



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE MEDICINA
DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSTGRADO E INVESTIGACIÓN

INSTITUTO NACIONAL DE PEDIATRÍA
SECRETARÍA DE SALUD

**DIAGNÓSTICO MOLECULAR DEL SÍNDROME DE MUENKE
Y SU DESCRIPCIÓN CLÍNICA EN PACIENTES
CON CRANEOSINOSTOSIS CORONAL.
REPORTE PRELIMINAR**

TRABAJO DE TESIS QUE PARA OBTENER EL DIPLOMA DE ESPECIALISTA EN:
PEDIATRÍA

PRESENTA

DRA. CLAUDIA SOFÍA GÓMEZ GONZÁLEZ

TUTORA DE TESIS

DRA. ARIADNA GONZÁLEZ DEL ÁNGEL

MÉXICO, D.F.

MMVIII



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

**DIAGNÓSTICO MOLECULAR DEL SÍNDROME DE MUENKE
Y SU DESCRIPCIÓN CLÍNICA EN PACIENTES CON
CRANEOSINOSTOSIS CORONAL**

**Dr. Guillermo Solomon Santibáñez
Director General
Profesor Titular del Curso de Pediatría**

**Dr. José N. Reynes Manzur
Director de Enseñanza**

**Dra. Mirella Vázquez Rivera
Jefe del Departamento de Pre y Postgrado**

**Dra. Ariadna González del Ángel
Tutor de Tesis
Jefe del Laboratorio de Biología Molecular**

AGRADECIMIENTOS

A mi mamá, por tu amor desinteresado y palabras de aliento en los momentos difíciles. Por ayudarme en mis primeros pasos de vida independiente. Siempre estuviste conmigo a pesar de tantas preocupaciones que tienes en tu mente. La carrera de medicina es extenuante y te agradezco mucho por haberme brindado tu tiempo para escucharme, darme ánimo y no rendirme. Gracias por perdonar mis malos humores, y aún en esos momentos, nunca olvides que te quiero muchísimo. Eres una persona admirable, con mucha fortaleza y tenacidad.

A mi papá, porque a partir de ti trato de ser más comprensiva y entender a las personas con sus defectos y virtudes. Ha sido difícil la relación entre los dos, pero quizás con el tiempo la comunicación entre los dos será más fluida.

A mis hermanos, Sari, Ariane, Fabi y Abelito. A pesar de las distancias y del poco tiempo que tenía para compartir con ustedes les doy las gracias por estar al pendiente de mi carrera, de mis logros y fracasos. Somos hermanos y siempre tendremos lazos en común que nos fortalecerán como familia.

A Omar, mi eterno compañero durante este arduo camino. Gracias por tanta paciencia y amor. Por haberme esperado tanto tiempo afuera del Instituto. Gracias por el tiempo que hemos compartido juntos y por esas comidas tan deliciosas. Esas caminatas por CU, las visitas al centro, las comidas en los parques y las pláticas tan amenas siempre las recordaré.

A la Dra. Ariadna González, mi asesora de tesis. Por haberme brindado su confianza para iniciar este proyecto de investigación. Le agradezco el tiempo que me dedicó para introducirme en las técnicas de biología molecular. Muchas gracias por su disponibilidad y amabilidad.

Al Dr. Miguel Ángel Alcántara. Gracias por ofrecerme ideas para la mejora de la tesis. ¡Esas fotos de los geles quedaron muy bien!. Gracias por invitarme a quedar cuando celebraban un cumpleaños ó aniversario en el laboratorio.

Al Biólogo Víctor Martínez Cruz, al Dr. Alfonso Marhx, al Dr. Carlos Rodríguez, al Dr. Bernardo Peña Cruz, al Dr. Luis González González y al Dr. Francisco Belmont Laguna. Todos colaboradores en la realización de la tesis. Gracias al conocimiento de su especialidad y a su disposición, se logró el análisis integral de los pacientes.

A Rosa y Nora, mis amigas de la residencia. El R2 fue el mejor año de la especialidad. Juntas aprendimos la pediatría y espero que continuemos compartiendo experiencias. A ver si alguna vez regresamos a toma de productos.

A Josefina Moreno, por su cuidado y protección. Muchas gracias por haberme ofrecido tu amistad desinteresada. ¡Ojalá algún día pueda cocinar como tú!

A todos los pacientes incluidos en este protocolo, por su confianza.

Gracias a la vida y a Dios por todas sus bendiciones.

"Los famas para conservar sus recuerdos proceden a embalsamarlos en la siguiente forma: luego de fijado el recuerdo con pelos y señales, lo envuelven de pies a cabeza en una sábana negra y lo colocan parado contra la pared de la sala, con un cartelito que dice: "Excursión a Quilmes", o: "Frank Sinatra". Los cronopios, en cambio, esos seres desordenados y tibios, dejan los recuerdos sueltos por la casa, entre alegres gritos, y ellos andan por el medio y cuando pasa corriendo uno, lo acarician con suavidad y le dicen: "No vayas a lastimarte", y también: "Cuidado con los escalones". Es por eso que las casas de los famas son ordenadas y silenciosas, mientras que en las de los cronopios hay gran bulla y puertas que golpean. Los vecinos se quejan siempre de los cronopios, y los famas mueven la cabeza comprensivamente y van a ver si las etiquetas están todas en su sitio."

Julio Cortázar.

ÍNDICE

Resumen.....	2
Antecedentes y marco teórico.....	4
Aspectos moleculares en la craneosinostosis.....	6
Síndrome de Muenke.....	12
Justificación.....	17
Planteamiento del problema y objetivos.....	18
Material y métodos.....	19
Diagnóstico molecular en pacientes con craneosinostosis coronal no sindromática.....	20
Estudio clínico, radiológico y audiológico en individuos con la mutación Pro250Arg.....	22
Variables de estudio.....	27
Consideraciones éticas.....	29
Resultados.....	30
Familia 1.....	32
Familia 2.....	35
Familia 3.....	39
Discusión.....	41
Anexo 1.....	43
Anexo 2.....	45
Anexo 3.....	46
Bibliografía.....	47

I. RESUMEN

La craneosinostosis coronal se debe al cierre prematuro de la sutura coronal, clínicamente los casos esporádicos son indistinguibles de los casos familiares, por lo que el asesoramiento genético generalmente se otorga con base en un riesgo empírico. Se ha descrito la mutación Pro250Arg en el gen *FGFR3* en algunos pacientes con craneosinostosis coronal a lo cual se le conoce como síndrome de Muenke, en el estudio familiar se han identificado individuos portadores de la mutación con expresividad variable o incluso no penetrancia. En estos casos el asesoramiento genético se modifica de manera importante, ya que los individuos con la mutación Pro250Arg tienen un riesgo del 50% de transmitirlo a su descendencia. El presente estudio tuvo como objetivos conocer si la mutación Pro250Arg en el gen *FGFR3* se presenta en algunos individuos con craneosinostosis coronal no sindrómica que acuden al Instituto Nacional de Pediatría, así como describir las manifestaciones clínicas en los pacientes en quienes se confirmó el síndrome de Muenke e identificar los casos de no penetrancia o expresividad variable en los familiares de primer grado para brindar un asesoramiento genético certero. El estudio se realizó en el laboratorio de Biología Molecular del Instituto Nacional de Pediatría con un diseño clínico, observacional, descriptivo, prospectivo y transversal. Se incluyeron pacientes con craneosinostosis coronal uni o bilateral y sus familiares de primer grado.

En cada caso se realizó una historia clínica con árbol genealógico así como radiografías y/o tomografía axial computada de cráneo que comprobaron la sinostosis.

A los familiares de primer grado, de los casos positivos a la mutación, se les realizó un estudio clínico y radiológico para identificar expresión mínima o no penetrancia. Para el estudio molecular se obtuvieron células de descamación de mucosa oral, utilizando la técnica por precipitación salina con el Kit Puregene™ (Gentra Systems, Minneapolis, MN, USA). En los familiares de primer grado incluidos en este estudio, se realizó la extracción de DNA a partir de leucocitos provenientes de 3-5 ml de sangre periférica usando EDTA como anticoagulante. Se amplificó el exón 7 del gen *FGFR3*, con una secuencia intrónica adyacente, por medio de la reacción en cadena de la polimerasa. El fragmento amplificado se restringió con la enzima NciI y los productos de la digestión se analizaron en un gel de agarosa con el fin de determinar si presentaban o no la mutación Pro250Arg. Se incluyeron a 21 pacientes con el diagnóstico de craneosinostosis coronal no sindrómica. Se encontraron 12 casos con craneosinostosis bilateral (57.14%), 5 casos con sinostosis izquierda (23.80%) y 4 casos con sinostosis derecha (14.28%). Se

identificaron 3 pacientes positivos a la mutación Pro250Arg en estado heterocigoto. El resto de los pacientes incluidos en el protocolo fue negativo a la mutación. Una vez identificados los pacientes positivos a la mutación, se realizó el diagnóstico molecular de los familiares en primer grado y descripción de las manifestaciones clínicas y radiológicas. El identificar 3 casos de Muenke en 21 pacientes analizados sugiere que esta entidad puede ser una causa frecuente de craneosinostosis en los pacientes que acuden a nuestro Instituto, por lo cual consideramos que el estudio molecular de la mutación Pro250Arg, debe ser incluido en el abordaje diagnóstico de la craneosinostosis coronal para brindar un asesoramiento genético de certeza.

