3):203-9.

Christensen K. The 20th century Danish facial cleft population: epidemiological and genetic-epidemiological studies. *Cleft Palate Craniofac J.* 1999;36(2):96-104.

Clouthier DE. MicroRNAs in facial development. *Nat Genet.* 2008;40(3):268-9.

Cobourne MT. Construction for the modern head: current concepts in craniofacial development. *J Orthod.* 2000;27(4):307-14.

Cohen M. The child with multiple birth defects. 2th ed. Oxford: University Press; 1997. p3-14.

Colwell AS, Longaker MT, Lorenz HP. Fetal wound healing. *Front Biosci.* 2003; 8:1240–8

Coolen NA, Schouten KCWM, Middelkoop E, Ulrich MMW. Comparison between human fetal and adult skin. *Arch Dermatol Res.* 2010;302(1):47–55.

Cooper ME, Stone RA, Liu Y, Hu DN, Melnick M, Marazita ML. Descriptive epidemiology of nonsyndromic cleft lip with or without cleft palate in Shanghai, China, from 1980 to 1989. *Cleft Palate Craniofac J*. 2000;37(3):274-80.

Coutinho ALF, Lima MC, Kitamura MAP, Pereira RM. Perfil epidemiológico dos portadores de fissuras orofaciais atendidos em um centro de referência do nordeste do Brasil. *Rev. Bras. Saúde Matern. Infant*. 2009;9(2):149-56.

Dai L, Zhu J, Mao M, Li Y, Deng Y, Wang Y, Liang J, Tang L, Wang H, Kilfoy BA, Zheng T, Zhang Y. Time trends in oral clefts in Chinese newborns: data from the Chinese National Birth Defects Monitoring Network. *Birth Defects Res A Clin Mol Teratol*. 2010;88(1):41-7.

Dang C, Ting K, Soo C, Longaker MT, Lorenz HP. Fetal wound healing current perspectives. *Clin Plast Surg*. 2003;30(1):13-23.

Das SK, Runnels RS, Smith JC, Cohly HH. Epidemiology of cleft lip and cleft palate in Mississippi. *South Med J*. 1995;88(4):437-42.

Duarte R, Leal MJ. Leque das malformações congénitas associadas às fissuras lábio alvéolo palatinas. *Acta Med Port*. 1999;12(4-6):147-54.

Eberhart JK, He X, Swartz ME, Yan YL, Song H, Boling TC, Kunerth AK, Walker MB, Kimmel CB, Postlethwait JH. MicroRNA Mirn140 modulates Pdgf signaling during palatogenesis. *Nat Genet* 2008;40(3):290-8.

Embryo Images: normal and abnormal mammalian development [Internet homepage]. Chapel Hill: University of North Carolina School of Medicine; 1998 [acesso em 6 setembro 2010]. Disponível em: http://www.med.unc.edu/embryo_images.

Ferguson CA, Tucker AS, Sharpe PT. Temporospatial cell interactions regulating Mandibular and mazillary arch patterning. *Development*. 2000;127(2):403-12.

Fleischmannova J, Matalova E, Sharpe PT, Misek I, Radlanski RJ. Formation of the tooth-bone interface. *J Dent Res*. 2010;89(2):108-15.

Fogh-Andersen, P. Inheritance of harelip and cleft palate. Busck: Copenhagen. 1942.

_____. Epidemiology and etiology of clefts. *Birth Def*. 1971;7(7):50-3.

França CMC, Locks A. Incidência das fissuras lábio-palatinas de crianças nascidas na cidade de Joinville (SC) no período de 1994 a 2000. *J. Bras. Ortodon. Ortop. Facial.* 2003;8(47):429-36.

González BS, López ML, Rico MA, Garduño F. Oral clefts: a retrospective study of prevalence and predisposal in the State of Mexico. *J Oral Sci.* 2008;50(2):123-9.

Gorlin RJ, Cohen MM, Hennekam RCM. *Syndromes of the head and neck.* 4th ed. Oxford: University Press; 2001. p850-76.

Gregg TA, Leonard AG, Hayden C, Howard KE, Coyle CF. Birth prevalence of cleft lip and palate in Northern Ireland (1981 to 2000). *Cleft Palate Craniofac J.* 2008;45(2):141-7.

