

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL  
INSTITUTO DE BIOCÊNCIAS  
DEPARTAMENTO DE GENÉTICA  
BACHARELADO EM BIOTECNOLOGIA

**DIAGNÓSTICO DIFERENCIAL MOLECULAR NA SÍNDROME DA TALIDOMIDA  
FETAL**

Trabalho de Conclusão de Curso

**Alana Lopes**

Porto Alegre  
2022

## **DIAGNÓSTICO DIFERENCIAL MOLECULAR NA SÍNDROME DA TALIDOMIDA FETAL**

Trabalho de Conclusão de Curso de graduação apresentado ao Instituto de Biociências da Universidade Federal do Rio Grande do Sul como requisito para obtenção do grau de Bacharel em Biotecnologia com ênfase em Biologia Molecular.

**Alana Lopes**

**Orientador: Lavínia Schüler Faccini**

Porto Alegre  
2022

## CIP - Catalogação na Publicação

Lopes, Alana  
Diagnóstico Diferencial Molecular Na Síndrome Da  
Talidomida Fetal / Alana Lopes. -- 2022.  
35 f.  
Orientadora: Lavinia Schüler Faccini.

Trabalho de conclusão de curso (Graduação) --  
Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Instituto  
de Biociências, Curso de Biotecnologia: Biotecnologia  
Molecular, Porto Alegre, BR-RS, 2022.

1. Talidomida. 2. Pannel de Genes. 3. Embriopatia.  
4. Diagnóstico Diferencial. 5. Teratogênese. I.  
Schüler Faccini, Lavinia, orient. II. Título.

## AGRADECIMENTOS

Primeiramente, agradeço à minha orientadora Prof<sup>a</sup>. Dra. Lavínia Schüler Faccini, por toda paciência, incentivo e ensinamentos. Tenho certeza que não poderia ter escolhido melhor orientadora. Tu és inspiração para mim e para todos os alunos que querem continuar na ciência. Muito obrigada por tudo!

Agradeço à minha família por sempre acreditar em mim, me incentivando e me dando suporte durante todos estes anos. Vocês são tudo para mim!

E em especial, agradeço ao meu companheiro de vida William, por todo suporte e amor, sem os quais eu não teria conseguido. Te amo!

## Diagnóstico Diferencial Molecular na Síndrome da Talidomida Fetal

Trabalho de Conclusão de Curso de graduação apresentado ao Instituto de Biociências da Universidade Federal do Rio Grande do Sul como requisito para obtenção do grau de Bacharel em Biotecnologia com ênfase em Biologia Molecular.

Porto Alegre, 27 de Abril de 2022.

BANCA EXAMINADORA:

---

LAVÍNIA SCHULER FACCINI  
Universidade Federal do Rio Grande do Sul

---

MARÍNDIA DE PRÁ  
Universidade Federal do Rio Grande do Sul

---

JULIANO BOQUETT  
Universidade Federal do Rio Grande do Sul

## RESUMO

A talidomida é um medicamento que foi desenvolvido e comercializado no final da década de 1950, prescrito principalmente para enjôos em mulheres grávidas. Alguns anos depois de estar no mercado, descobriu-se que a droga tinha ação teratogênica. Mais de 10 mil crianças foram afetadas pelos efeitos teratogênicos do medicamento. Atualmente a talidomida é utilizada no tratamento de reações dermatológicas inflamatórias, como o Eritema Nodoso Hansênico (ENH), devido a suas importantes atividades anti-inflamatória e imunomoduladora. O conjunto de anomalias congênitas causado pela talidomida é conhecido como embriopatia por talidomida (TE) e inclui malformações de membros, principalmente a focomelia. Este fenótipo é comum a outras síndromes genéticas o que faz com que sejam frequentemente confundidas. Essa similaridade dificulta o diagnóstico diferencial e o aconselhamento genético entre essas síndromes, especialmente no Brasil, onde essa medicação ainda é causa de anomalias congênitas em recém-nascidos. O presente trabalho traz uma revisão da literatura sobre as síndromes mais semelhantes à TE e a identificação dos genes associados às mesmas, no intuito de elaborar um painel de genes para diagnóstico diferencial molecular na síndrome da talidomida fetal. Identificamos nove síndromes, as quais ocorrem sobreposição fenotípica da TE com defeitos de membros. A partir dessas síndromes, selecionamos 12 genes candidatos, verificando sua posição cromossômica e o número de éxons presentes na sequência. O conjunto de informações apresentadas neste trabalho pode auxiliar na melhor compreensão dos mecanismos moleculares envolvidos na ação desses genes, sendo também observado que diferentes síndromes podem compartilhar dos mesmos mecanismos moleculares. Futuramente uma abordagem *in silico*, a fim de traçar uma relação entre os genes estudados, pode nos trazer uma melhor compreensão sobre a atuação desses mecanismos. Dada a complexidade do diagnóstico de TE, esse painel de genes deve contribuir para o aconselhamento genético de pessoas acometidas por defeitos de redução de membros (DRM) e fundamentar o programa de indenização dos danos causados pelo medicamento.

**Palavras-chave:** Embriopatia, Talidomida, Focomelia, Teratogênese.

## ABSTRACT

Thalidomide is a medication that was developed and marketed in the late 1950's, primarily prescribed for nausea in pregnant women. A few years after being on the market it was discovered that the drug had teratogenic action. Over 10,000 children have been affected by the teratogenic effects of the medication. Nowadays, Thalidomide is used in the treatment of inflammatory dermatological reactions, such as Erythema Nodosum Leprosum (ENL), due to its important anti-inflammatory and immunomodulatory activities. The set of congenital anomalies caused by its ingestion is known as Thalidomide embryopathy (TE) and includes limb malformations, mainly phocomelia. This phenotype is common in other genetic syndromes leading to the frequent misdiagnosis of such syndromes. This similarity complicates the differential diagnosis and genetic counseling between these syndromes, especially in Brazil, where this medication is still the cause of congenital anomalies in newborns. This work presents a literature review of the most similar syndromes compared to TE and the identification of their associated genes in order to develop a gene panel for molecular differential diagnosis in fetal Thalidomide syndrome. We identified nine syndromes with overlapping TE phenotype with limb defects. Based on these syndromes, we selected 12 candidate genes, verified their chromosomal position and the number of exons present in their sequence. The set of information presented in this work can help in a better understanding of the molecular mechanisms involved in the activity of some of these genes and also observed that different syndromes share common molecular mechanisms. In future research, an *in silico* approach in order to trace a relationship between the genes studied may provide us with a better understanding of these mechanisms. Given the complexity of the TE diagnosis, this gene panel should contribute to the genetic counseling of people affected with limb reduction defects (LRD), and support the compensation program for the damage caused by the drug.

**Keywords:** Embryopathy, Thalidomide, Phocomelia, Teratogenesis

**SUMÁRIO**

<b>1. INTRODUÇÃO</b> .....	<b>10</b>
1.1. A Talidomida .....	10
1.2. Teratogênese e embriopatia por talidomida .....	11
1.3. Mecanismos Moleculares da Embriopatia por Talidomida .....	13
1.4. Usos Atuais da Talidomida .....	13
1.5. Diagnóstico Diferencial .....	15
<b>2. JUSTIFICATIVA</b> .....	<b>16</b>
<b>3. OBJETIVOS</b> .....	<b>17</b>
3.1. Objetivo Geral .....	17
3.2. Objetivos Específicos .....	17
<b>4. METODOLOGIA</b> .....	<b>18</b>
<b>5. RESULTADOS</b> .....	<b>19</b>
5.1. Síndromes com fenótipo semelhante à embriopatia por Talidomida	19
5.1.1. Síndrome de Roberts .....	19
5.1.2. Síndrome de Juberg-Hayward .....	20
5.1.3. Síndrome de Holt-Oram (HOS) .....	20
5.1.4. Tetra-amelia .....	21
5.1.5. Cornelia de Lange (CdLS) .....	21
5.1.6. Trombocitopenia e Ausência do Rádio (TAR) .....	21
5.1.7. Al-Awadi/Raas-Rothschild/Schinzal (AARRS) .....	22
5.1.8. Baller-Gerold .....	22
5.1.9. Okihiro / Ocular-Radial Ray Hypoplasia / Duane-Radial Ray Hypoplasia .....	23
<b>6. DISCUSSÃO</b> .....	<b>26</b>
<b>7. CONCLUSÃO</b> .....	<b>29</b>
<b>8. PERSPECTIVAS FUTURAS</b> .....	<b>29</b>
<b>9. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b> .....	<b>30</b>