En las 3 familias, detectadas en el presente trabajo, observamos, como está descrito en la literatura, expresividad variable e incluso se identificaron familiares en primer grado positivos a la mutación que se consideraban sanos. Además, es posible que el espectro clínico del síndrome de Muenke no se encuentre completamente delineado, ya que en una de nuestras familias, el caso índice presentó craneosinostosis y un hermano hidrocefalia, esta última no se ha descrito en el síndrome de Muenke pero es probable que sea parte de las manifestaciones clínicas, dado que se descartaron otros posibles factores condicionantes de hidrocefalia.

II. ANTECEDENTES Y MARCO TEÓRICO

La craneosinostosis se define como el cierre prematuro de una o más suturas craneales, lo cual condiciona deformidad craneal que dependerá de la o las suturas involucradas y la etapa de desarrollo en la cual ocurre la fusión (Rimoin y cols.,1997).

El crecimiento normal del cráneo ocurre en dirección perpendicular a cada una de las suturas mayores; tal como se puede observar en la **Figura 1**, cuando alguna de estas se fusiona prematuramente, el crecimiento estará limitado en sentido perpendicular y se compensará en sentido paralelo a la sutura fusionada (Delashaw y cols.,1991),

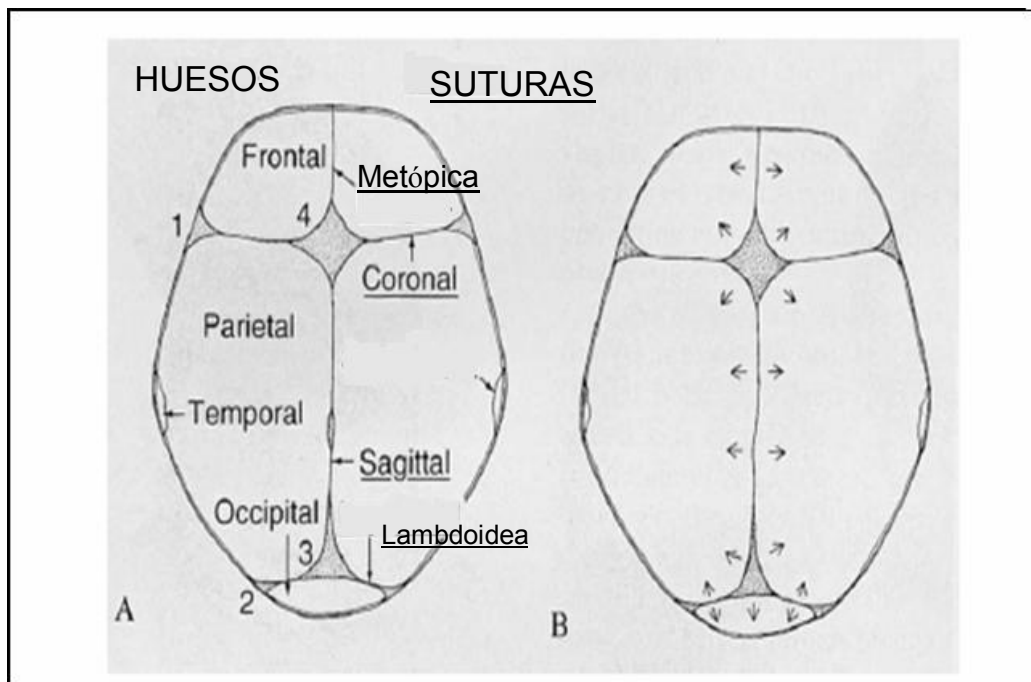


Figura 1. A) Principales suturas craneales.
B) Patrones normales de crecimiento óseo craneal, perpendicular a la sutura.

De esta forma cuando la sutura coronal está involucrada, el cráneo será braquicéfalo (disminución del diámetro antero – posterior); la escafocefalia, en la cual el diámetro biparietal está disminuido, se debe al cierre de la sutura sagital; el

involucro unilateral de la sutura lambdoidea da lugar a la plagiocefalia, que es un cráneo asimétrico, mientras que la sinostosis de la sutura metópica condiciona trigonocefalia, en la cual el hueso frontal tiene una prominencia que determina una forma triangular de cráneo. Formas más complejas de cráneo se presentan cuando la sinostosis es múltiple.

La sinostosis puede ser un proceso primario, en el cual la causa de la fusión ósea es intrínseca a la sutura, o bien ser secundaria a alteraciones en el sistema nervioso central, a constricción fetal in útero, alteraciones metabólicas tales como el hipertiroidismo, hipercalcemia, hipofosfatemia y las mucopolisacaridosis; así como la exposición prenatal a aminopterina, difenilhidantoína, ácido retinoico y oximetazolina (Cohen,1991).

La craneosinostosis también puede dividirse en aislada o sindromática, esta última cuando se asocia a otras malformaciones. Se conocen más de 90 síndromes que pueden cursar con craneosinostosis, de estos los más representativos son el síndrome de Crouzon, Apert, Pfeiffer, Jackson-Weiss, Saethre-Chotzen y Carpenter. En términos generales, estos padecimientos se asocian a otras alteraciones craneofaciales y de extremidades, las cuales en la mayoría de los casos permiten establecer el diagnóstico diferencial de manera clínica (Rimoin y col., 1997; Stevenson y cols., 1993).

La frecuencia de la craneosinostosis oscila de 0.4 a 1 por 1000 habitantes, siendo más frecuente la aislada que la sindromática. De las aisladas, la sinostosis sagital es la más común y representa el 56-58% de los casos, predominando en el sexo masculino.

La sinostosis coronal constituye del 18 al 29% de los casos, con un ligero predominio de pacientes femeninos. El cierre prematuro de la sutura metópica contribuye al 6% de los casos. Otras sinostosis o sinostosis múltiples representan hasta un 22%. No se han encontrado diferencias raciales significativas (Rimoin y cols., 1997; Cohen, 1991).

En la craneosinostosis aislada, la mayoría de los casos son esporádicos sin recurrencia familiar, pero aproximadamente el 2% de las sinostosis sagitales y el

8% de sinostosis coronales son familiares. El patrón de herencia es autosómico dominante con expresividad variable y con probable penetrancia incompleta.

Las sinostosis coronal unilateral y bilateral se presentan con frecuencia similar y en una misma familia pueden coexistir ambas variantes, aunque en los casos familiares la proporción de bilateral:unilateral es 3:1, comparado con la relación 1:1 de los casos esporádicos (Rimoin y cols., 1997).

ASPECTOS MOLECULARES EN LA CRANEOSINOSTOSIS

A) RECEPTORES DE FACTORES DE CRECIMIENTO FIBROBLÁSTICO Y FACTORES DE CRECIMIENTO FIBROBLÁSTICO.

Los casos familiares de síndromes que cursan con craneosinostosis han sido importantes para la identificación de los genes involucrados en su patogenia, entre los cuales se encuentran los receptores de los factores de crecimiento fibroblásticos (*FGFRs*) (Heutink y cols. 1995).

Los receptores de factores de crecimiento fibroblásticos constituyen una familia de cuatro genes denominados *FGFR1*, *FGFR2*, *FGFR3* y *FGFR4*, los cuales codifican para cuatro glicoproteínas que pertenecen a la familia de receptores tirosin-cinasa; mapeando a cromosomas diferentes: el *FGFR1* al cromosoma 10, el *FGFR2* al cromosoma 8, el *FGFR3* al cromosoma 4 y finalmente el *FGFR4* al cromosoma 5. Todos ellos presentan tres características importantes:

- a) Redundancia en la unión a ligandos, de tal forma que un receptor puede unirse a diversos factores de crecimiento fibroblástico (FGF) y a su vez un mismo FGF puede unirse con diferente afinidad a varios receptores.
- b) La unión del FGF a su receptor depende de la interacción del factor con proteoglicanos heparán-sulfato de la superficie celular.
- c) Tienen una multitud de isoformas de receptores ya sea de membrana o secretados que se producen de un solo gen (Givol y Yayon, 1992).

La unión al ligando de los FGFRs está estrictamente controlada por la unión con proteoglicanos heparán-sulfato. Se desconoce si su actividad se debe a un cambio conformacional del FGF o a una interacción directa con el receptor, dando lugar a un complejo ternario: heparán-sulfato--FGF--FGFR. Se ha propuesto que existen dos subtipos de proteoglicanos heparán sulfato: aquellos que promueven la unión al receptor y otros que son inhibidores y actúan como supresores locales del crecimiento al impedir la activación del FGFR. La activación de la transducción de señales intracelulares se lleva a cabo por la oligomerización del receptor (Wilkie y cols., 1995; Givol y cols., 1992).

Por otra parte, los FGFs son una familia de mitógenos polipeptídicos que constituyen el ligando de los receptores antes mencionados. Actualmente se han descrito 9 miembros de dicha familia y se distinguen de otros factores de crecimiento por la acción pleiotrópica de sus integrantes. Además de su capacidad para estimular la proliferación de diversos tipos celulares, poseen potentes actividades neurotrópicas y angiogénicas. Se sospecha que también tienen un papel importante durante el desarrollo embrionario (Johnson y cols.,1991; Wilkie y cols, 1995).