Griffiths-Jones S, Saini HK, van Dongen S, Enright AJ. miRBase: tools for microRNA genomics. *Nucleic Acids Res.* 2008;36(Database issue):D154-8.

Haque FN, Gottesman II, Wong AH. Not really identical: epigenetic differences in monozygotic twins and implications for twin studies in psychiatry. *Am J Med Genet C.* 2009;151C(2):136-41.

Harville EW, Wilcox AJ, Lie RT, Vindenes H, Abyholm F. Cleft lip and palate versus cleft lip only: are they distinct defects? *Am J Ep.* 2005;162(5):448-53.

He X, Eberhart JK, Postlethwait JH. MicroRNAs and micromanaging the skeleton in disease, development and evolution. *J Cell Mol Med.* 2009;13(4):606-18.

Hesketh T, Xing ZW. Abnormal sex ratios in human populations: causes and consequences. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2006;103(36):13271-5.

Hill M. UNSW Embryology: An educational resource for learning concepts in embryological development [Internet homepage]. Sydney: The University of New South Wales; 1997 [atualizada em 11 agosto 2010; acesso em 6 setembro 2010]. Disponível em: <http://embryology.med.unsw.edu.au>.

Hu D, Marcucio RS. Unique organization of the frontonasal ectodermal zone in birds and mammals. *Dev Biol.* 2009;325(1):200-10.

Jehee FS, Burin BA, Rocha KM, Zechi-Ceide R, Bueno DF, Brito L, Souza J, Leal GF, Richieri-Costa A, Alonso N, Otto PA, Passos-Bueno MR. Novel mutations in IRF6 in nonsyndromic cleft lip with or without cleft palate: when should IRF6 mutational screening be done? *Am J Med Genet.* 2009;149A(6):1319-22.

Jin JZ, Ding J. Analysis of Meox-2 mutant mice reveals a novel postfusion-based cleft palate. *Dev Dyn.* 2006;235(2):539-46.

Jugessur A, Farlie PG, Kilpatrick N. The genetics of isolated orofacial clefts: from genotypes to subphenotypes. *Oral Dis.* 2009;15(7):437-53.

Jugessur A, Murray JC. Orofacial clefting: recent insights into a complex trait. *Genet Dev.* 2005;15(3):270-8.

Jugessur A, Rahimov F, Lie RT, Wilcox AJ, Gjessing HK, Nilsen RM, et al. Genetic variants in IRF6 and the risk of facial clefts: single-marker and haplotype-based analyses in a population-based case-control study of facial clefts in Norway. *Genet Epidemiol.* 2008;32(5):413-24.

Kerimoğlu S, Livaoğlu M, Sönmez B, Yuluğ E, Aynaci O, Topbas M, Yazar S. Effects of human amniotic fluid on fracture healing in rat tibia. *J Surg Res.* 2009;152(2):281-287.

Kim S, Kim WJ, Oh C, Kim JC. Cleft lip and palate incidence among the live births in the Republic of Korea. *J Korean Med Sci.* 2002;17(1):59-52.

Kimani JW, Yoshiura K, Shi M, Jugessur A, Moretti-Ferreira D, Christensen K, Murray JC. Search for genomic alterations in monozygotic twins discordant for cleft lip and/or cleft palate. *Twin Res Hum Genet.* 2009;12(5):462-8.

Kitamura H. Evidence for cleft palate as a postfusion phenomenon. *Cleft Palate J.* 1991;28(2):195-211.

Kondo S, Schutte BC, Richardson RJ, Bjork BC, Knight AS, Watanabe Y, et al. Mutations in IRF6 cause van der Woude and popliteal pterygium syndrome. *Nat Genet.* 2002;32(2):285-9.

Kriens O. Documentation of cleft lip, alveolus and palate. In: *Multidisciplinary management of cleft lip and palate.* Saunders: Philadelphia, 1990:127-33.

Lanning DA, Diegelmann RF, Yager DR, Wallace ML, Bagwell CE, Haynes JH. Myofibroblast induction with transforming growth factor-beta1 and -beta3 in cutaneous fetal excisional wounds. *J Pediatr Surg.* 2000;35(2):183-8.