**LISTA DE ABREVIACÕES**

**AARRS** Al-Awadi/Raas-Rothschild/Schinzel  
**AIDS** Síndrome da Imunodeficiência Adquirida  
**BGS** Síndrome Baller-Gerold  
**BMP4** *Bone morphogenetic protein 4*  
**CdLS** Síndrome Cornelia Lange  
**CRBN** *Cereblon*  
**CTNNB1** *Catenin Beta 1*  
**CUL4A** *Cullin 4A*  
**DDB1** *DNA-damage break protein 1*  
**DNA** Ácido desoxirribonucléico (*Deoxyribonucleic Acid*)  
**DRM** Defeitos de redução de membros  
**DSA** Defeito do septo atrial  
**ENH** Eritema Nodoso Hansênico  
**ESCO1** *Establishment of sister chromatid cohesion 1*  
**ESCO2** *Establishment of sister chromatid cohesion 2*  
**EUA** Estados Unidos da América  
**FDA** *Food and Drug Administration*  
**FGF8** *Fibroblast Growth Factor 8*  
**FGF10** *Fibroblast Growth Factor 10*  
**FGFR** *Fibroblast Growth Factor Receptor*  
**HS6ST1** *Heparan sulfate 6-O-sulfotransferase 1*  
**HS6ST3** *Heparan sulfate 6-O-sulfotransferase 3*  
**HOS** Síndrome Holt-Oram  
**LD50** Dose letal mediana (*Lethal Dose 50%*)  
**MSX1** *Msh homeobox 1*  
**NF-KB** Fator Nuclear Kappa-beta  
**NOS3** *Nitric Oxide Synthase 3*  
**OMIM** *Online Mendelian Inheritance in Man*  
**OMS** Organização Mundial da Saúde  
**RBM8A** *RNA Binding Motif Protein 8A*  
**RBS** Síndrome de Roberts

**RECQL4** *RecQ like helicase 4*

**ROS** Espécies Reativas de Oxigênio

**SALL4** *Spalt Like Transcription Factor 4*

**SHH** *Sonic hedgehog*

**SMC1** *structural maintenance of chromosomes 1A*

**SMC3** *structural maintenance of chromosomes 3*

**SNPs** Polimorfismo de nucleotídeo único (*Single nucleotide polymorphism*)

**TAR** Síndrome Trombocitopenia e Ausência de Rádio

**TBX5** *T-Box Transcription Factor 5*

**TE** Embriopatia por Talidomida

**TETAMS-1** Síndrome Tretaamelia 1

**TNF- $\alpha$**  Fator de Necrose Tumoral Alfa

**WNT3** *Wnt Family Member 3*

## 1. INTRODUÇÃO

### 1.1. A Talidomida

A talidomida ( $\alpha$ -ftalimida-glutarimida) foi sintetizada pela primeira vez em 1953 no laboratório da farmacêutica suíça Ciba. Três anos depois, em 1956, foi lançado ao mercado como sedativo “inteiramente atóxico” pela empresa alemã Chemie Grunenthal (Rajkumar, 2004). Com grande disseminação no mercado mundial da época, foi indicado para tratar uma variedade de doenças, como irritabilidade, dificuldade de concentração, ansiedade, insônia, náusea, hipertireoidismo, doenças infecciosas, dentre outras (Lenz, 1988; Saldanha, 1994). Devido a sua indicação como terapia à diversas enfermidades, a talidomida tornou-se muito atrativa, inclusive podendo ser adquirida sem a necessidade de prescrição médica (Lenz, 1988; Saldanha, 1994). O medicamento passou a ser fabricado e vendido em todo o mundo (Rajkumar, 2004) tendo ampla comercialização na Europa, Ásia e Américas, e com exceção aos Estados Unidos da América (EUA), país no qual não conseguiu sua aprovação pela agência reguladora do uso de fármacos e alimentos, a *Food and Drug Administration* (FDA). A aprovação não foi concedida em função dos potenciais indícios de indução de neurite irreversível pela droga, além dos poucos estudos quanto à segurança do seu uso (Matthews e McCoy, 2003). Estudo de toxicidade em roedores realizado na época, demonstrou que a talidomida era um medicamento com baixo risco de intoxicação e poucos efeitos colaterais. A dose letal (LD50) em animais não foi determinada, já que os níveis observados foram muito baixos (Shardein, 1993). Testes de teratogenicidade, todavia, não eram realizados, muito embora já fosse conhecido que várias substâncias químicas, inclusive aquelas com baixa toxicidade aguda em adultos, podiam causar danos ao feto (Lenz, 1988).

A partir de 1959, começaram os relatos médicos sobre o aumento da incidência de nascimentos, manifestando um tipo específico de malformação congênita, caracterizada por defeitos no desenvolvimento dos ossos longos dos membros, principalmente os superiores. Outras malformações observadas incluíam ausência de orelhas, surdez, defeitos na face e palato, e malformações do trato gastrointestinal (Oliveira et al., 1999). Em 1961 a talidomida foi retirada do mercado,

entretanto milhares de crianças já haviam sido afetadas, tendo adquirido tais distúrbios. Cerca de 12.000 recém-nascidos com malformações congênitas foram relacionados ao uso da talidomida (Fernández-Camacho e Leon-Dorantes, 2000; Moos et al., 2003) em 46 países, incluindo o Brasil (Borges e Fröelich, 2003).

O número de abortos em consequência ao uso da talidomida não foi relatado (Matthews e McCoy, 2003). Em alguns casos, a focomelia pode ser resultado da administração de uma única dose da droga no período crítico do desenvolvimento embrionário (Politi, 2000). Além disso, cerca de 40% dos indivíduos afetados morreram em seu primeiro ano de vida (Rajkumar, 2004). As malformações fetais devido ao uso de talidomida ocorrem quando a droga é administrada por gestantes entre os dias 35 a 49 após o último período menstrual.

Em 1964 um estudo demonstrou bons resultados da utilização da talidomida no tratamento de pacientes portadores de eritema nodoso hansênico em estágio avançado, passando a ser recomendada no tratamento da hanseníase pela Organização Mundial da Saúde (OMS) (Teo et al., 2005). A talidomida vem se mostrando eficaz no tratamento de diferentes doenças, com estudos apresentando seu potencial terapêutico anti-inflamatório, imunomodulador e antiangiogênico (Marriot et al., 1999; Calabrese e Fleischer, 2000; Borges e Fröelich, 2003; Moos et al., 2003; Kumar et al., 2004).

## 1.2. Teratogênese e embriopatia por Talidomida

A embriopatia por talidomida (TE, sigla do inglês *Thalidomide Embryopathy*) consiste em uma série de anomalias congênitas causadas pelo uso de talidomida durante a gravidez (Newman, 1986).

Alguns estudos com animais demonstraram diferentes respostas ao uso da talidomida. Embriões de camundongos e ratos se mostraram relativamente insensíveis a este agente, ao passo que, sua administração em embriões de coelhos e primatas não-humanos apresentou potencial teratogênico (Neubert et al., 1999; Berwanger et al., 2001). Em roedores, o fármaco apresenta baixa solubilidade no plasma, levando a uma deficiência no transporte do mesmo para os tecidos fetais e inibindo a teratogenicidade (Scialli, 1992).

A talidomida também possui especificidade tecidual, induzindo malformações apenas em alguns órgãos, por exemplo, o desenvolvimento do cérebro não apresenta alterações, já o coração é um alvo considerável e muitas das mortes observadas em crianças foram, provavelmente, devidas às malformações cardíacas (Neubert et al., 1999).

As malformações da TE são variáveis, podendo ser únicas ou múltiplas e envolvendo basicamente qualquer sistema do corpo. Geralmente os defeitos são bilaterais, não necessariamente simétricos e afetando membros opostos de forma desigual. Além disso, os membros superiores são predominantemente afetados (Vargesson, 2015).

Os membros inferiores e superiores têm deformações pré-axiais e intercalares, sendo as extremidades superiores geralmente acometidas por perda de dígitos e as inferiores por polidactilia (aumento no número de dedos) e sindactilia (dedos fusionados ou “colados”) (Newman, 1986; Berwanger et al., 2001).