B) GEN *FGFR3*

El gen *FGFR3* se localiza en 4p16.3 (Keegan y cols., 1991) y está constituido por 19 exones y 18 intrones que abarcan 16.5 kb y respetan la regla de GT/AG como sitios donadores y aceptores del splicing. Los exones ocupan 4.2 kb, la secuencia intrónica 11kb y el 1.5 restante corresponde a la región 5' no traducida para las secuencias promotoras. En el extremo 5' del gen existe una zona de 770 bp que corresponden a una isla CpG. No se han detectado cajas TATA o CAAT, sin embargo, existen varios sitios potenciales de unión a factores de transcripción en la región correspondiente al promotor (Pérez-Castro y cols. 1997; Givol y Yayon, 1992).

Se ha demostrado que el *FGFR3* se expresa en el cartílago de las placas de crecimiento de los huesos largos durante la osificación endocondral, además se ha detectado en cerebro y en la médula espinal en desarrollo (Deng y cols., 1996; Johnson y cols., 1991).

Aparentemente la expresión durante la vida adulta se concentra en colon, hígado, apéndice, glándula sublingual, cérvix uterino, vasos sanguíneos y de manera muy llamativa en los islotes de Langerhans del páncreas. Poco se ha descrito acerca de su expresión en huesos con osificación membranosa o en huesos craneofaciales (Huges, 1997).

El producto del gen *FGFR3* es una proteína transmembranal de 125 kDa constituida por tres dominios de tipo inmunoglobulina (Ig-like), correspondientes a la categoría de cadenas constantes, una caja ácida entre el primer y segundo dominio Ig-like, compuesta por los aminoácidos Asp-Asp-Glu-Asp-Gly-Glu-Asp-Glu-Ala-Gla-Asp y 7 sitios potenciales de glicosilación en la región extracelular. Entre los aminoácidos 372 y 396 se encuentran comprendidos el dominio transmembranal altamente hidrofóbico y dos dominios tirosincinasa a nivel intracelular (Keegan y cols., 1990), como se puede apreciar en la **figura 2**.

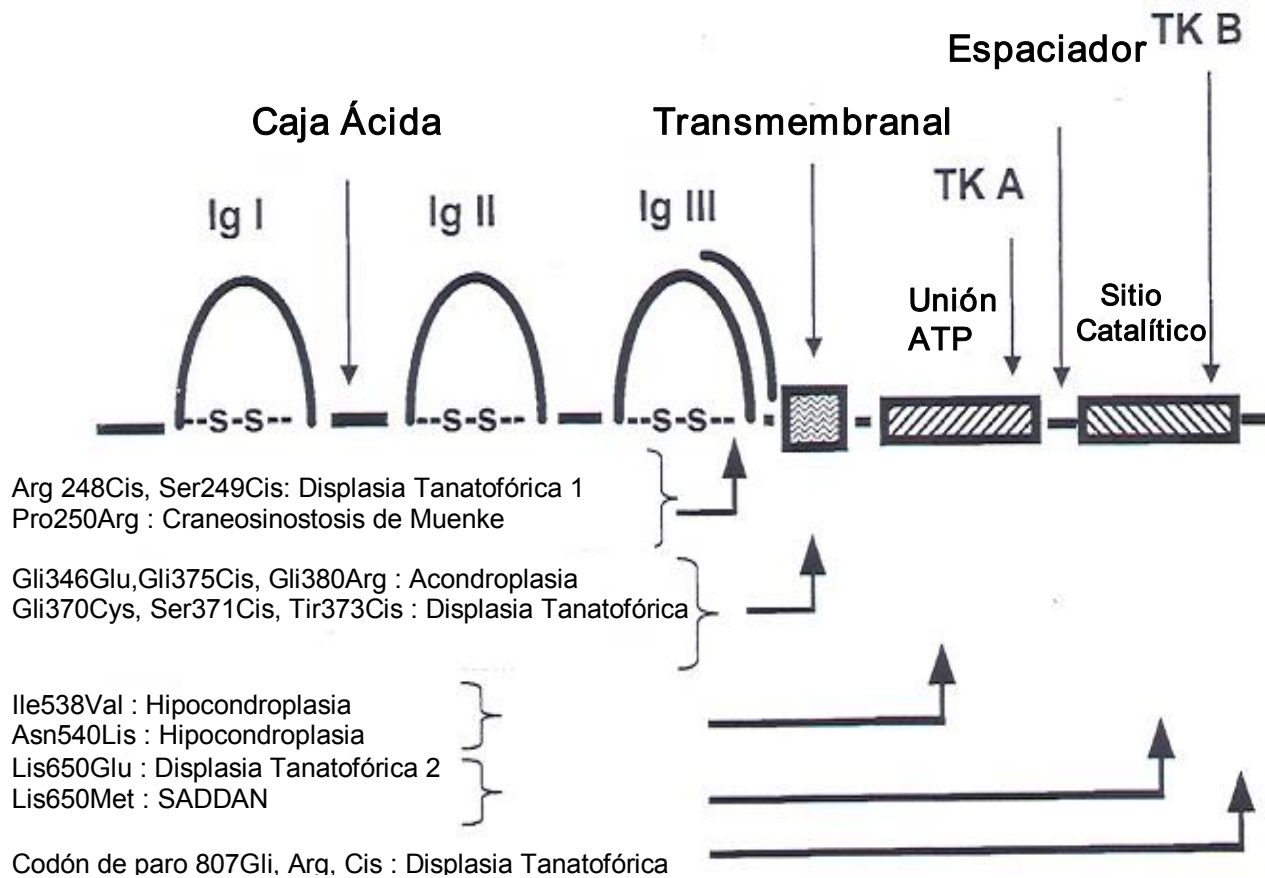


Figura 2. Dominios de la proteína FGFR3, mutaciones descritas y patologías que condicionan (Vajo y cols, 2000).

La unión del ligando al FGFR3 da lugar a una dimerización del receptor, el cual en su forma activa interactúa con un grupo de proteínas mediadoras que intervienen en la vía de Ras. El receptor fosforilado posiblemente se une a la proteína 80K-H, la cual se une a las proteínas GRB2 y pp66 con el objeto de reclutar al factor de intercambio de nucleótidos Sos y llevarlo a la membrana plasmática al sitio donde se encuentra Ras. De esta manera, Sos puede llevar a cabo el paso de GDP a GTP en Ras y activarlo. Una vez activo, Ras se asocia con miembros de la familia de serin-treonin cinasas Raf que a su vez activan una cascada de transducción de señales mitogénicas en dirección al núcleo. Ras también se une de manera indirecta al complejo GRB2-Sos mediante Shc por lo tanto el FGFR3 activado

utiliza dos fuentes diferentes del complejo GRB2-Sos para establecer contacto con Ras (Vajo y cols, 2000), esto se puede ver ejemplificado en la **figura 3**.

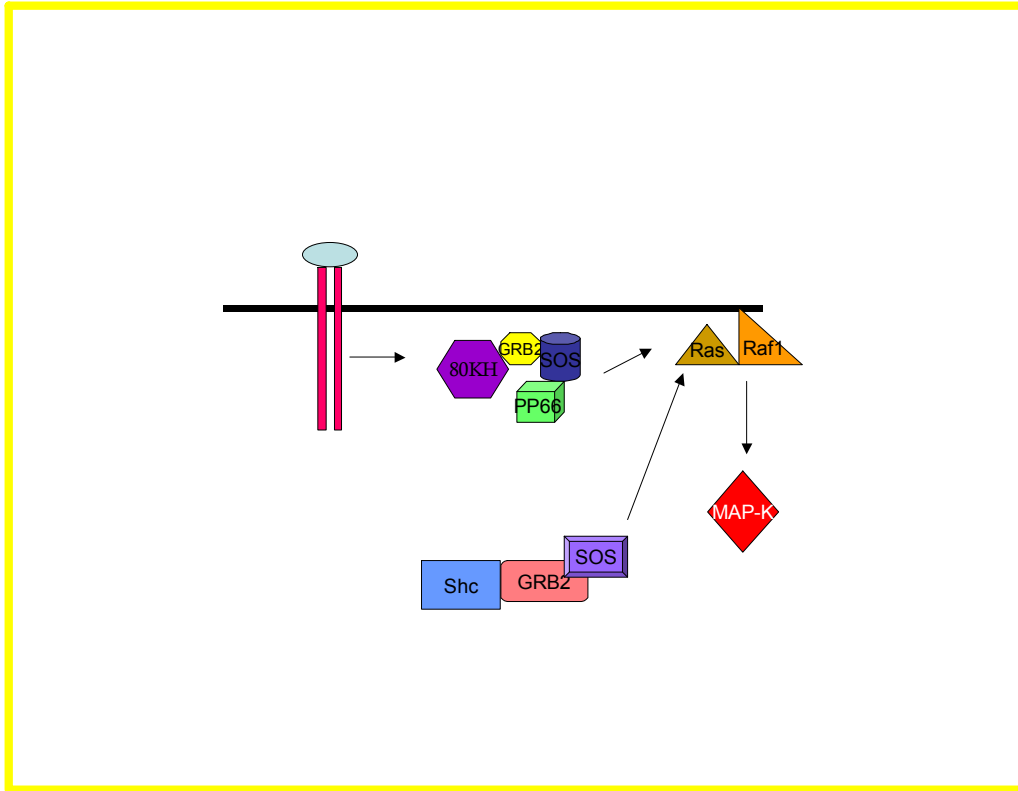


Figura 3. Vía de transducción de señales mediada por RAS al ser activado por FGFR3 unido a su ligando.