Lee SH, Bédard O, Buchtová M, Fu K, Richman JM. A new origin for the maxillary jaw. *Dev Biol.* 2004;276(1):207-24.

Leite ICG, Koifman S. Oral clefts, consanguinity, parental tobacco and alcohol use: a case-control study in Rio de Janeiro, Brazil. *Braz Oral Res.* 2009;23(1):31-7.

Li WY, Dudas M, Kaartinen V. Signaling through Tgf-b type I receptor Alk5 is required for upper lip fusion. *Mech Dev.* 2008;125(9-10):874-82.

Liascovich R, Rittler M, Castilla EE. Consanguinity in South America: demographic aspects. *Hum Hered.* 2001;51(1-2):27-34.

Lilius GP. Clefts with associated anomalies and syndromes in Finland. *Scand J Plast Reconstr Surg Hand Surg.* 1992;26(2):185-96.

Little J, Cardy A, Munder RG. Tobacco smoking and oral clefts: a meta-analysis. *Bull World Health Organ.* 2004;82(3):213-8.

Liu W, Sun X, Braut A, Mishina Y, Behringer RR, Mina M, Martin JF. Distinct functions for Bmp signaling in lipa and palate fusion in mice. *Development.* 2005;132(6):1453-61.

Loffredo LCM, Souza JMP, Freitas JAS, Mossey PA. Oral clefts and vitamin supplementation. *Cleft Palate Craniofac J.* 2001;38(1):76-83.

Mansilla MA, Kimani J, Mitchell LE, Christensen K, Boomsma DI, Daack-Hirsch S, Nepomucena B, Wyszynski DF, Felix TM, Martin NG, Murray JC. Discordant MZ twins with cleft lip and palate: a model for identifying genes in complex traits. *Twin Res Hum Genet.* 2005;8(1):39-46.

Marazita ML, Lidral AC, Murray JC, Field LL, Maher BS, McHenry TG, Cooper ME, Govil M, Daack-Hirsch S, Riley B, Jugessur A, Felix T, Moreno L, Mansilla MA, Vieira AR, Doheny K, Pugh E, Valencia-Ramirez C, Arcos-Burgos M. Genome scan, fine-mapping and candidate gene analysis of nonsyndromic cleft lip with or without cleft palate reveals phenotype specific differences in linkage and association results. *Hum Hered.* 2009;68(3):151-70.

Marçano AC, Doudney K, Braybrook C, Squires R, Patton MA, Lees MM, et al. TBX22 mutations are a frequent cause of cleft palate. 2004;41(1):68-74.

Martelli DR, Bonan PR, Soares MC, Paranaíba LR, Martelli-Junior H. Analysis of familial incidence of non-syndromic cleft lip and palate in Brazilian population. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal*. In press 2010.

Martelli-Júnior H, Porto LV, Martelli DRB, Bonan PRF, Freitas AB, Coletta RD. Prevalence of nonsyndromic oral clefts in a reference hospital in the state of Minas Gerais, Brazil, between 2000-2005. *Braz Oral Res*. 2007;21(4):314-7.

McLeod NM, Urioste ML, Saeed NR. Birth prevalence of cleft lip and palate in Cucre, Bolivia. *Cleft Palate Craniofac J*. 2004;41(2):195-8.

Menegotto BG, Salzano FM. Epidemiology of oral clefts in a large South American sample. *Cleft Palate Craniofac J*. 1991;28(4):373-7.

Meskin LH, Gorlin RJ, Isaacson RJ. Cleft uvula: a microform of cleft palate. *Acta Chir Plast*. 1966;8(2):91-6.

Milerad J, Larson O, Hagberg C, Ideberg M. Associated malformations in infants with cleft lip and palate: a prospective, population-based study. *Pediatr*. 1997;100(2):180-6.

Mitchell LE, Beaty TH, Lidral AC, Munger RG, Murray JC, Saal HM, et al. Guidelines for the design and analysis of studies on nonsyndromic cleft lip and palate in humans: summary report from a workshop of the international consortium for oral clefts genetics. *Cleft Palate Craniofac J*. 2002;39(1):93-100.

Mittwoch U. Different gene expressions on the left and the right: a genotype/phenotype mismatch in need of attention. *Ann Hum Genet*. 2008;72(Pt1):2-9.