A focomelia (membros curtos ou rudimentares) e a amelia (ausência total de membros) são as principais e mais comuns malformações relacionadas aos danos causados nas vítimas do uso da talidomida. Os defeitos de membros podem estar associados a anomalias em outros órgãos, e praticamente todos os órgãos do corpo podem ser afetados (Smithells e Newman, 1992). Malformações e/ou perda auditiva são muito comuns (Newman, 1986), assim como anormalidades oculares e neurológicas (Smithells, 1973). As anormalidades neurológicas mais comuns são surdez e paralisia de nervos faciais, tendo estudos demonstrado a presença de retardo mental em 6,7% dos indivíduos afetados (Miller e Strömmland, 1999). Dentre as anormalidades de órgãos internos, são frequentes as deformidades de laringe, traquéia e lobulação dos pulmões (Newman, 1986). Anomalias cardíacas incluem defeitos no septo ventricular, coarctação da aorta e Tetralogia de Fallot (Smithells e Newman, 1992), sendo a cardiopatia congênita muito frequente e principal causa de óbito destes indivíduos (Smithells, 1973).

As estimativas de taxa de mortalidade relacionadas a bebês com malformações decorrentes do uso de talidomida, estão entre 40 e 45% (Shardein, 1993). Anomalias renais, cardíacas, e do trato intestinal são as principais causas de morte, sendo menos comuns entre os sobreviventes devido à severidade (Smithells e Newman, 1992). Devido à maioria dos recém-nascidos vivos afetados pelo uso do

medicamento desenvolverem principalmente malformações dos membros, estas deformidades apresentam-se melhor documentadas.

### 1.3. Mecanismos Moleculares da Embriopatia por Talidomida

Os mecanismos responsáveis pela ação teratogênica da talidomida são complexos e ainda não estão completamente descritos. Estudos demonstram que o fármaco tem a capacidade de se ligar à proteína cereblon (CRBN) formando assim um complexo de E3 ubiquitina ligase com a proteína 1 de ligação a danos no DNA 1 (DDB1) e com a CUL4A (Cullin 4A), ambas importantes para o crescimento de membros e expressão do fator de crescimento de fibroblasto Fgf8 em *zebrafish* e galinha (Ito et al., 2010). Esta ligação prejudica o papel da ubiquitina ligase de marcar proteínas indesejadas para degradação pelo proteossomo, resultando em marcações indevidas. Além disso, o complexo formado também afeta a SALL4, outra importante proteína na via de desenvolvimento dos membros (Donovan et al. 2018; Matyskiela et al. 2018). Estudos *in silico* apontaram uma interação direta da talidomida com 33 proteínas, sendo a *Catenin Beta 1* (CTNNB1) e *Nitric Oxide Synthase 3* (NOS3) alguns dos componentes principais desta rede de interação (Kowalski et al., 2019). Segundo estudos, o fármaco também possui a capacidade de interagir com alvos já definidos, tais como, impedir em até 40% a ligação do TBX5 (um fator de transcrição com ação importante no desenvolvimento de membros e coração) ao DNA, quando presente (Khalil et al., 2017), e a receptores dos fatores de crescimento de fibroblasto (FGFRs), prejudicando sua expressão e função (Sundaresan et al., 2019). Sabe-se também que alguns indivíduos são mais suscetíveis aos efeitos teratogênicos da talidomida (Newman, 1986). Variantes em genes candidatos têm sido investigadas, apontando haplótipos no gene *NOS3* e uma variante em *CUL4A* como possíveis fatores de suscetibilidade (Vianna et al., 2013a; Kowalski et al., 2016), além disso, um efeito de soma de variantes no *CRBN* foi sugerido em pacientes com TE que apresentavam anomalias longitudinais pré-axiais nos membros (Kowalski et al., 2020).

#### 1.4. Usos Atuais da Talidomida

As observações acima relacionadas indicam que a talidomida é um potencial alvo no tratamento de diversas doenças, principalmente, devido ao seu efeito imunomodulador e antiangiogênico. Diversos ensaios clínicos já foram realizados com o uso terapêutico da talidomida, e os resultados mais promissores são em condições que apresentam altos níveis de TNF- $\alpha$ , condições em que TNF- $\alpha$  exerça importante papel fisiopatológico e em doenças dependentes de angiogênese. As principais indicações são em doenças dermatológicas, crônico-degenerativas, relacionadas à AIDS e diversos tipos de câncer (Miller e Strömmland, 1999; Oliveira et al., 1999; Borges e Fröhlich, 2003; Azulay, 2004; Penna et al., 2005). No Brasil, entretanto, a principal indicação de uso terapêutico da talidomida atualmente é o Eritema Nodoso da Hanseníase (ENH).

A hanseníase é uma infecção causada pela bactéria *Mycobacterium leprae* que acomete principalmente a pele e os nervos periféricos. Clinicamente, o ENH é caracterizado por nódulos dérmicos ou subcutâneos eritematosos, quentes, móveis e às vezes dolorosos, febre, adenomialgia, perda de peso, artralgia, mialgia, diminuição da função dos nervos periféricos por perda motora e sensorial, entre outras características que podem ser observadas antes, durante ou após o tratamento quimioterápico (Borges e Fröhlich, 2003; Penna et al., 2005).

O início da utilização da talidomida no tratamento do ENH foi em 1963, quando o dermatologista israelense Jacob Sheskin a receitou como sedativo para seis pacientes (Borges e Fröhlich, 2003; Klausner et al., 1996). Além de se mostrar um ótimo sedativo, os sinais e sintomas clínicos foram atenuados dramaticamente em 48 horas. A partir daí, Sheskin realizou de diversos estudos placebo-controlados e concluiu que a talidomida era responsável pela melhora clínica dos pacientes, entretanto sem ação bactericida nem cura da hanseníase. Mas foi somente na década de 1990 que o mecanismo de ação envolvido na melhora dos sintomas do ENH foram atribuídos, principalmente, à degradação dos altos níveis de TNF- $\alpha$  (Klausner et al., 1996; Sampaio et al., 1991). Em consequência desses estudos, hoje a talidomida é o fármaco de escolha para o tratamento do ENH, em diversos países, inclusive está aprovada pela FDA nos EUA desde 1998, onde ela nunca havia sido comercializada (Kathleen et al., 2006).

### 1.5. Diagnóstico Diferencial

O diagnóstico da TE é clínico, pois a talidomida não é um agente mutagênico e também não existe um biomarcador que evidencie sua presença ou ação na vida embrionária (Vianna et al., 2013b). Por outro lado, há uma série de condições genéticas cujo fenótipo morfológico se sobrepõe, ao menos parcialmente, à TE. Sendo assim, testes genéticos são indicados para o diagnóstico diferencial frente a um quadro clínico sugestivo de TE, especialmente nos casos onde não há comprovação de seu uso pela gestante no início da gravidez (Vianna et al., 2013b).



## 2. JUSTIFICATIVA

A embriopatia por talidomida (TE) é uma síndrome de origem teratogênica e suas principais características são os defeitos de redução de membros (DRM). Entretanto, DRM são anomalias relativamente frequentes na espécie humana, o que dificulta o diagnóstico diferencial e o aconselhamento genético de portadores de síndromes com essas características, principalmente no Brasil onde casos de TE são ainda registrados nos dias atuais. Portanto, o diagnóstico molecular e a identificação da variante causadora de síndromes com fenótipos semelhantes a TE é fundamental para o aconselhamento genético correto e o diagnóstico diferencial, visto que a ingestão de talidomida nem sempre pode ser confirmada.

### **3. OBJETIVOS**

#### **3.1. Objetivo Geral**

Identificar as síndromes mais semelhantes com a embriopatia por talidomida e os genes associados a esses fenótipos, no intuito de elaborar um painel de genes para diagnóstico diferencial.

#### **3.2. Objetivos Específicos**

- Revisar a literatura à procura de síndromes fenocópias da embriopatia por talidomida.
- Identificar os genes associados a estas síndromes para futura elaboração de um painel de sequenciamento de genes candidatos.

#### 4. METODOLOGIA

A revisão da literatura científica procurando por síndromes que tenham defeitos de redução de membros pré-axiais, amelia ou focomelia como anomalia presente foi realizada através do banco de dados do site PubMed (<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/>). PubMed é uma plataforma de busca da *National Library of Medicine* (NLM), que reúne registros da base de dados MEDLINE, com ênfase em artigos da área de biomedicina.

Os termos de busca foram “*phocomelia syndrome*” OR “*amelia syndrome*” OR “*limb reduction defect*” OR “*radial defect*”. Todos os artigos científicos que retornaram a partir desses termos de busca foram analisados. As buscas foram realizadas em março de 2022. Os dados moleculares das síndromes foram extraídos da biblioteca virtual OMIM - *Online Mendelian Inheritance in Man*® (<https://www.omim.org/>).