C) MUTACIONES EN *FGFR3*

Actualmente se han descrito varias mutaciones en el gen *FGFR3* en pacientes con displasias óseas que se heredan con un patrón autosómico dominante que cursan con talla baja: como la acondroplasia, la hipocondroplasia y la displasia tanatofórica (Figura 1 y tabla 1).

FGFR3	
SÍNDROME	MUTACIONES
Acondroplasia	Gly380Arg Gly375Cys, Gly346Glu
Hipocondroplasia	Asn450Lys
Displasia tanatofórica Tipo 1	Arg248Cys, Ser249Cys, Gly370Cys, Ser371Cys, Try373Cys, Stop807Gly, Stop807Arg, Stop807Cys
Displasia tanatofórica Tipo 2	Lys650Glu
Crouzon con Acantosis Nigricans	Ala391Glu
Craneosinostosis de Muenke	Pro250Arg

**Tabla 1. Patologías relacionadas a mutaciones en *FGFR3*.
(Adaptado de Webster y Donoghue, 1997)**

Las mutaciones descritas que condicionan una displasia ósea, confieren al gen una ganancia de función que conduce a la represión de la proliferación y maduración de condrocitos de manera constante (Bonaventure y cols., 1996; Rousseau y cols, 1994; Shiang y cols., 1994).

En 1995, Meyers y cols. identificaron una mutación en el gen *FGFR3* en 4 pacientes con síndrome de Crouzon y acantosis nigricans, siendo esta la primera vez en que mutaciones en dicho gen se asociaban con la presencia de craneosinostosis (Meyers y cols., 1995).

Posteriormente, Bellus y cols. en 1996 analizaron dos familias con craneosinostosis cuyas características clínicas sugerían el diagnóstico de síndrome de Pfeiffer: al analizar el exón 7 del gen *FGFR3* detectaron una transversión de C → G en el nucleótido 749 que da lugar al cambio de una prolina por una arginina en la posición 250 de la proteína (Pro250Arg) lo cual posteriormente se describió como una entidad diferente denominada craneosinostosis de Muenke; el mecanismo por el cual se presenta una diversidad de características fenotípicas en esta entidad, no está entendido. Sin embargo, se sugiere que la transversión modifica la orientación relativa entre los dominios Ig II-Ig III simulando o acentuando los efectos de unión con el ligando (Andrew , 1997).

SÍNDROME DE MUENKE

Como previamente se mencionó, la frecuencia de las craneosinostosis oscila de 0.4 a 1 por 1000 habitantes. La sinostosis coronal constituye del 18 al 29% de los casos de craneosinostosis aislada, con un ligero predominio de pacientes femeninos. La prevalencia estimada para el síndrome de Muenke es 1 en 30,000, lo que representa el 8% de todas las craneosinostosis (Sabino y cols, 2004); sin embargo, se cree que este desorden puede estar subdiagnosticado.

El síndrome de Muenke, fue descrito por Bellus y cols. en 1996 en dos familias, demostrando que la mutación Pro250Arg condicionaba craneosinostosis coronal con un patrón de herencia autosómico dominante. Estos autores al ampliar el estudio en 65 individuos no emparentados con craneosinostosis y que eventualmente cursaban con dismorfias mínimas como hipoplasia medio facial, fisuras palpebrales hacia abajo o discreta braquidactilia, observaron otros 10 individuos con la mutación cuyo fenotipo fue muy variable ya que algunos presentaron craneosinostosis coronal bilateral, otros craneosinostosis coronal unilateral o macrocefalia; clínicamente las manos y pies tenían una apariencia normal, pero radiológicamente varios de ellos presentaron falanges medias cortas y anchas en manos, falange media de orfejos hipoplásica o ausente y fusiones carpales y/o tarsales.

Con base en lo anterior, Moloney y cols. en 1997 realizaron un estudio en el cual se buscó la mutación Pro250Arg en 26 pacientes no emparentados con craneosinostosis coronal uni o bilateral no sindrómica mostrando que 8 de ellos tenían la mutación en estado heterocigoto (31%) de los cuales sólo dos casos tenían antecedentes familiares.

Posteriormente, Lajeunie y cols, en 1999, en un estudio con 20 familias no relacionadas observó que las mujeres eran severamente más afectadas fenotípicamente con respecto a los hombres, por lo que parece que el sexo esta ligado con la expresión de la mutación (Lajeunie y cols. 1999).

Una de las observaciones más importantes de los estudios hasta ahora realizados en pacientes con síndrome de Muenke es la gran variabilidad que expresan los

individuos con la mutación Pro250Arg, con un espectro fenotípico que va desde la aparente normalidad, hasta el cráneo en trébol, pasando por la craneosinostosis coronal unilateral, bilateral y la afección de alguna otra sutura, observándose dicha variabilidad incluso entre individuos de una misma familia (Bellus y cols, 1996; Golla y cols, 1997).

Las características clínicas que hasta ahora se han observado en el síndrome de Muenke de manera más constante son: fusión prematura de la sutura coronal del cráneo unilateral o bilateral, dismorfias menores como hipoplasia mediofacial, manos anchas con braquidactilia por falanges medias cortas, fusiones carpales y tarsales que no afectan la función de extremidades o epífisis cónicas y algunos casos incluso presentan hipoacusia. La mayoría de los pacientes tienen un coeficiente intelectual normal aunque hay pacientes en donde puede existir retraso mental moderado (Bellus y cols, 1996; Golla y cols, 1997) **Tabla 2**. Es importante mencionar que el espectro clínico del padecimiento podría ser más amplio por lo que es importante la descripción de más casos.

Previo a contar con el análisis molecular, algunos pacientes con síndrome de Muenke se diagnosticaban como Pfeiffer, Crouzon, Saethre-Chotzen o craneosinostosis no sindromáticas; por otro lado, debido a la evidente variabilidad fenotípica observada, es difícil en ocasiones, realizar un diagnóstico clínico correcto por lo que actualmente se recomienda realizar el diagnóstico certero mediante el estudio molecular (Flores, 2003).

En las series de casos descritas para el estudio de síndrome de Muenke no se cuenta con un grupo grande de pacientes por lo que no se ha analizado adecuadamente la penetrancia de la mutación Pro250Arg, se sugiere que en esta entidad hay penetrancia incompleta, dada la identificación de individuos portadores de la mutación pero que no presentan datos clínicos; sin embargo la identificación de estos individuos es de vital importancia dado que a pesar de ser clínicamente sanos tienen riesgo de transmitir el padecimiento a su descendencia. Se especula que puede haber genes modificadores que pueden modular el efecto del receptor mutado haciendo que los individuos no presenten las características clínicas (Lajeunie y cols.,1995; Muenke y cols., 1997; Reardon y cols., 1997).

TABLA 2. Estudios realizados previamente en pacientes con síndrome de Muenke

AUTOR	NO. TOTAL PACIENTES	CRITERIOS DE INCLUSIÓN	POSITIVOS A MUTACIÓN PRO250ARG	CARACTERÍSTICAS CLINICAS
Bellus 1996	14 pacientes	Pacientes con craneosinostosis de 3 familias no relacionadas	3 mujeres 1 hombre	3 pacientes con craneosinostosis unicoronal 1 paciente con paciente con craneosinostosis bicoronal 1 paciente con epifisi conica 11 pacientes con asimetría facial 1 paciente con retraso mental moderado
Reardon 1997	165 pacientes	con craneosinostosis coronal 45 casos familiares con o sin malformaciones en extremidades 120 casos únicos 47 con craneosinostosis	4 familiares 5 casos únicos	familia 1.- craneosinostosis bicoronal, pulgar ancho, retraso mental moderado. familia 2.- craneosinostosis bicoronal y unicoronal, simetría facial, frente aplanada, retraso mental moderado, braquidactilia. familia 3.- simetría facial, pabellones auriculares prominentes, craneosinostosis bicoronal. familia 4.- frente aplanada y malformaciones de los miembros, craneosinostosis bicoronal. esporádicos.- craneosinostosis unicoronal, epífisis cónicas, retraso mental moderado
Golla 1997	20 pacientes	miembros de familia alemana (4 generaciones) con craneosinostosis	7 mujeres 3 hombres	4 pacientes mostraron craneosinostosis unicoronal 6 pacientes mostraron craneosinostosis bicoronal 7 pacientes con hipertelorismo 5 pacientes mostraron asimetría facial 3 pacientes mostraron estrabismo 2 pacientes mostraron ptosis palpebral
Moloney 1997	26 pacientes	pacientes con craneosinostosis uni o bicoronal	8 mujeres 1 hombre	6. pacientes con sutura bicoronal 2 pacientes con sutura unicoronal 7 pacientes con asimetría facial 1 frente aplanada 1 limitación intelectual
Bellus 1996	14 pacientes	Pacientes con craneosinostosis de 3 familias no relacionadas	3 mujeres 1 hombre	3 pacientes con craneosinostosis unicoronal 1 paciente con paciente con craneosinostosis bicoronal 1 paciente con epifisi conica 11 pacientes con asimetría facial 1 paciente con retraso mental moderado