Moore KL, Persaud TVN. Before we are born: essentials of embryology and birth defects. 5ed. Michigan: Saunders; 1998. 530p.

Mossey PA, Little J. Epidemiology of oral clefts: an international perspective. In: Wyszinski DF. *Cleft lip and palate: from origin to treatment*. Oxford: University Press; 2002. p127-58.

Munger RG. Maternal nutrition and oral clefts. In: Wyszinski DF. Cleft lip and palate: from origin to treatment. Oxford: University Press; 2002. p170-92.

Nagem-Filho H, Moraes N, Rocha RGF. Contribuição para o estudo da prevalência das más formações congênitas lábio-palatais na população escolar de Bauru. Rev Fac Odontol São Paulo. 1968;6(2):111-28.

Nawshad A, LaGamba D, Hay ED. Transforming growth factor beta (TGFbeta) signalling in palatal growth, apoptosis and epithelial mesenchymal transformation (EMT). Arch Oral Biol. 2004;49(9):675-89.

Nie X, Luukko K, Kettunen P. BMP signaling in craniofacial development. Int J Dev Biol. 2006;50(6):511-21.

Online Mendelian Inheritance in Man, OMIM (TM). McKusick-Nathans Institute for Genetic Medicine, Johns Hopkins University (Baltimore, MD) and National Center for Biotechnology Information, National Library of Medicine (Bethesda, MD), 2000. World Wide Web URL: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/omim>.

Opitz JM, Zanni G, Reynolds JF, Gilbert-Barness E. Defects of blastogenesis. Am J Med Genet. 2002;115(4):269-86.

Owens JR, Jones JW, Harris F. Epidemiology of facial clefting. Arch Dis Child. 1985;60(6):521-4.

Ozgenel GY, Filiz G. Effects of human amniotic fluid on peripheral nerve scarring and regeneration in rats. J Neurosurg. 2003;98(2):371-7.

Prescott NJ, Winter RM, Malcolm S. Nonsyndromic cleft lip and palate: complex genetics and environmental effects. Am Hum Genet. 2001;65(Pt6):505-15.

Rajabian MH, Sherkat M. An epidemiologic study of oral cleft in Iran. Cleft Palate Craniofac J. 2000;37(2):191-6.

Ranta R, Rintala A. Separate clefts of the lip and the palate. Scand J Plast Rec Surg. 1984;18(2):233-5.

Ranta R, Rintala AE. Correlations between microforms of the van der Woude syndrome and cleft palate. Cleft Palate Craniofac J. 1983;20(2):158-62.

Ribeiro LA, Queizi RG, Nascimento A, Bertolacini CP, Richieri-Costa A.. Holoprosencephaly and holoprosencephaly like phenotype and GAS1 DNA sequence changes: Report of four Brazilian patients. *Am J Med Genet A*. 2010;152A(7):1688-94.

Richieri-Costa A, Ribeiro LA. Holoprosencephaly and holoprosencephaly-like phenotypes: Review of facial and molecular findings in patients from a craniofacial hospital in Brazil. *Am J Med Genet C Semin Med Genet*. 2010;154C(1):149-157.

Riley BM, Mansilla MA, Ma J, Daack-Hirsch S, Maher BS, Raffensperger LM, et al. Impaired FGF signaling contributes to cleft lip and palate. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2007;104(11):4512-7.

Saad M, Ansari-Lari M, Farhud DD. Consanguineous marriage in Iran. *Ann Hum Biol*. 2004;31(2):263-9.

Saal HM. A prospective analysis of cleft palate: associated syndromes and malformations. In: XXXI David W. Smith Workshop on Morphogenesis and Malformations; 2000 August 9; San Diego.

_____. Classification and description of nonsyndromic clefts. In: Wyszinski DF. *Cleft lip and palate: from origin to treatment*. Oxford: University Press; 2002. p47-52.

Samuels P, Tan AK. Fetal scarless wound healing. *J Otolaryngol* 1999;28(5):296–302.

Sand M, Gambichler T, Sand D, Skrygan M, Altmeyer P, Bechara FG. MicroRNAs and the skin: tiny players in the body's largest organ. 2009;53(3):169-75.