Em sequência foi feita a curadoria manual para avaliação das síndromes e genes candidatos ao painel. A curadoria manual foi feita pela Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Lavínia Schuler-Faccini que é médica geneticista com prática em dismorfologia clínica. As síndromes foram selecionadas a partir de sua prevalência na população e pela similaridade com a TE. Foram excluídas as síndromes que não preenchiam critérios para diagnóstico clínico de TE, como segue: unilateralidade (TE é bilateral), ausência de defeitos radiais ou pré-axiais, defeitos de redução transversos terminais (amputações). Finalmente foram excluídas síndromes que aparecem apenas uma vez na literatura e que são conhecidas como "síndromes privadas", àquelas limitadas a uma família ou a um paciente isolado e sem variantes patogênicas associadas a um gene candidato.

## 5. RESULTADOS

A partir dos termos de busca, foram encontrados 665 artigos e dentre esses, inicialmente, 20 síndromes malformativas foram selecionadas (Tabela 1). Após curadoria, nove síndromes e seus respectivos genes associados foram escolhidos como possíveis candidatos para o painel (Tabela 2).

### 5.1. Síndromes com fenótipo semelhante à embriopatia por talidomida

#### 5.1.1. Síndrome de Roberts

A síndrome de Roberts-SC (RBS) é uma doença autossômica recessiva rara causada por mutação homozigótica no gene *Establishment of sister chromatid cohesion 2 (ESCO2)* localizado no cromossomo 8p21.1. Se caracteriza clinicamente por retardo de crescimento de início pré-natal que continua no período pós-natal, malformações de extremidades, anomalias craniofaciais, desenvolvimento intelectual prejudicado e anomalias cardíacas e renais. O primeiro relato surgiu em 1919 quando o Dr. John B. Roberts reportou as principais anomalias de um caso de dois irmãos: fenda labiopalatina bilateral, protrusão da porção intermaxilar da mandíbula superior e desenvolvimento imperfeito dos quatro membros, com consanguinidade parental (Freeman et al., 1974). O retardo de crescimento de início pré-natal pode ser leve a grave. Os membros superiores são mais acometidos do que os inferiores, onde se observam variações desde tetrafocomelia (redução simétrica do membro) até hipomelia decorrentes do encurtamento mesomélico. Contraturas de cotovelo e joelho, redução do número e comprimento dos dedos, aplasia e hipoplasia do polegar e clinodactilia também podem ser observadas. Pacientes gravemente afetados podem morrer durante a gravidez ou no período neonatal, enquanto pacientes levemente afetados atingirão a idade adulta (Goh et al., 2010; Sezer et al., 2019 ).

A doença é causada por mutações no gene *ESCO2* (8p21.1), que codifica uma proteína pertencente à família Eco1/Ctf7 das acetiltransferases, envolvida no estabelecimento da coesão das cromátides irmãs durante a fase S. As mutações no gene *ESCO2* levam a atraso na divisão celular, aumento da morte celular e

compromisso da proliferação celular. A perda de células progenitoras durante a embriogênese é provavelmente responsável pelas anomalias do desenvolvimento observadas na RBS (Gordillo et al., 2008).

#### 5.1.2. Síndrome de Juberg-Hayward

A síndrome de Juberg-Hayward é uma síndrome genética rara caracterizada por fenda labial e fenda palatina, microcefalia, ptose, baixa estatura, hipoplasia ou aplasia dos polegares, luxação da cabeça do rádio e fusão do úmero e rádio, causada por mutação homozigótica no gene *ESCO2* no cromossomo 8p21.1. As anormalidades no braço levam à restrição de movimento no cotovelo (Juberg e Hayward, 1969).

O padrão de transmissão da síndrome de Juberg-Hayward indica fortemente herança autossômica recessiva. Os estudos mais recentes identificaram homozigose para mutação *nonsense* no gene *ESCO2* e os testes citogenéticos mostraram separação prematura do centrômero ou falta de coesão nas regiões heterocromáticas centroméricas, o que significa que provavelmente esta síndrome possa representar uma forma fenotípica da síndrome de Roberts (Kantaputra et al., 2020).

#### 5.1.3. Síndrome de Holt-Oram (HOS)

A síndrome de Holt-Oram (HOS) foi descrita por Holt e Oram (Londres, 1960) (Hurst et al., 1991). Causada por mutação heterozigótica no gene *TBX5* no cromossomo 12q24, é uma doença autossômica dominante caracterizada por anormalidades dos membros superiores e cintura escapular, associada a uma lesão cardíaca congênita. A combinação típica é considerada um polegar trifalângico com um defeito do septo atrial (DSA) secundum, mas há uma grande variação na gravidade das lesões cardíacas e esqueléticas (McDermott, 1993).

HOS é causada por mutações no gene *TBX5* e é expresso principalmente no tecido embrionário superior do coração. Embora o gene *TBX5* seja responsável pela maioria dos casos de HOS, a taxa de mutação em casos esporádicos e atípicos

pode ser subestimada devido à heterogeneidade genética da síndrome, a qual pode levar a um falso diagnóstico (Porto et al., 2010).

#### 5.1.4. Tetra-amelia

A síndrome de tetraamélia-1 (TETAMS1) é causada por mutação no gene *Wnt Family Member 3 (WNT3)* no cromossomo 17q21 e de herança autossômica recessiva. A síndrome de tetra-amelia-1 é caracterizada por agenesia completa dos quatro membros, mas geralmente sem defeitos de escápulas ou clavículas. Outras características incluem fissura labiopalatina bilateral, defeito diafragmático com pulmão direito bilobar, agenesia renal e adrenal, hipoplasia pélvica e defeitos urogenitais (Niemann et al., 2004).

#### 5.1.5. Cornelia de Lange (CdLS)

A síndrome de Cornelia de Lange (CdLS) foi descrita em 1933 por uma pediatra francesa de mesmo nome e apresenta malformação multissistêmica reconhecida principalmente com base no dismorfismo facial característico, incluindo linha de cabelo anterior baixa, sobrancelhas arqueadas, sinofris, narinas antevertidas, prognatismo maxilar, filtro longo, lábios finos e boca 'carpa', em associação com restrição de crescimento pré-natal e pós-natal, deficiência intelectual e, em muitos casos, anomalias de membros superiores (Kline et al., 2018). No entanto, existe uma ampla variabilidade clínica neste distúrbio, com fenótipos mais leves que podem ser difíceis de determinar com base nas características físicas.

A forma clássica da síndrome de Cornelia de Lange-1 (CDLS1) é causada por mutação heterozigótica no gene *NIPBL*, que codifica um componente do complexo coesina, e está mapeado no cromossomo 5p13. Outros genes como *Structural Maintenance Of Chromosomes 1A (SMC1A)* e *Structural Maintenance Of Chromosomes (SMC3)* estão envolvidos em outras formas da CdLS e atualmente estão agrupadas com o termo genérico mais amplo chamado "coesinopatias" (Kline et al., 2018).

#### 5.1.6. Trombocitopenia e Ausência do Rádio (TAR)

A síndrome Trombocitopenia e Ausência do Rádio (TAR) é caracterizada pela redução do número de plaquetas e ausência do rádio. A preservação do polegar distingue a TAR de outras síndromes que combinam anormalidades sanguíneas com ausência do rádio, como a anemia de Fanconi (Shaw & Oliver, 1959). Indivíduos com TAR têm baixo número de megacariócitos, células precursoras de plaquetas que residem na medula óssea, e frequentemente apresentam episódios hemorrágicos no primeiro ano de vida que diminuem em frequência e gravidade com a idade (Homans et al., 1988). A gravidade das anomalias esqueléticas varia desde a ausência de raios até a ausência virtual dos membros superiores, com ou sem defeitos nos membros inferiores, como malformações do quadril e joelho (Albers et al., 2012).

A síndrome TAR é causada por heterozigosidade composta para uma mutação nula rara envolvendo o gene *RNA Binding Motif Protein 8A (RBM8A)* no cromossomo 1q21 em 1 alelo (deleção de 200 kb envolvendo pelo menos 10 genes, frameshift ou terminação prematura) e 1 de 2 polimorfismos de nucleotídeo único (SNPs) em *RBM8A*, no outro alelo (Albers et al., 2012).