TABLA 2. Estudios realizados previamente en pacientes con síndrome de Muenke

AUTOR	NO. TOTAL PACIENTES	CRITERIOS DE INCLUSIÓN	POSITIVOS A MUTACIÓN PRO250ARG	CARACTERÍSTICAS CLINICAS
Muenke 1997	170 pacientes	miembros de 20 familias no relacionadas con craneosinostosis	61 pacientes 8 fueron esporádicos 53 fueron casos familiares	46 pacientes con sinostosis coronal 11 pacientes con braquidactilia 6 epífisis cónicas 2 fusión carpal 13 braquidactilia 14 pacientes con clinodactilia 2 pacientes con falanges medias cortas 9 pacientes con apariencia normal 52 pacientes con asimetría facial 17 pacientes con hipoacusia 9 pacientes son portadores, no presentan características fenotípicas
Graham 1998	13 pacientes	2 familias con craneosinostosis coronal, braquidactilia y fusiones carpal y tarsal	6 mujeres 1 hombre	En ambas familias existe craneosinostosis unicoronal y bicoronal 2 mujeres con braquidactilia 1 paciente con limitaciones Intelectuales 3 pacientes con fusión carpal 2 pacientes con fusión tarsal 2 pacientes con retraso mental moderado
Gripp 1998	37 pacientes	Pacientes con craneosinostosis coronal	4 Pacientes	4 pacientes con craneosinostosis unicoronal 2 pacientes con epífisis cónicas 1 paciente con limitaciones intelectuales 2 pacientes con fusiones carpales 2 pacientes con audición baja
Lejeunie 2006	97 pacientes	Pacientes con craneosinostosis 35 casos esporádicos 27 familias no relacionadas pacientes con hipoplasia maxilar, proptosis ocular, anomalías del cráneo	17 hombres 19 mujeres	5 pacientes con epífisis cónicas 2 pacientes con fusión tarsal 6 varones con braquidactilia 13 mujeres con braquidactilia 9 pacientes son portadores pero no presentan características fenotípicas

En el Instituto Nacional de Pediatría, en un estudio previo se analizaron 16 pacientes con craneosinostosis coronal uni o bilateral, en los cuales identificamos un caso índice con la mutación Pro250Arg, que presentaba craneosinostosis coronal bilateral, dismorfias menores faciales como hipoplasia medio facial, paladar blando con rafé medio prominente así como braquidactilia, clinodactilia de 5° dedo y pliegues palmares aberrantes. En el análisis familiar se identificó la mutación en el padre del paciente, quien se había diagnosticado como sano. El estudio radiológico descartó afección de suturas craneales en el padre, pero en una exploración física intencionada se observó un cráneo con tendencia a la braquicefalia, fisuras palpebrales hacia abajo y las órbitas poco marcadas. En este caso se consideró que los datos clínicos en el padre podrían sugerir una expresión mínima aunque no se descartaba la posibilidad de que en realidad en el padre hubiera existido el fenómeno de no penetrancia, el estudio molecular en esta familia permitió brindar un asesoramiento con relación al riesgo de recurrencia de manera certera dado que el identificar la mutación Pro250Arg en el padre le confiere un riesgo de transmitirlo a su descendencia del 50%.

La descripción de esta familia nos sugiere que en nuestra población existen pacientes con craneosinostosis coronal en quienes no se ha establecido el diagnóstico adecuado de síndrome de Muenke.

III. JUSTIFICACIÓN

Las características clínicas de los pacientes con craneosinostosis coronal no sindromática no permiten distinguir los casos esporádicos de los casos familiares, lo cual determina que el asesoramiento genético se otorgue con base en un riesgo empírico.

Recientemente se ha descrito la mutación Pro250Arg en el gen *FGFR3* en un grupo de pacientes con craneosinostosis coronal y en algunos de sus familiares clínicamente sanos, que después de una búsqueda intencionada muestran mínimas alteraciones o bien se consideran individuos con no penetrancia. En estos casos el asesoramiento genético se modifica de manera importante, ya que los individuos con la mutación Pro250Arg tienen un riesgo del 50% de transmitirla a su descendencia. Además de que el espectro de manifestaciones del síndrome de Muenke no está completamente definido a nivel internacional.

En el Instituto Nacional de Pediatría en los servicios de Neurocirugía y Genética se atienden pacientes con craneosinostosis coronal, pero desconocemos si algunos de estos pacientes tienen en realidad una craneosinostosis de Muenke así como las características clínicas asociadas.

Por lo anterior, en el laboratorio de Biología Molecular se estandarizaron las técnicas que permiten identificar la mutación Pro250Arg en el gen *FGFR3* en pacientes con craneosinostosis coronal. En los casos índice en quienes se confirmó la mutación Pro250Arg, así como a sus familiares de primer grado positivos a la mutación, se les realizó un estudio clínico intencionado, radiológico y audiológico para identificar expresión mínima o no penetrancia.

De acuerdo con los resultados, se describen las manifestaciones de tres familias positivas a la mutación que muestran la expresividad variable de la entidad. De acuerdo a ésta información se brindó asesoramiento genético a cada familia. Los resultados sugieren que en el Instituto Nacional de Pediatría hay pacientes con craneosinostosis coronal por presentar el síndrome de Muenke que requieren diagnosticarse mediante el estudio molecular del gen *FGFR3*.

IV. PLANTEAMIENTO DE PROBLEMA

El presente estudio busca establecer si la mutación Pro250Arg en el gen *FGFR3* se presenta en algunos individuos con craneosinostosis coronal no sindrómica que acuden al Instituto Nacional de Pediatría, así como describir las manifestaciones clínicas en los pacientes en que se confirme el síndrome de Muenke e identificar los casos de no penetrancia o expresividad variable en los familiares de primer grado para brindar un asesoramiento genético certero.

V. OBJETIVOS

1.- General

Describir la frecuencia y características clínicas del síndrome de Muenke en pacientes con craneosinostosis coronal uni o bilateral que acuden al Instituto Nacional de Pediatría.

2.- Específicos

- a) Determinar la frecuencia del síndrome de Muenke por la caracterización de la mutación Pro250Arg en el gen *FGFR3* en la población de pacientes con craneosinostosis coronal que acuden al Instituto Nacional de Pediatría
- .b) Describir las características clínicas asociadas a la craneosinostosis coronal en pacientes con la mutación Pro250Arg.
- c) Identificar casos de no penetrancia o expresividad variable mediante el estudio clínico, radiológico y molecular de los familiares de primer grado de aquellos pacientes en donde se identifique la mutación.

VI. MATERIAL Y MÉTODOS

a) Clasificación de la investigación

Estudio clínico, observacional, descriptivo, prospectivo y transversal.

b) Material y métodos

Criterios de inclusión

Se incluyeron pacientes con craneosinostosis coronal unilateral o bilateral primaria documentada con estudio radiológico y/o TAC de cráneo, que no era parte de una entidad sindrómica y que acudieron a la consulta externa de Genética o Neurocirugía del Instituto Nacional de Pediatría, así como los familiares de 1er grado de pacientes en quienes se confirmó la mutación Pro250Arg.

Criterios de exclusión

Se excluyó temporalmente a los pacientes que en el momento del estudio tenían el antecedente de haber sido transfundidos en los últimos 3 meses.

Población de estudio

Se incluyeron pacientes que acudieron a la consulta externa de Genética o Neurocirugía del Instituto Nacional de Pediatría, con el diagnóstico de craneosinostosis coronal uni o bilateral no sindrómica. Se realizó una historia clínica que incluyó un árbol genealógico para distinguir los casos únicos de los familiares y una exploración física para descartar los casos sindrómicos.

En los casos índice en quienes se confirmó la mutación Pro250Arg así como a sus familiares de primer grado en quienes también se confirmó la mutación, se realizó un estudio clínico intencionado, radiológico y audiológico para identificar expresión mínima o no penetrancia. Ver hoja de captación de datos, ANEXO 1

Tamaño de Muestra

Se desconoce la frecuencia del síndrome de Muenke en pacientes con craneosinostosis coronal; sin embargo, se sugiere que el 8% de los casos son familiares y representan en realidad pacientes con este síndrome, de acuerdo a ello la población que se pretende estudiar es de 100 pacientes con craneosinostosis coronal aislada. El presente trabajo de tesis presenta un reporte preliminar de 21 pacientes.