Santiago G. Prevalência de fissura de palato submucosa no Hospital de Reabilitação de Anomalias Craniofaciais [dissertação]. Bauru: Hospital de Reabilitação de Anomalias Craniofaciais, Universidade de São Paulo; 2003.

Sarachana T, Zhou R, Chen G, Manji HK, Hu VW. Investigation of post-transcriptional gene regulatory networks associated with autism spectrum disorders by microRNA expression profiling of lymphoblastoid cell lines. *Genome Med*. 2010;2(4):23.

Scapoli L, Palmieri A, Martinelli M, Pezzetti F, Carinci P, Tognon M, et al. Strong evidence of linkage disequilibrium between polymorphisms at the IRF6 locus and nonsyndromic cleft lip with or without cleft palate, in an Italian population. *Am J Hum Genet*. 2005;76(1):180-3.

Seppala M, Depew MJ, Martinelli DC, Fan CM, Sharpe PT, Cobourne MT. Gas1 as a modifier for holoprosencephaly and genetically interacts with sonic hedgehog. *J Clin Invest.* 2007;117(6):1575-84.

Shapiro BL, Meskin LH, Cervenka J, Pruzansky, S. Cleft úvula: a microform of facial clefts and its genetic basis. *Birth Defects Orig Artic Ser.* 1971;7(7):80-2.

Shin KS, Lee YH, Lew JD. Cleft lip and cleft palate in Korea. 2422 cases in 20 years. *Yonsei Med J.* 1985;26(2):184-90.

Shprintzen RJ, Siegel-Sadewitz VL, Amato J, Goldberg RB. Anomalies associated with cleft lip, cleft palate, or both. *AM J Genet.* 1985;20(4):585-95.

Silva-Filho OG, Ferrari-Júnior FM, Rocha DL, Souza-Freitas JA. Classificação das fissuras lábio-palatais: breve histórico, considerações clínicas e sugestão de modificação. *Rev Bras Cir.* 1992;82(2):59-65.

Silva-Filho OG, Souza-Freitas JA. Caracterização morfológica e origem embriológica. In: Trindade IEK, Silva Filho OG (coord.). *Fissuras labiopalatinas: uma abordagem interdisciplinar.* São Paulo: Santos; 2007. p17-49.

Silva-Filho OG, Souza-Freitas JA, Okada T. Fissuras labiopalatais: diagnóstico e uma filosofia interdisciplinar de tratamento. In: Pinto VG (Coord). *Saúde bucal coletiva.* 4ed. São Paulo: Santos; 2000. p.481-527.

Soriano P. The PDGF alpha receptor is required for neural crest cell development and for normal patterning of the somites. *Development.* 1997;124(14):2691-700.

Souza JMP, Buchalla CM, Laurenti R. Estudo da morbidade e da mortalidade perinatal em maternidades. III-Anomalias congênitas em nascidos vivos. *Rev Saúde Pública* 1987;21(1):5-12.

Sperber GH. Palatogenesis: closure of the secondary palate. In: Wyszynski DF. *Cleft lip and palate: from origin to treatment.* Oxford: University Press; 2002. p14-24.

Sperber GH, Sperber SM, Guttman GD. Craniofacial embryogenetics and development. 2ed. PHPH-USA: Shelton; 2010. p.37-43.

Spina V, Psillakis JM, Lapa FS, Ferreira MC. Classificação das fissuras lábio-palatinas: sugestão de modificação. *Rev Hosp Clin Fac Med S. Paulo.* 1972;27(1):5-6.

Stoll C, Alembik Y, Dott B. Associated malformations in patients with oral clefts. *Am J Med Genet A*. 2007;143(20):2463-5.

Stoll C, Alembik Y, Dott B, Roth MP. Epidemiological and genetic study in 207 cases of oral clefts in Alsace, north-eastern France. *J Med Genet*. 1991;28(5):325-9.

Stoll C, Alembik Y, Dott B, Roth MP. Associated malformations in cases with oral clefts. *Cleft Palate Craniofac J*. 2000;37(1):41-7.

Sun Q, Zhang Y, Yang G, Chen X, Zhang Y, Cao G, et al. Transforming growth factor-beta-regulated miR-24 promotes skeletal muscle differentiation. *Nucleic Acids Res* 2008;36(8):2690-9.