#### 5.1.7. Al-Awadi/Raas-Rothschild/Schinzel (AARRS)

Descrita inicialmente em 1985 em um estudo de caso de irmãos nascidos de casamento consanguíneo (Al-Awadi, 1985), a síndrome de focomelia Al-Awadi/Raas-Rothschild/Schinzel é causada por mutação homozigótica no gene *WNT7A* no cromossomo 3p25 (Kantaputra et al., 2010).

A síndrome de focomelia de Al-Awadi/Raas-Rothschild/Schinzel (AARRS) é uma doença autossômica recessiva rara caracterizada por malformações graves dos membros superiores e inferiores com pelve gravemente hipoplásica e genitália anormal. Acredita-se que o distúrbio represente um defeito de padronização dorsoventral e crescimento dos membros (Kantaputra et al., 2010).

#### 5.1.8. Baller-Gerold

As características da síndrome de Baller-Gerold são craniossinostose e aplasia radial (Galea e Tolmie, 1990). Os casos relatados como síndrome de Baller-Gerold têm sobreposição fenotípica com vários outros distúrbios, incluindo a síndrome de Saethre-Chotzen (Gripp et al., 1999).

Descrita por F. Baller, no ano de 1950 e, posteriormente, por M. Gerold, no ano de 1959 (Baller, 1950; Gerold, 1959), a síndrome de Baller-Gerold é causada por mutação homozigótica ou heterozigótica composta no gene *RecQ like helicase 4* (*RECQL4*) no cromossomo 8q24.3 (Dietschy et al., 2007).

#### 5.1.9. Okihiro / Ocular-Radial Ray Hypoplasia / Duane-Radial Ray Hypoplasia

Os primeiros relatos das associações das anomalias da Síndrome de Okihiro foram feitos no início do século XX por Crisp (1918), Mennerich (1923) e Gifford (1926). A terminologia de Síndrome de Okihiro foi proposta por Hayes et al. (1985), mas também é chamada de Síndrome de Duane de Raio Radial ou Síndrome de DR, proposta por Temtamy (1986) (Kriek, 2020). A síndrome de Okihiro se caracteriza por defeitos radiais unilaterais ou bilaterais associados a anomalia de Duane (distúrbio congênito da motilidade ocular, causando estrabismo). Outras anormalidades comuns são anomalias cardíacas, renais, vertebrais, de membros inferiores, anomalias faciais, perda auditiva neurossensorial, atresia anal e distúrbios pigmentares. Tem herança autossômica dominante, com expressividade variável inter e intra-familiar e penetrância reduzida (Hayes et al., 1985; Al-Baradie et al., 2002; Alves et al., 2016), sendo em alguns casos tão leves que não chegam a ser diagnosticados (Hayes et al., 1985). Sua prevalência é desconhecida. Os diferentes nomes (Hipoplasia Ocular-Radial e Hipoplasia-Radial com Anomalia de Duane) são anteriores à identificação do gene responsável, o *Spalt Like Transcription Factor 4* (*SALL4*), que reuniu todas em uma única condição clínica (Kohlhase et al., 2002).

Kohlhase et al. (2002) e Al-Baradie et al. (2002) identificaram variantes no gene *SALL4* como causadoras da Síndrome de Okihiro. Esse gene possui quatro éxons e codifica um fator de transcrição de 1056 aminoácidos com oito motivos de dedo de zinco (Al-Baradie et al., 2002; Kohlhase et al., 2002). A proteína *SALL4* desempenha um papel importante durante o desenvolvimento embrionário,



interagindo com diferentes proteínas, tais como SALL1, TBX4 e TBX5 (Alves et al., 2016). Acredita-se que a Síndrome de Okihiro acontece por haploinsuficiência de SALL4 (Alves et al., 2016).

**Tabela 1.** Síndromes com redução de membros pré-axiais, amelia ou focomelia como anomalia presente.

<b>SÍNDROME</b>	<b>GENE</b>
Roberts syndrome	<i>ESCO2</i>
Holt-Oram	<i>TBX5</i>
Tetra-amelia	<i>WNT3, HS6ST1 e HS6ST3</i>
Sirenomelia	<i>NKD1</i>
Cornelia de Lange (CdLS)	<i>NIPBL, SMC1A, SMC3</i>
Thrombocytopenia-absent radius (TAR)	<i>RBM8A</i>
Al-Awadi/Raas-Rothschild/Schinzal (AARRS)	<i>WNT7, WNT7A</i>
Nager e Rodriguez	<i>SF3B4</i>
Baller-Gerold	<i>RECQL4</i>
Langer-Giedion	<i>TRPS1, EXT1</i>
Laurin-Sandrow	<i>SHH</i>
Tibial hemimelia-polydactyly-five-fingered hand	<i>SHH</i>
Juberg-Hayward	<i>ESCO2</i>
Schinzal	<i>SETBP1</i>
Voss-Cherstvoy	*
Lethal Cenani Lenz	<i>LRP4</i>
Jancar syndrome	*
Diastrophic dysplasia	<i>SLC26A2</i>
Robinow syndrome	<i>ROR2</i>
Okihiro / Ocular-Radial Ray Hypoplasia / Duane-Radial Ray Hypoplasia	<i>SALL4</i>

Fonte: Dados coletados do banco de dados do PUBMED, 2022. \*gene(s) relacionado à síndrome ainda não descrito na literatura.

**Tabela 2.** Genes candidatos para ao painel após curadoria.

<b>SÍNDROME</b>	<b>GENE</b>	<b>Nº DE ÉXONS</b>	<b>POSIÇÃO CROMOSSÔMICA</b>
Roberts syndrome	<i>ESCO2</i>	14	8p21.1
Juberg-Hayward	<i>ESCO2</i>	14	8p21.1
Holt-Oram	<i>TBX5</i>	10	12q24.21
Tetra-amelia	<i>WNT3</i>	5	17q21.31-q21.32
Cornelia de Lange (CdLS)	<i>SMC1A</i>	26	Xp11.22
	<i>SMC3</i>	29	10q25.2
	<i>NIPBL</i>	49	5p13.2
Thrombocytopenia-absent radius (TAR)	<i>RBM8A</i>	6	1q21.1
Al-Awadi/Raas-Rothschild/Schinzel (AARRS)	<i>WNT7A</i>	6	3p25.1
Baller-Gerold	<i>RECQL4</i>	21	8q24.3
Okihiro / Ocular-Radial Ray Hypoplasia / Duane-Radial Ray Hypoplasia	<i>SALL4</i>	8	20q13.2

Fonte: Dados extraídos da biblioteca virtual OMIM, 2022

## 6. DISCUSSÃO

Mais de 60 anos após a tragédia da talidomida novos casos ainda são descritos, visto que o medicamento continua no mercado utilizado no tratamento da hanseníase. Apesar da regulamentação para o seu uso ser bastante restrita, são milhões de pílulas de talidomida distribuídas todos os anos, pois a hanseníase é uma doença que acomete populações mais pobres, em áreas onde o cuidado com a saúde é inadequado. O Brasil é um dos países com maior número de casos de hanseníase no mundo (Moro, 2017). Reconhecer a ligação entre defeitos congênitos e uso de medicamentos propicia uma melhor abordagem clínica, terapêutica e, conseqüentemente, auxilia no estabelecimento de um melhor prognóstico e medidas de prevenção.

Novas tecnologias e bancos de dados mais completos surgem a cada dia, nos auxiliando a entender mais detalhadamente a TE e distingui-la de outras síndromes fenotipicamente semelhantes. O conhecimento das rotas metabólicas e ação dos genes envolvidos nestas síndromes pode também auxiliar na compreensão dos processos moleculares de teratogênese da talidomida.

A identificação dos "alvos moleculares" ou vias alteradas pela talidomida pode ser um caminho para o desenho de uma molécula efetiva terapeuticamente e segura para o embrião. Até o momento tais alvos não foram identificados completamente, mas muitos avanços têm sido realizados nesta área nas últimas décadas.

As hipóteses postuladas que possuem maior confiabilidade científica são as testadas em modelos animais bem estabelecidos (coelhos, galinhas e *zebrafish*) e baseadas em três fenômenos principais: formação de espécies de oxigênio reativo (ROS), mecanismo anti-angiogênico e ligação à proteína Cereblon (Crbn) (Vargesson, 2009; Therapontos et al., 2009; Ito et al., 2010, 2011, 2012).