Diagnóstico molecular en pacientes con craneosinostosis coronal no sindromática.

a) Creación de un banco de DNA

Se cuenta con un banco de DNA de los pacientes con craneosinostosis coronal no sindromática, que se obtuvo a partir de células de descamación de mucosa oral, utilizando la técnica por precipitación salina con el Kit Puregene™ (Gentra Systems, Minneapolis, MN, USA). En los familiares de primer grado de pacientes en quienes se confirmó la mutación, se realizó la extracción de DNA a partir de leucocitos provenientes de 3-5 ml de sangre periférica usando EDTA como anticoagulante.

b) Cuantificación del DNA

Se realizó una dilución de 2 µl de la muestra de DNA en 498 µl de agua estéril y se registró la densidad óptica a una longitud de onda de 260 nm. Para cuantificar la concentración de DNA se aplicó la siguiente fórmula:

$$(D.O) (F) (dil) = (DNA) \mu g/ml$$

donde:

D.O = densidad óptica a 260 nm

F = constante equivalente a 0.05 (50 ng de DNA = 1 D:O)

Dil = volumen de dilución equivalente a 250 µl

c) Integridad del DNA

La integridad del DNA se evaluó por medio de electroforesis, mezclando 1 µl de la muestra con 2 µl de colorante azul de bromofenol-xilencianol (0.05% : 0.05%) y 7 µl de agua estéril. La electroforesis se llevó a cabo durante 20 min. a 100 voltios en un gel de agarosa al 0.7% con bromuro de etidio; posteriormente el DNA se observó en un transiluminador con luz ultravioleta y se tomaron fotografías.

d) Identificación de la mutación Pro250Arg

Para identificar la mutación Pro250Arg se amplificó el exón 7 del gen *FGFR3* mediante la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) y posteriormente se digirió el producto de la PCR con la enzima de restricción NciI.

e) Amplificación por la reacción en cadena de la polimerasa

Para la PCR se utilizaron 200 ng de cada uno de los siguientes iniciadores:

F : (5' – AGTGACGGTGGTGGTGGAGGGAG - 3')

R : (5' – CCAAATCCTCACGCAACCC - 5')

Con el objeto de amplificar un fragmento de 337 pares de bases (bp) que incluyó al exón 7 (191 bp) y 196 bp del intrón adyacente. Se utilizaron 5 U de Taq polimerasa, buffer de reacción 2.5 µl, 20 mM de MgCl₂, 1 µl de cada uno de los trinucleótidos dATP, dGTP, dTTP, dCTP, dimetilsulfoxido al 10% y 1 µl de DNA de la muestra problema. La reacción se llevó a cabo en el termociclador Applied Biosystems modelo Gene Amp PCR System 2700, bajo el siguiente programa: Desnaturalización inicial durante 4 minutos a 95°C seguida de 35 ciclos consistentes en desnaturalización a 95°C por 1 minuto, alineación a 63°C por 1 minuto y extensión a 72°C por 1 minuto. Posteriormente se sometieron a una

extensión final a 72°C durante 5 minutos, se tomaron 8 µl del producto para analizarlo por electroforesis en un gel de agarosa al 3 % teñido con bromuro de etidio (Moloney y cols., 1997; Gyapay y cols., 1994).

La restricción del fragmento obtenido por PCR se llevó a cabo con la enzima NciI (New England Biolabs, USA), utilizando 10 U de enzima, 2 µl de buffer y 15 µl del DNA amplificado, a 37 °C durante 16 horas. Los alelos normales presentaron un sitio de corte, lo cual dio lugar a un fragmento de 214 bp y otro de 123 bp, mientras que la presencia de la mutación Pro250Arg (C749G) creó un sitio de restricción adicional, dando lugar a fragmentos de 151 bp, 63 bp y 123 bp. Los productos de la digestión se analizaron por electroforesis en un gel de agarosa al 4% teñido con bromuro de etidio (Bellus y cols., 1997; Moloney y cols., 1997)

Estudio clínico, radiológico y audiológico en individuos con la mutación Pro250Arg.

Como previamente se mencionó, en los casos índice en quienes se confirmó la mutación Pro250Arg así como a sus familiares de primer grado en quienes también se confirmó la mutación, se les realizó un estudio clínico intencionado, radiológico y audiológico para identificar expresión mínima o no penetrancia.

El estudio clínico físico se realizó por el médico Genetista para consignar la ausencia o presencia de macrocefalia, fisuras palpebrales hacia abajo, ptosis palpebral, así como otras posibles dismorfias menores asociadas como braquidactilia y/o clinodactilia (ver definiciones operacionales).

El estudio de somatometría facial se llevó a cabo por el especialista en Maxilofacial, para valorar la presencia o ausencia de hipoplasia mediofacial, o asimetría facial. Se tomaron cuatro medidas del análisis de Arnett y Bergman (Arnett WG, McLaughlin PR y Zamora EC, Duarte IS). Aquí es necesario explicar a detalle la técnica utilizada:

Primeramente para realizar la evaluación clínica se coloca al paciente en posición natural de la cabeza: que se define como la orientación craneal que el paciente asume de forma natural, la cual es una posición estable y repetible, y se considera como la única posición confiable para realizar esta evaluación clínica. Esta posición se logra pidiéndole al paciente que se coloque en una posición relajada al colocar un espejo vertical frente al paciente y pidiéndole que se mire a los ojos.

El análisis clínico facial se realiza en dos vistas del paciente: vista frontal y vista lateral, ambas en posición natural de la cabeza y mandíbula en reposo.

1) Se valora la simetría facial en su vista frontal :

Para valorarla se coloca una línea imaginaria que une el punto medio del puente nasal (Pn) y el filtrum (f) sobre una forma vertical.

El análisis sigue un orden comenzando por las órbitas, la nariz, la boca y el mentón; se puede ayudar con líneas que pasen de lado a lado tocando los arcos superciliares, las pupilas, el borde inferior de la nariz, las comisuras labiales y el borde inferior del mentón (Figura 4). Si la línea no pasa en la parte central de la cara se considera que existe asimetría.

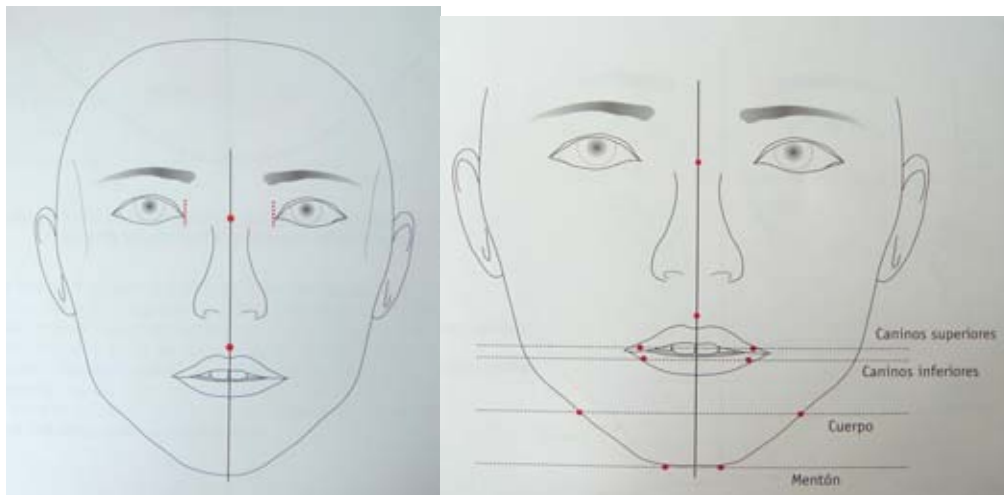


Figura 4. Muestra la forma de evaluar la asimetría facial.

- Tercios faciales

Esta medida nos sirve para valorar la armonía de la estética facial estableciendo los componentes craneofaciales superior, medio e inferior, los que se conocen como tercios faciales.

El tercio superior está demarcado hacia arriba por el Triquion (Tr), la línea de implantación del cabello y por debajo con el tercio medio por la parte media de la cejas o entrecejo (Ec). El tercio medio va del entrecejo hasta el punto subnasal, (Sn) punto de unión entre la nariz y el labio superior. Por último, el tercio inferior va del punto subnasal al mentón de tejidos blandos (punto más inferior del mentón). La relación mas importante es la proporción entre el tercio medio e inferior que debe ser 1:1, una alteración en esta relación denota problemas esqueléticos que indican hipoplasia medifacial. **Figura 5.**

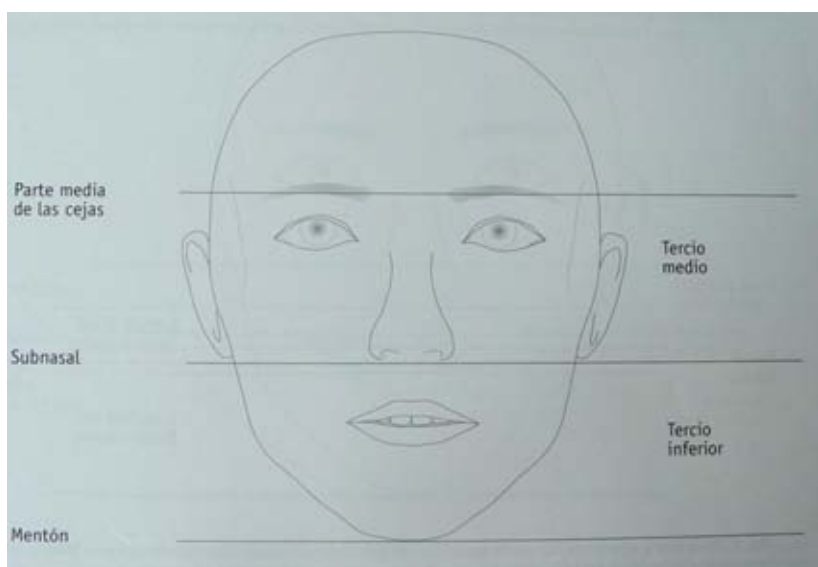


Figura 5. Mediciones para evaluar hipoplasia medifacial.