Suzuki S, Marazita ML, Cooper ME, Miwa N, Hing A, Jugessur A, Natsume N, Shimozato K, Ohbayashi N, Suzuki Y, Niimi T, Minami K, Yamamoto M, Altannamar TJ, Erkhembaatar T, Furukawa H, Daack-Hirsch S, L'Heureux J, Brandon CA, Weinberg SM, Neiswanger K, Deleyiannis FWB, Salamanca JE, Vieira AR, Lidral AC, Martin JF, Murray JC. Mutations in BMP4 are associated with subepithelial, microform and overt cleft lip. *Am J Hum Genet*. 2009;84(3):406-11.

Ten Cate AR. Embryology of the head, face, and oral cavity. In: Ten Cate AR. *Oral histology: development, structure and function*. 5ed. St. Louis: Mosby; 1998:24-48.

_____. General embryology. In: *Oral histology: development, structure and function*. 5ed. St. Louis: Mosby. 6ed. St. Louis: Mosby; 2003:17-29.

Thaller SR, Lee TJ. Microform cleft lip associated with a complete cleft palate. *Cleft Palate Craniofac J*. 1995;32(3):247-50.

Tolarová M. Microforms of cleft lip and-or palate. *Acta Chir Plast*. 1969;11(2):96-107.

Tolarová MM, Cervenka J. Classification and birth prevalence of orofacial clefts. *Am J Med Genet*. 1998;75(2):126-37.

Trainor PA, Krumlauf R. Hox genes, neural crest cells and branchial arch patterning. *Curr Opin Cell Biol*. 2001;13(6):698-705.

Vallino-Napoli LD, Riley MM, Halliday J. An epidemiologic study of isolated cleft lip, palate or both in Victoria, Australia from 1983 to 2000. *Cleft Palate Craniofac J*. 2004;37(2):185-94.

van der Woude A. Fistula labii inferioris congenita and its association with cleft lip and palate. *Am J Hum Genet.* 1954;6(2):244-56.

Wilgus TA. Regenerative healing in fetal skin: a review of the literature. *Ostomy Wound Manage.* 2007;53(6):16-31.

Wilkie AO, Morriss-Kay GM. Genetics of craniofacial development and malformation. *Nat Rev Genet.* 2001;2(6):458-68.

Woolf CM. Congenital cleft lip. A genetic study of 496 propositi. *J Med Genet.* 1971;8(1):65-83.

Zeiger JS, Beaty TH. Gene-environmental interaction and risk to oral clefts. In: Wyszynski DF. *Cleft lip and palate: from origin to treatment.* Oxford: University Press; 2002. p283-9.

Zhang Z, Song Y, Zhang X, Tang J, Chen J, Chen Y. Msx1/Bmp4 genetic pathway regulates mammalian alveolar bone formation via induction of Dlx5 and Cbfa1. *Mech Dev.* 2003;120(120):1469-79.

Zucchero TM, Cooper ME, Maher BS, Daack-Hirsch S, Nepomuceno B, Ribeiro L, et al. Interferon regulatory factor 6 (IRF6) gene variants and the risk of isolated cleft lip or palate. *N Engl J Med.* 2004;351(8):769-80.

anexos

ANEXO 1:**DADOS PESSOAIS:**

Nome: _____

RG: _____ Data de nascimento: ____/____/____ Raça: _____

Sexo: M () F () Naturalidade: _____

Mãe: _____ Data Nasc.: ____/____/____

Idade na concepção: _____ Naturalidade: _____

Pai: _____ Data Nasc.: ____/____/____

Idade na concepção: _____ Naturalidade: _____

HISTÓRICO FAMILIAL:

() Recorrência () Consanguinidade () Gemelaridade

Heredograma: _____

DADOS GESTACIONAIS E PERINATAIS:

Intercorrências gestacionais: () não () sim: _____

Uso de medicamentos: () não () sim: _____

Uso de tabaco: () não () sim: _____

Uso de álcool: () não () sim: _____

Parto: () normal () cesáreo período gestacional: _____

Peso ao nasc.: _____ comprimento: _____ PC: _____

Condições de nascimento / Intercorrências perinatais: _____

Idade por ocasião da análise do prontuário/avaliação genético-clínica: _____

MEDIDAS ANTROPOMÉTRICAS:

Aferidas em: ____/____/____ idade na ocasião: _____

Peso: _____ Altura: _____ PC: _____

Outras medidas pertinentes: _____

CARACTERIZAÇÃO DA FISSURA:**PRÉ-FORAME:**

- UNILATERAL D E **completa** _____
 incompleta: f. cicatricial _____
 lábio _____
 lábio + arco _____

- BILATERAL D **completa** _____
 incompleta: f. cicatricial _____
 lábio _____
 lábio + arco _____
- E **completa** _____
 incompleta: f. cicatricial _____
 lábio _____
 lábio + arco _____

PÓS-FORAME:

- completa**
 incompleta: úvula sulcada _____
 1/2 palato mole _____
 palato mole _____
 palato duro parcial _____
 submucosa: _____
 diástase _____
 úvula _____
 entalhe ósseo _____

ANOMALIAS ASSOCIADAS:

- Lábio inferior: _____
- _____
- Craniofaciais: _____
- _____
- _____
- Pescoço, tórax e abdômen: _____
- _____
- _____
- Membros superiores e inferiores: _____
- _____
- _____
- Desenvolvimento neuro-psico-motor: _____
- _____
- _____
- Outras anomalias: _____
- _____
- _____
- DIAGNÓSTICO SÍNDROME:** _____

ANEXO 2**TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO**

Pelo presente instrumento, que atende às exigências legais, o sr.(a) _____

_____,
portador da cédula de identidade n.º _____, responsável pelo paciente

* _____, após leitura minuciosa deste documento e

após explicação de profissional em seus mínimos detalhes, ciente dos serviços e procedimentos aos quais será submetido, não restando quaisquer dúvidas a respeito do lido e explicado, firma seu CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO concordando em participar da pesquisa **“Fissura pré-forame incisivo uni/bilateral e fissura pós-forame incisivo associadas: estudo genético-clínico de indivíduos matriculados no HRAC-USP”**, realizada pela aluna Camila Wenceslau Alvarez (CRBio n.º 61222/01-D), sob orientação da Dra. Maria Leine Guion-Almeida (CRM 30253).

O presente estudo tem como objetivo descrever, sob aspecto genético-clínico, indivíduos matriculados no HRAC-USP que apresentem fissura pré-forame incisivo uni/bilateral e fissura pós-forame incisivo associadas, que apresentem ou não outras anomalias. Para isso os participantes responderão um questionário, aplicado pelo pesquisador, constituído de perguntas referentes ao quadro clínico do sujeito da pesquisa e antecedentes da família. Cada indivíduo participante deste estudo (ou seus responsáveis) será incluído somente mediante sua permissão, após serem informados dos objetivos da pesquisa.

De modo geral, a participação neste estudo não acarreta vantagens diretas e é pouco provável que o tratamento seja modificado. Contudo, a pesquisa poderá contribuir, no futuro, para o diagnóstico e aconselhamento genético de pessoas com fissuras labiopalatinas.

Os resultados deste estudo poderão ser divulgados, para fins científicos, em revistas e eventos especializados, incluindo o uso de imagens desde que a identidade do indivíduo seja preservada.

Caso o sujeito da pesquisa queira apresentar reclamações em relação a sua participação na pesquisa, poderá entrar em contato com o Comitê de Ética em Pesquisa em Seres Humanos, do HRAC-USP, pelo endereço Rua Silvio Marchione, 3-20 no Serviço de Apoio ao Ensino, Pesquisa e Extensão ou pelo telefone (14) 3235-8421.

Fica claro que o sujeito da pesquisa ou seu representante legal pode, a qualquer momento, retirar seu CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO e deixar de participar desta pesquisa e ciente de que todas as informações prestadas tornar-se-ão confidenciais e guardadas por força de sigilo profissional (Art. 20 do Código de Ética do Profissional Biólogo). Quaisquer novas informações, que possam afetar seu consentimento, serão informadas.

Por estarem de acordo assinam o presente termo.