A talidomida induz oxidação no DNA de embriões de coelhos expostos intra-útero à molécula, sendo um dos indicativos a formação de 8-OH-dG, produto da oxidação do DNA levando a formação de ROS. (Parman et al., 1999). Aliado a isso, existe a hipótese de que a formação de ROS diminuiria a capacidade do fator nuclear kappa-beta (NF-KB), um fator de transcrição sensível a redox e regulador do crescimento dos membros, de se ligar ao promotor dos seus genes alvos, diminuindo assim sua expressão. Exemplos de genes regulados por NF-KB são o

fator de crescimento do fibroblasto 10 (FGF10), *msh homeobox 1 (MSX1)*, *twist (TWIST)*, *sonic hedgehog (SHH)* entre outros que são essenciais para o crescimento dos membros. A diminuição da expressão desses genes ocasionaria um distúrbio na regulação no *feedback* com outros genes, como por exemplo supressão da expressão de FGF8 e superexpressão de proteínas morfogenéticas ósseas 4 (BMP4), causando um comprometimento no crescimento próximo-distal dos membros, observados como a focomelia e amélia. O SHH é uma proteína que desempenha um papel importante na fina regulação da organogênese em vertebrados. O efeito inibitório da talidomida sobre sua expressão afeta seu mecanismo de feedback com Fgf8 e pode também estar relacionado ao tempo de exposição ao medicamento, havendo o retorno dos níveis de expressão gênica com a suspensão do uso de talidomida (Hansen et al., 2002; Ito et al., 2010 ; Knobloch et al., 2011).

Outros estudos com modelos animais também dão grande evidência ao papel antiangiogênico na teratogênese da talidomida, mostrando que os vasos sanguíneos são alvo primário da teratogênese pela talidomida e que eventos como a perda da sinalização de Fgf8 e Fgf10 são secundários aos efeitos nos vasos afetados (Therapontos et al., 2009; Vargesson 2009).

Ito et al. (2010) mostraram que a proteína Crbn interage diretamente com talidomida e indiretamente com DDB1. Ambas fazem parte de um complexo ubiquitina E3 ligase juntamente com CUL4A. Eles postulam que a ligação da talidomida em Crbn diminuiria a atividade de ubiquitinação de Crbn no complexo ubiquitina E3 ligase, e o aumento dos substratos não ubiquitinados ocasionaria um desbalanço na expressão de alguns genes, como *FGF8*, *FGF10*, *BMP4*, entre outros.

A sobreposição de fenótipos entre TE e as síndromes de Holt-Oram e de Okihiro é explicada pela redução de TBX5 e SALL4 em resposta a talidomida: TBX5 é um fator de transcrição que desempenha um papel importante no desenvolvimento de membros e coração - é um alvo direto da talidomida, impedindo até 40% de se ligá-lo ao DNA (Khalil et al., 2017). Além disso, o TBX5 também parece ativar a expressão de SALL4, outro importante fator de transcrição no desenvolvimento dos membros e que também é alvo da talidomida (Knobloch e Rüther, 2008; Donovan et al., 2018).

A sobreposição de TE e Roberts ainda não está bem correlacionada, mas acredita-se que pode ser explicada pelo comum mecanismo teratogênico de apoptose induzido durante o desenvolvimento embrionário (Cassina et al., 2017; Donovan et al., 2018). Trabalhos mais recentes mostram que apenas pacientes com mutação em *ESCO2* apresentam RBS e embora apresentem baixa homologia, presente apenas no domínio C-terminal de acetiltransferase, tanto *ESCO1* quanto *ESCO2* são essenciais para a coesão das cromátides irmãs (Van der Lelij et al. 2009). *ESCO1* está presente durante todo o ciclo celular, enquanto a expressão de *ESCO2* é alta durante a fase S e desaparece na fase G2/M. Isso pode implicar que *ESCO1* está envolvido no estabelecimento da coesão das cromátides irmãs nas fases S, G2 e M, enquanto que *ESCO2* pode ter uma função específica no estabelecimento da coesão das cromátides irmãs durante a fase S (Hou, 2005).

É interessante observar que outra síndrome selecionada neste nosso trabalho, a síndrome de Cornelia de Lange é classificada junto com a Síndrome de Roberts e Jurberg-Hayward como “grupo das coesinopatias” (doenças cujas proteínas alteradas são coesinas ou seus reguladores). Um artigo recente indica que *ESCO2* e coesinas corregulam a transcrição de um componente da ubiquitina ligase CRL-4, através da qual a talidomida exerce seus efeitos teratogênicos (Sanchez et al., 2022).

## 7. CONCLUSÃO

Tendo em vista a complexidade de diagnóstico da TE, novos estudos são necessários para melhor entendermos os mecanismos e interações moleculares deste medicamento.

Um painel de genes para análise molecular diferencial da embriopatia por talidomida fetal pode contribuir para acelerar o diagnóstico e o aconselhamento genético desses pacientes, além de fundamentar o processo de indenização pelos danos causados pela droga às vítimas.

## 8. PERSPECTIVAS FUTURAS

- Identificar novos genes alvo para aumentar a robustez do painel de genes;
- Avaliar a expressão diferencial de genes selecionados durante a interação com a talidomida.
- Realizar análise *in silico* dos genes selecionados a fim de traçar relações com outras síndromes.

## 9. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AFIFI, H.H.; ABDEL-SALAM, G.M.H.; EID, M.M.; TOSSON, A.M.S.; SHOUSHA, W.G.; ABDEL-AZEEM, A.A.; FARAG, M.K.; MEHREZ, M.I.; GABER, K.R. (2016) Expanding the mutation and clinical spectrum of Roberts syndrome. *Congenit Anom (Kyoto)* 56:154–162.

ALBERS, C.A.; PAUL, D.S.; SCHULZE, H.; FRESON, K.; STEPHENS, J.C.; SMETHURST, P.A.; JOLLEY, J.D.; CVEJIC, A.; KOSTADIMA, M.; BERTONE, P. et al. (2012) Compound inheritance of a low frequency regulatory SNP and a rare null mutation in exon-junction complex subunit RBM8A causes TAR syndrome. *Nat Genet* 44:435–439.

AL-AWADI, S. A., TEEBI, A. S., FARAG, T. I., NAGUIB, K. M., EL-KHALIFA, M. Y. (1985). Profound limb deficiency, thoracic dystrophy, unusual facies, and normal intelligence: a new syndrome. *J. Med. Genet.* 22: 36-38.

AL-BARADIE, R.; YAMADA, K.; ST. HILAIRE, C.; CHAN, W.-M.; ANDREWS, C.; MCINTOSH, N.; NAKANO, M.; MARTONYI, E. J.; RAYMOND, W. R.; OKUMURA, S.; OKIHIRO, M. M.; & ENGLE, E. C. (2002). Duane Radial Ray Syndrome (Okihiro Syndrome) Maps to 20q13 and Results from Mutations in SALL4, a New Member of the SAL Family. *The American Journal of Human Genetics*, 71(5), 1195–1199.

ALVES, L. U.; PEREZ, A. B. A.; ALONSO, L. G.; OTTO, P. A.; & MINGRONI-NETTO, R. C. (2016). Novel frameshift variant in gene SALL4 causing Okihiro syndrome. *European Journal of Medical Genetics*, 59(2), 80–85.

AZULAY, R. D. (2004) Talidomida: indicações em dermatologia. *An Bras Dermatol.* 79:603-608.

BALLER, F. (1950) Radiusaplasie und Inzucht. *Z Menschl Vererb Konstitutionsl.*29:782–90.

BERWANGER, C. G.; COSTA, E. C.; PERES, R. M. Talidomida e ácido retinóico. *In: SANSEVERINO, M. T. V.; SPRITZER, D. T.; SCHÜLER-FACCINI, L. Manual de Teratogênese.* 1. ed. Porto Alegre: Ed. da UFRGS, 2001.

BORGES, L. G.; FRÖELICH, P. E. (2003) Talidomida – Novas Perspectivas para utilização como Antiinflamatório, Imunossupressor e Antiangiogênico. *Rev Assoc Med Bras.* 49:96-102.

BORGES, L. V.; GUERRA, M. O.; AARESTRUP, F. M. (2005) Talidomida: De teratogênica à terapêutica. *Boletim do Centro de Biologia da Reprodução.* 31-44.

CALABRESE, L.; FLEISCHER, A. B. J. (2000) Thalidomide: Current and potential clinical applications. *Am. J. Med.* 487-495.

CASSINA, M.; CAGNOLI, G. A.; ZUCCARELLO, D.; Di GIANANTONIO, E.; CLEMENTI, M. (2017) Human teratogens and genetic phenocopies. Understanding pathogenesis through human genes mutation. *Eur J Med Genet.* 60:22–31.