2) Se valora la simetría facial en su vista de perfil :

Se realiza en posición natural de la cabeza. Se utiliza la valoración del contorno de la mejilla y la armonía de los tercios faciales en vista de perfil.

- Contorno de la mejilla

Es una forma de evaluar clínicamente la posición espacial de los maxilares se compone de dos segmentos que corresponden al contorno del pómulo (Cp) y uno inferior correspondiente al contorno de la base nasal y el labio (Bn-L).

El contorno del pómulo comienza en el arco cigomático (Ac), por delante del pabellón de la oreja sobre un horizontal tangente al párpado inferior del ojo, este contorno desciende sutilmente y atraviesa el punto pomular que se encuentra por debajo y por delante del canto externo del ojo, desciende y atraviesa el punto *Pm*, que es el vértice del contorno del pómulo y coincide con el ala de la nariz y representa la base maxilar, desciende a partir del punto *Pm* y termina por detrás de la comisura labial. Esta es la parte que se denomina Bn-L.

El análisis se realiza en conjunto entre la vista de perfil y frente. El contorno de la mejilla representa la relación intermaxilar en sentido antero-posterior; se puede decir que cuando el contorno de la mejilla es continuo y hace una curva sutil, la relación intermaxilar es correcta y el perfil es armónico. Si el contorno se interrumpe, se trata de una discrepancia antero-posterior de los maxilares; en pacientes con deficiencia maxilar la continuidad se rompe a nivel del punto *Pm*.

- Evaluación de la armonía de los tercios faciales de perfil

Se realiza tomando los mismos puntos de referencia utilizados en la evaluación de frente y la proporción es la misma. **Figura 6.**

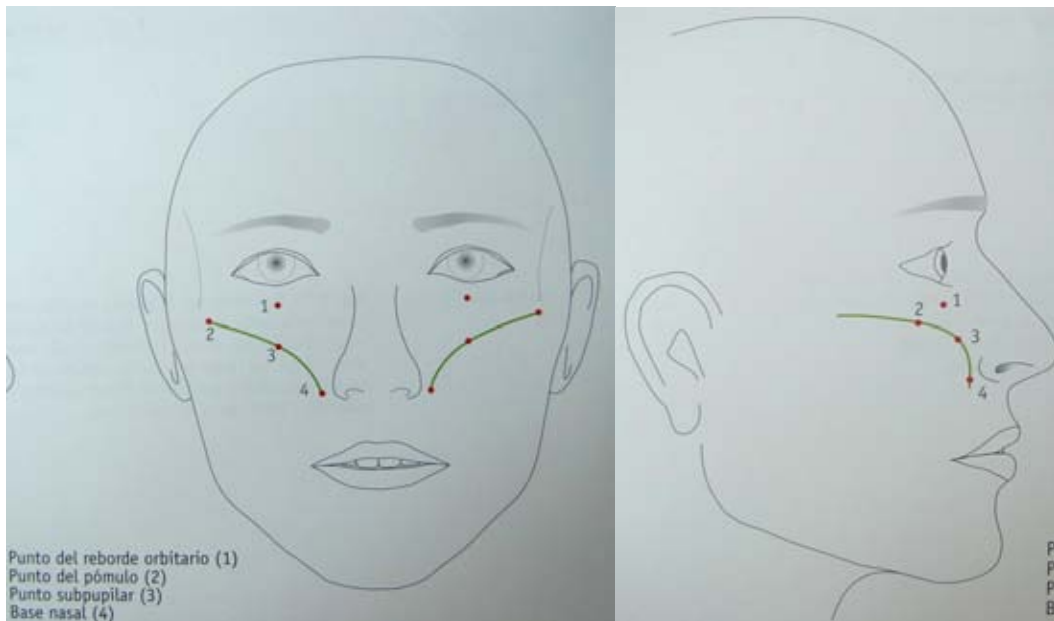


Figura 6.- Valoración del contorno de la mejilla y la armonía de los tercios faciales en vista de perfil.

Las mismas mediciones se realizaron al tomarle una fotografía de frente y de perfil a los pacientes.

El estudio radiológico consistió en la toma de radiografías comparativas de manos y pies las cuales fueron valoradas por dos radiólogos para determinar la presencia o ausencia de fusión carpal o tarsal, epífisis cónicas o falanges medias cortas o anchas (ver definiciones operacionales).

La valoración de audición la realizó el médico Audiólogo mediante audiometría tonal y/o impedanciometría para determinar si existía una audición normal o hipoacusia.

Variables de estudio

Se analizaron las siguientes variables:

Variable:	Tipo
Sexo	Cualitativa, categórica, nominal, dicotómica.
Edad	Cuantitativa, numérica, discreta.

Las manifestaciones clínicas en los sistemas enunciadas a continuación, se analizaron como variables cualitativas, categóricas, nominales, dicotómicas.

1)si=presente

2)no=ausente

Sinostosis bicoronal: fusión prematura de ambas suturas coronales identificada por radiografías de cráneo o TAC que muestran esclerosis de las suturas.

Sinostosis unicoronal: fusión prematura de una sutura coronal identificada por asimetría craneal y mediante radiografías de cráneo o TAC que muestran esclerosis de una sutura.

Macrocefalia: perímetro cefálico por arriba de la percentila 97.

Asimetría facial: diferencia en el tamaño de la cara valorado por evaluación clínica.

Hipoplasia mediofacial: falla en el desarrollo de la región media de la cara, que afecta la porción inferior de las órbitas, huesos nasales y maxila.

Fisuras palpebrales hacia abajo: canto externo de ojos dirigido hacia abajo.

Hipertelorismo ocular: incremento en el espacio entre los ojos determinado por la medición interpupilar.

Ptosis palpebral: nivel anormalmente bajo del párpado superior durante la mirada directa hacia adelante.

Hipoacusia: disminución en la audición determinada por audiometría tonal y/o impedanciometría.

Retraso psicomotor/mental: retardo o falta en la adquisición de habilidades motoras, de socialización y de lenguaje.

Manos con:

Braquidactilia: acortamiento de los dedos por falla en el desarrollo, ausencia o anomalías en la forma de falanges o metacarpos.

Clinodactilia: desviación radial de la falange distal del quinto dedo por hipoplasia de la falange media.

Pies con:

Braquidactilia: acortamiento de los dedos por falla en el desarrollo, ausencia o anomalías en la forma de falanges o metatarsos.

En radiografías de manos:

Fusión carpal: falla en la separación de las interzonas articulares en los huesos de la muñeca.

Epífisis cónicas: base ancha con parte superior en vértice.

Falange media corta y ancha: hueso medio de los dedos de menor tamaño y más ancho.

En radiografías de pies:

Fusión tarsal: falla en la separación de las interzonas articulares en los huesos del tobillo.

Epífisis cónicas: base ancha con parte superior en vértice.

Falange media corta y ancha: hueso medio de los dedos de menor tamaño y más ancho.

I. CONSIDERACIONES ÉTICAS

Se solicitó el consentimiento informado de los padres de los casos índice menores de edad que cumplieron con los criterios de inclusión.

En los casos donde se confirmó la mutación, se solicitó a los padres su autorización para participar en el estudio mediante la firma de la carta de consentimiento informado. **ANEXOS 2 y 3.**

La información personal, de identidad y del genotipo así como los resultados del estudio clínico, radiológico y audiológico se manejaron de forma estrictamente confidencial, siguiendo las normas establecidas por la declaración de Helsinki, las Buenas Prácticas Médicas y del ELSI (del inglés "Ethical, Legal and Social Issues"). El asesoramiento genético se brindó en todos los casos de acuerdo a los resultados obtenidos.

VIII. RESULTADOS

Durante el periodo comprendido de marzo a diciembre del 2007, ingresaron al protocolo 21 pacientes con el diagnóstico de craneosinostosis coronal no sindrómica. De estos, 16 pacientes (76.2%) correspondieron a pacientes del género femenino y 5 pacientes (23.8%) al género masculino, con una relación hombre-mujer 1:3.2. De acuerdo con la historia clínica se identificaron 20 casos únicos y 1 familiar (hermano menor afectado). **Tabla 3.**

No. Protocolo	Género	Edad	Familiar o aislado	Unilateral	Bilateral	Eventos quirúrgicos
1	Fem	11a5m	Aislado		SI	1
2	Fem	6a6m	Aislado		SI	No requirió***
3	Fem	5a11m	Aislado	IZQ		1
4	Fem	9a9m	Aislado	IZQ		1
5+	Masc	11a4m	Familiar		SI	No*
6	Fem	7a11m	Aislado		SI	1
7	Fem	2a7m	Aislado	DER		1
8	Masc	3a3m	Aislado		SI	2
9+	Masc	5a9m	Aislado		SI	1
10	Fem	6a8m	Aislado	IZQ		1
11	Fem	2a1m	Aislado	DER		1
12	Fem	3a4m	Aislado		SI	No requirió***
13	Fem	2a11m	Aislado	DER		1
14	Fem	1a6m	Aislado		SI	1
15	Fem	1a10m	Aislado	IZQ		1
16	Masc	5a6m	Aislado		SI	No requirió***
17	Masc	1a5m	Aislado		SI	1
18	Fem	7a8m	Aislado		SI	1
19+	Fem	3a3m	Aislado	DER		No requirió***
20	Fem	10m	Aislado	IZQ		1
21	Fem	6m	Aislado		SI	En lista de espera

Tabla 3. Relación de pacientes incluidos en protocolo marzo-diciembre del 2007

+Paciente con diagnóstico molecular positivo para síndrome de Muenke

* Familiar no autorizó evento quirúrgico.