Bauru-SP, _____ de _____ de _____.

assinatura do sujeito da pesquisa (ou responsável*)

* se o sujeito da pesquisa for menor de idade (< 21 anos).

assinatura do pesquisador

Pesquisador responsável: Camila Wenceslau Alvarez
Endereço institucional: Rua Silvio Marchione, 3-20, Bauru/SP
telefone: (14) 3235-8156 e-mail: alvarez@usp.br

CEP: 17012-900

ANEXO 3



Ofício nº 032/2009-SVAPEPE-CEP

Bauru, 02 de abril de 2009.

Prezado(a) Senhor(a)

O projeto de pesquisa encaminhado a este Comitê de Ética em Pesquisa em Seres Humanos, denominado ***"Fissura pré-forame incisivo uni/bilateral e fissura pós-forame incisivo associadas: estudo genético-clínico de indivíduos matriculados no HRAC-USP"***, de autoria de **CAMILA WENCESLAU ALVAREZ** desenvolvido sob sua orientação, foi enviado ao relator para avaliação.

Na reunião de **31 de março de 2009**, o parecer do relator **aprovando o projeto**, foi aceito pelo Comitê, considerando que não existem infrações éticas pendentes para início da pesquisa. Solicitamos a V.Sa. a gentileza de comunicar o parecer ao(à) pesquisador(a) e anexar o presente ofício ao projeto pois o mesmo será necessário para futura publicação do trabalho.

O(A) pesquisador(a) fica responsável pela entrega na SVAPEPE – Apoio ao Projeto de Pesquisa dos relatórios semestrais, bem como, comunicar ao CEP todas as alterações que possam ocorrer no projeto.

Informamos que após o recebimento do trabalho concluído, este Comitê enviará o parecer final para publicação.

Atenciosamente,

PROFA. DRA. IZABEL MARIA MARCHI DE CARVALHO
Coordenadora do Comitê de Ética em Pesquisa em Seres Humanos do HRAC-USP

Ilmo(a) Sr(a)

Dra. Maria Leine Guion-Almeida

Genética – HRAC/USP

Livros Grátis

(<http://www.livrosgratis.com.br>)

Milhares de Livros para Download:

[Baixar livros de Administração](#)

[Baixar livros de Agronomia](#)

[Baixar livros de Arquitetura](#)

[Baixar livros de Artes](#)

[Baixar livros de Astronomia](#)

[Baixar livros de Biologia Geral](#)

[Baixar livros de Ciência da Computação](#)

[Baixar livros de Ciência da Informação](#)

[Baixar livros de Ciência Política](#)

[Baixar livros de Ciências da Saúde](#)

[Baixar livros de Comunicação](#)

[Baixar livros do Conselho Nacional de Educação - CNE](#)

[Baixar livros de Defesa civil](#)

[Baixar livros de Direito](#)

[Baixar livros de Direitos humanos](#)

[Baixar livros de Economia](#)

[Baixar livros de Economia Doméstica](#)

[Baixar livros de Educação](#)

[Baixar livros de Educação - Trânsito](#)

[Baixar livros de Educação Física](#)

[Baixar livros de Engenharia Aeroespacial](#)

[Baixar livros de Farmácia](#)

[Baixar livros de Filosofia](#)

[Baixar livros de Física](#)

[Baixar livros de Geociências](#)

[Baixar livros de Geografia](#)

[Baixar livros de História](#)

[Baixar livros de Línguas](#)

[Baixar livros de Literatura](#)
[Baixar livros de Literatura de Cordel](#)
[Baixar livros de Literatura Infantil](#)
[Baixar livros de Matemática](#)
[Baixar livros de Medicina](#)
[Baixar livros de Medicina Veterinária](#)
[Baixar livros de Meio Ambiente](#)
[Baixar livros de Meteorologia](#)
[Baixar Monografias e TCC](#)
[Baixar livros Multidisciplinar](#)
[Baixar livros de Música](#)
[Baixar livros de Psicologia](#)
[Baixar livros de Química](#)
[Baixar livros de Saúde Coletiva](#)
[Baixar livros de Serviço Social](#)
[Baixar livros de Sociologia](#)
[Baixar livros de Teologia](#)
[Baixar livros de Trabalho](#)
[Baixar livros de Turismo](#)