DIETSCHY, T.; SHEVELEV, I.; STAGLJAR, I. (2007) The molecular role of the RothmundThomson-, RAPADILINO- and Baller-Gerold-gene product, RECQL4: Recent progress. *Cell Mol Life Sci* 64:796–802.

DONOVAN, K. A.; AN, J.; NOWAK, R. P; YUAN, J. C.; FINK, E. C.; BERRY, B. C.; EBERT, B. L.; FISCHER, E. S. (2018) Thalidomide promotes degradation of SALL4, a transcription factor implicated in Duane radial ray syndrome. *Elife.* 7:1–25.

FERNÁNDEZ-CAMACHO, Y.; LEON-DORANTES, G. (2000) Talidomida: una nueva oportunidad. *Rev. Med. Hosp. Gen. Mex. Gen. Mex.* 185-191.

FRANKS, M. E.; MACPHERSON, G. R.; FIGG, W. D. (2004) Thalidomide. *The Lancet.* 1802-1811.

FREEMAN, M.V.R.; WILLIAMS, D.W.; SCHIMKE, R.N.; TEMTAMY, S.A. (1974) The Roberts syndrome. *Clin Genet* 5:1–16.

GALEA, P.; & TOLMIE, J. L. (1990). Normal growth and development in a child with Baller-Gerold syndrome (craniosynostosis and radial aplasia). *Journal of Medical Genetics*, 27(12), 784–787.

GEROLD, M. (1959) Healing of a fracture in an unusual case of congenital anomaly of the upper extremities. *Zentralbl Chir.*84:831–4.

GOH, E. S.; LI, C.; HORSBURGH, S.; KASAI, Y.; KOLOMIETZ, E.; MOREL, C. F. (2010) The Roberts syndrome/SC phocomelia spectrum--a case report of an adult with review of the literature. *Am J Med Genet A.*152A(2):472-8.

GORDILLO, M.; VEGA, H.; TRAINER, A. H.; HOU, F.; SAKAI, N.; LUQUE, R.; KAYSERILI, H.; BASARAN, S.; SKOVBY, F.; HENNEKAM, R. C.; UZIELLI, M. L.; SCHNUR, R. E.; MANOUVRIER, S.; CHANG, S.; BLAIR, E.; HURST, J. A.; FORZANO, F.; MEINS, M.; SIMOLA, K. O.; RAAS-ROTHSCHILD, A.; SCHULTZ, R. A.; MCDANIEL, L. D.; OZONO, K.; INUI, K.; ZOU, H.; JABS, E. W. (2008) The molecular mechanism underlying Roberts syndrome involves loss of ESCO2 acetyltransferase activity. *Hum Mol Genet.* 17(14):2172-80.

GRIPP, K. W., STOLLE, C. A., CELLE, L., MCDONALD-MCGINN, D. M., WHITAKER, L. A., & ZACKAI, E. H. (1999). TWIST gene mutation in a patient with radial aplasia and craniosynostosis: further evidence for heterogeneity of Baller-Gerold syndrome. *American journal of medical genetics*, 82(2), 170–176.

HAYES, A.; COSTA, T.; & POLOMENO, R. C. (1985). The Okhiro syndrome of Duane anomaly, radial ray abnormalities, and deafness. *American journal of medical genetics*, 22(2), 273–280.

HOMANS, A. C., COHEN, J. L., MAZUR, E. M. (1988) Defective megakaryocytopoiesis in the syndrome of thrombocytopenia with absent radii. *Brit. J. Haemat.* 70: 205-210.



HOU, F.; ZOU, H. (2005) Two Human Orthologues of Eco1/Ctf7 Acetyltransferases Are Both Required for Proper Sister-Chromatid Cohesion. *Molecular Biology of the Cell* 16:8, 3908-3918.

HURST, J.A.; HALL, C.M.; BARAITSER, M. (1991) The Holt-Oram syndrome. *J Med Genet* 28:406–410.

ITO, T.; ANDO, H.; IMAMURA, Y.; YAMAGUCHI, Y.; HANDA, H.; SUZUKI, T.; OGURA, T.; HOTTA, K. (2010) Identification of a Primary Target of Thalidomide Teratogenicity. *Science*. 327:1345–1350.

ITO, T.; ANDO, H.; HANDA, H. (2011) Teratogenic effects of thalidomide: molecular mechanisms. *Cell Mol Life Sci*. 68(9):1569-79.

ITO, T.; HANDA, H. (2012) Deciphering the mystery of thalidomide teratogenicity. *Congenit Anom*. 52(1):1-7.

JUBERG, R. C.; HAYWARD, J. R.; (1969) A new familial syndrome of oral, cranial, and digital anomalies. *J Pediatr*. 74(5):755-62

KANTAPUTRA, P. N.; MUNDLOS, S.; SRIPATHOMSAWAT, W.; (2010) A novel homozygous Arg222Trp missense mutation in WNT7A in two sisters with severe Al-Awadi/Raas-Rothschild/Schinzler phocomelia syndrome. *Am J Med Genet Part A* 152A:2832–2837.

KANTAPUTRA, P. N.; DEJKHAMRON, P.; TONGSIMA, S.; NGAMPHIW, C.; INTACHAI, W.; NGIWSARA, L.; SAWANGAREETRAKUL, P.; SVASTI, J.; OLSEN, B.; CAIRNS, J. R. K.; BUMROONGKIT, K. (2020) Juberg-Hayward syndrome and Roberts syndrome are allelic, caused by mutations in ESCO2. *Arch Oral Biol*. 119:104918.

KATHLEEN, U. H. L.; EDWARD, C. O. X.; ROGAN, R.; ZELDIS, J. B.; HIXON, D.; FURLONG, L. A.; SINGER, S.; HOLLIMAN, T.; BEYER, J.; WOOLEVER. (2006) Thalidomide Use in the US. *Drug Safety*. 29:321-329.

KHALIL, A.; TANOS, R.; EL-HACHEM, N.; KURBAN, M.; BOUVAGNET, P.; BITAR, F.; NEMER, G. (2017) A HAND to TBX5 Explains the Link Between Thalidomide and Cardiac Diseases. *Sci Rep*. 7:1416.

KLAUSNER, J. D.; FREEDMAN, V. H.; KAPLAN, G. (1996) Short Analytical Review: Thalidomide as an Anti-TNF- $\alpha$  Inhibitor: Implications for Clinical Use. *Clin Immunol Immunopathol*. 81:219-223.

KLINE, A.D.; MOSS, J.F.; SELICORNI, A.; BISGAARD, A.M.; DEARDORFF, M.A.; GILLET, P.M.; ISHMAN, S.L.; KERR, L.M.; LEVIN, A.V.; MULDER, P.A. et al. (2018) Diagnosis and management of Cornelia de Lange syndrome: first international consensus statement. *Nat Rev Genet* 19:649– 666.

KNOBLOCH, J.; RÜTHER, U. (2008). Shedding light on an old mystery: thalidomide suppresses survival pathways to induce limb defects. *Cell cycle (Georgetown, Tex.)*, 7(9), 1121–1127.

KOHLHASE, J.; HEINRICH, M.; SCHUBERT, L.; LIEBERS, M.; KISPERT, A.; LACCONE, F.; TURNPENNY, P.; WINTER, R. M.; REARDON, W. (2002). Okhiro syndrome is caused by SALL4 mutations. *Human Molecular Genetics*, 11(23), 2979–2987.

KOWALSKI, T. W.; FRAGA, L. R.; TOVO-RODRIGUES, L.; SANSEVERINO, M. T. V.; HUTZ, M. H.; SCHULER-FACCINI, L.; VIANNA, F. S. L. (2016) New Findings in eNOS gene and Thalidomide Embryopathy Suggest pre-transcriptional effect variants as susceptibility factors. *Sci Rep.* 6:1–6.

KOWALSKI, T. W.; DUPONT, Á DE V.; RENGEL, B. D.; SGARIONI, E.; GOMES, J DO A.; FRAGA, L. R.; SCHULER-FACCINI, L.; VIANNA, F. S. L. (2019) Assembling systems biology, embryo development and teratogenesis: What do we know so far and where to go next? *Reprod Toxicol.* 88:67–75.

KOWALSKI, T. W.; GOMES, J. A.; GARCIA, G. B. C.; FRAGA, L. R.; PAIXAO-CORTES, V. R.; RECAMONDE-MENDOZA, M.; SANSEVERINO, M. T. V.; SCHULER-FACCINI, L.; VIANNA, F. S. L. (2020) CRL4-Cereblon complex in Thalidomide Embryopathy: a translational investigation. *Sci Rep.* 10:1–13.

KRIEK, L. K. Defeitos de redução de membros: diagnósticos diferenciais e análise de variantes nos genes ESCO2, SALL4 E TBX5. Orientador: Lavinia Schuler Faccini. 2020. 61f. Dissertação (Mestrado) - Programa de Pós-Graduação em Genética e Biologia Molecular, Departamento de Genética, UFRGS, Porto Alegre, 2020.

KUMAR, S.; WITZIG, T. E.; RAJKUMAR, S. V. (2004) Thalidomide: current role in the treatment of nonplasma cell malignancies. *J. Clin. Oncol.* 2477-2488.

LENZ, W. (1988) A short history of thalidomide embryopathy. *Teratology.* 38:203–215

MARRIOT, J. B.; MULLER, G.; DALGLEISH, A. G. (1999) Thalidomide as an emerging immunotherapeutic agent. *Immunol. Today.* 538-540.

MATTHEWS, S. J.; MCCOY, C. (2003) Thalidomide: a review of approved and investigational uses. *Clinical therapeutics.* 342-395.

MATYSKIELA, M. E.; COUTO, S.; ZHENG, X.; LU, G.; HUI, J.; STAMP, K.; DREW, C.; REN, Y.; WANG, M.; CARPENTER, A. et al. (2018) SALL4 mediates teratogenicity as a thalidomide-dependent cereblon substrate. *Nat Chem Biol.* 14:981–987.

MCDERMOTT, D.A.; FONG, J.C.; BASSON, C.T. (1993) Holt-Oram Syndrome. In: *GeneReviews®*. University of Washington, Seattle, Seattle (WA).

MILLER, M. T.; STROMLAND, K. (1999) Teratogen Update: Thalidomide: A Review, with a Focus on Ocular Findings and New Potential Uses. *Teratology.* 60:306-321.

MOOS, R. V. et al. (2003) Thalidomide: from tragedy to promise. *Swiss Med. Wkly.* 77-87.

MORO, A. Participação social e regulação de medicamentos: o caso da talidomida no Brasil. 2017. Tese (Doutorado) – Curso de Políticas Públicas, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2017.

NEUBERT, R.; MERKER, H-J.; NEUBERT, D. (1999) Developmental model for thalidomide action. *Nature*. 419-429.

NEWMAN, C. G. H. (1986) The Thalidomide syndrome: risks of exposure and spectrum of malformations. *Clinics in Perinatology*. 555-573.

NIEMANN, S.; ZHAO, C.; PASCU, F.; STAHL, U.; AULEPP, U.; NISWANDER, L.; WEBER, J. L.; & MÜLLER, U. (2004). Homozygous WNT3 mutation causes tetra-amelia in a large consanguineous family. *American journal of human genetics*, 74(3), 558–563.

OLIVEIRA, M. A.; BERMUDEZ, J.; DE SOUZA, A. C. M. (1999) Talidomida no Brasil: vigilância com responsabilidade compartilhada? *Cad Saúde Pública* 15:99-112.

PARMAN, T.; WILEY, M. J.; WELLS, P. G.; (1999) Free radical-mediated oxidative DNA damage in the mechanism of thalidomide. *5(5):582-5*.

PENNA, G. O.; MARTELLI, C. M. T.; STEFANI, M. M. A.; MACEDO, V. O.; MAROJA, M. F.; CHAUL, A. (2005) Talidomida no tratamento do eritema nodoso hansênico: revisão sistemática dos ensaios clínicos e perspectivas de novas investigações. *An Bras Dermatol*. 80:511-522

POLITI, P. M. (2000) Talidomida: ensayos clinicos en cancer. *Medicina (Buenos Aires)*. 61-65.

PORTO, M.; VERGANI N.; CARVALHO A. C.; CERNACH M.; BRUNONI D.; PEREZ A. B. (2010) Novel mutations in the TBX5 gene in patients with Holt-Oram Syndrome. *Genet. Mol. Biol*. 232-236.

RAJKUMAR, S. V. (2004) Thalidomide: Tragic past and promising future. *Mayo Clin*. 899- 903.

SALDANHA, P. H. (1994) A tragédia da talidomida e o advento da teratologia experimental. *Revista Brasileira de Genética*. 449-464.

SAMPAIO, E. P.; SARNO, E. N.; GALILLY, R.; COHN, Z. A.; KAPLAN, G. (1991) Thalidomide Selectively Inhibits Tumor Necrosis Factor  $\alpha$  Production by Stimulated Human Monocytes. *J Exp Med*. 173:699-703.

SANCHEZ, A. C.; THREN, E. D.; IOVINE, M. K.; SKIBBENS, R. V. (2022) Esco2 and cohesin regulate CRL4 ubiquitin ligase ddb1 expression and thalidomide teratogenicity. *Cell Cycle*. 21(5):501-513.

SCIALLI, A. R. A. *Clinical guide to reproductive and developmental toxicology*. Boca Raton, Fla. CRC Press, 1992.

SEZER, A.; KAYHAN, G.; ZENKER, M.; PERCIN, E. F. (2019) Hypopigmented patches in Roberts/SC phocomelia syndrome occur via aneuploidy susceptibility. *Eur J Med Genet.* 62(12):103608.

SHARDEIN, J. L. Psychotropic drugs. *In: SHARDEIN, J. L. Chemically induced birth defects*, 2. ed. Nova Iorque: Marcel Dekker, 1993.

SHAW, S., OLIVER, R. A. M. (1959) Congenital hypoplastic thrombocytopenia with skeletal deformities in siblings. *Blood* 14: 374-377.

SMITHELLS, R. W. (1973) Defects and Disabilities of Thalidomide Children. *Br Med J.* 269–272.

SMITHELLS, R. W.; NEWMAN, C. G. H. (1992) Recognition of thalidomide defects. *Journal of Medical Genetics.* 716-723.

SUNDARESAN, L.; KUMAR, P.; MANIVANNAN, J.; BALAGURU, U. M.; KASIVISWANATHAN, D.; VEERIAH, V.; ANISHETTY, S.; CHATTERJEE, S. (2019) Thalidomide and Its Analogs Differentially Target Fibroblast Growth Factor Receptors: Thalidomide Suppresses FGFR Gene Expression while Pomalidomide Dampens FGFR2 Activity. *Chem Res Toxicol.* 32:589–602.

TEO, S. K.; STIRLING, D. I.; ZELDIS, J. B. (2005) Thalidomide as a novel therapeutic agent: new uses for an old product. *Drug Discov Today.* 10:107-115.

THERAPONTOS, C.; ERSKINE, L.; GARDNER, E. R.; FIGG, W. D.; VARGESSON, N. (2009) Thalidomide induces limb defects by preventing angiogenic outgrowth during early. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 106(21):8573-8.

VARGESSON, N. (2009) Thalidomide-induced limb defects: resolving a 50-year-old puzzle. *Bioessays.* 31(12):1327-36.

VARGESSON, N. (2015) Thalidomide-induced teratogenesis: history and mechanisms. *Birth Defects Res C Embryo Today.* 105(2):140-156.

VAN DER LELIJ P.; GODTHELP, B.C.; VAN ZON, W.; VAN GOSLIGA, D.; OOSTRA, A.B. (2009) The Cellular Phenotype of Roberts Syndrome Fibroblasts as Revealed by Ectopic Expression of ESCO2. *Plos One* 4(9): e6936.

VIANNA, F. S. L.; FRAGA, L. R.; TOVO-RODRIGUES, L.; TAGLIANI-RIBEIRO, A.; BIONDI, F.; MAXIMINO, C. M.; SANSEVERINO, M. T. V.; HUTZ, M. H.; SCHULER-FACCINI, L. (2013a) Polymorphisms in the endothelial nitric oxide synthase gene in thalidomide embryopathy. *Nitric Oxide.* 35:89–92.

VIANNA, F. S. L.; SCHÜLER-FACCINI, L.; LEITE, J. C. L.; DE SOUSA, S. H. C.; DA COSTA, L. M. M.; DIAS, M. F.; MORELO, E. F.; DORIQUEI, M. J. R.; MAXIMINO, C. M.; SANSEVERINO, M. T. V. (2013b) Recognition of the phenotype of thalidomide embryopathy in countries endemic for leprosy: New cases and review of the main dysmorphological findings. *Clin Dysmorphol.* 22:59–63.