***Los pacientes no poseen compromiso funcional o neurológico.

La edad al diagnóstico comprendió entre los 6 meses y los 11 años, con un promedio de edad de 4.1 años.

Con relación a la craneosinostosis coronal, se encontraron 12 casos con sinostosis bilateral (57.14%), 5 casos con sinostosis izquierda (23.80%) y 4 casos con sinostosis derecha (14.28%). La distribución de acuerdo a género se presenta en la **Figura 7.**

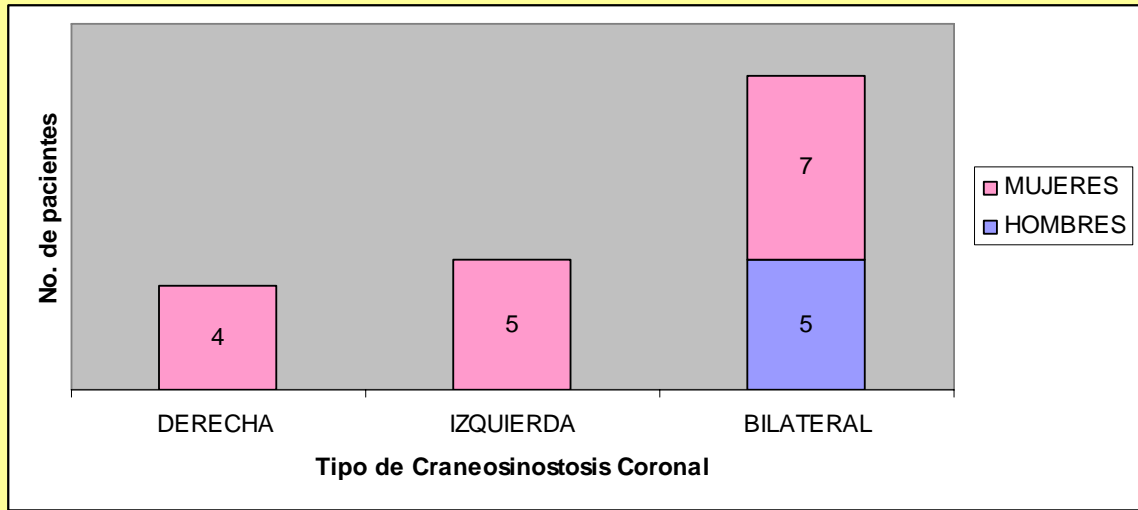


Figura 7. Distribución de pacientes de acuerdo a género.

Mediante la técnica de amplificación por reacción en cadena de la polimerasa y restricción enzimática (descrito en Material y Métodos) se identificaron 3 pacientes positivos a la mutación Pro250Arg en estado heterocigoto. El resto de los pacientes incluidos en el protocolo fue negativo a la mutación. **En la figura 8** se observa el análisis molecular de la mutación Pro250Arg.

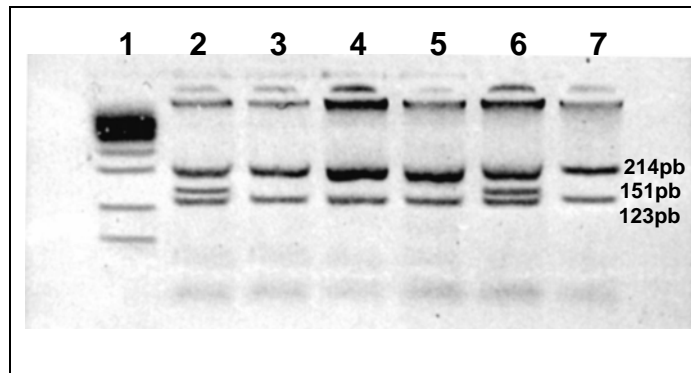


Figura 8. Gel de agarosa al 4% en donde se observa en los carriles 2 y 6 sujetos positivos a la mutación Pro250Arg, la presencia de la mutación Pro250Arg crea un sitio de restricción adicional, dando lugar al fragmento de 151 pb (pares de bases); mientras que en los carriles 3, 4 5 y 7 se encuentran pacientes negativos a la mutación. Carril 1 corresponde al marcador de pesos moleculares.

Una vez identificados los pacientes positivos a la mutación, se prosiguió al diagnóstico molecular de los familiares en primer grado y descripción de las manifestaciones clínicas y radiológicas. A continuación presentamos el árbol genealógico y características clínicas de cada uno de nuestros pacientes positivos a la mutación.

FAMILIA 1

Caso índice que corresponde a un masculino de 11 años 4 meses de edad con madre y hermano menor positivos a la mutación Pro250Arg (**figura 9**). El caso índice era candidato a remodelación craneal, sin embargo no se autorizó el evento quirúrgico por la madre. El hermano menor, a pesar de poseer craneosinostosis coronal derecha y metópica, no presenta compromiso funcional o neurológico por lo que no posee indicación quirúrgica. La madre se consideraba sana por lo que nunca había solicitado atención médica previamente. En la **Tabla 4** se presentan las características fenotípicas, radiográficas y auditivas de esta familia.

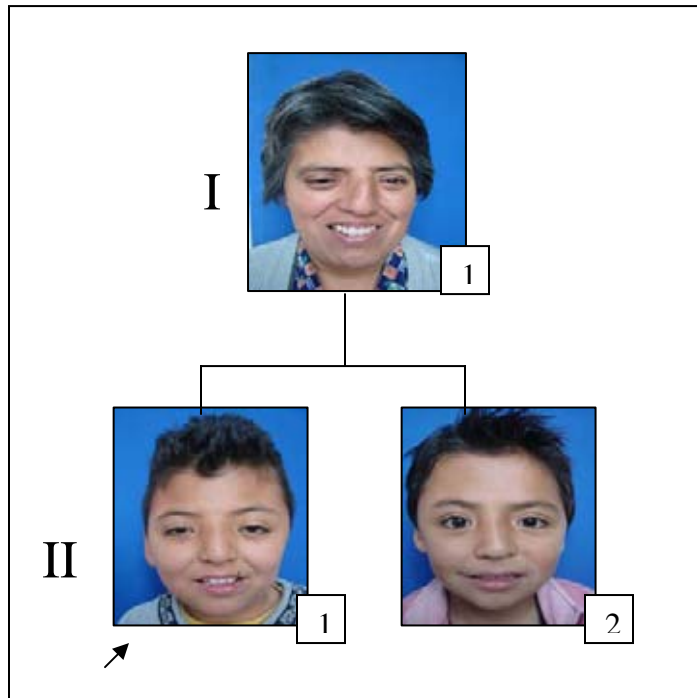


Figura 9. Obsérvese las características clínicas como fisuras palpebrales hacia abajo, asimetría facial y ptosis palpebral.

Manifestaciones clínicas: En el caso índice podemos observar que el fenotipo craneofacial se caracteriza por fisuras palpebrales hacia abajo, hipertelorismo ocular, y asimetría facial. Estas características también se presentan en la madre y el hermano menor. La hipoplasia medio facial sólo estuvo presente en la madre. En cuanto a la presencia de ptosis palpebral esta se presentó en nuestro caso índice y en la madre. En las manos se presentó braquidactilia en ambos hermanos. La macrocefalia y clinodactilia en manos no fueron características clínicas en los miembros de esta familia.

Manifestaciones radiológicas: Al analizar las radiografías de manos y pies se observó que el caso índice únicamente presentó falanges medias cortas en los pies, mientras que el hermano y la madre presentaron fusión carpal en manos.

Figura 10.

Manifestaciones audiológicas: Sin alteraciones en la audición, sin embargo con mala discriminación fonémica* en hermano menor y la madre.

Nuestro caso índice no pudo ser valorado a nivel audiológico debido a que se encontraba bajo tratamiento por el servicio de Otorrinolaringología y había sido sometido a colocación de tubos de ventilación en el año del 2003.

MANIFESTACIONES CLINICAS	CASO INDICE	HERMANO	MADRE
EDAD	11 ^a 4m	6 ^a 6m	44 ^a
TIPO SINOSTOSIS	Bicoronal	Coronal derecha y metópica	No valorable por edad
MACROCEFALIA	No	No	No
HIPOPLASIA MEDIO FACIAL	No	No	Si
FISURAS PALPEBRALES HACIA ABAJO	Si	Si	Si
HIPERTELORISMO OCULAR	Si	Si	Si
PTOSIS PALPEBRAL	Si	No	Si
ASIMETRIA FACIAL	Si	Si	Si
RETRASO PSICOMOTOR	Si	Si	Si
HIPOACUSIA	No valorable	Mala discriminación fonémica*	Mala discriminación fonémica*
BRAQUIDACTILIA MANOS	Si	Si	No
CLINODACTILIA MANOS	No	No	No
FUSION CARPAL MANOS	No	Si	Si
EPIFISIS CONICAS MANOS	No	No	No
FALANGE MEDIA CORTA MANOS	No	No	No
BRAQUIDACTILIA PIES	No	No	Si
FUSION TARSAL PIES	No	No	No
EPIFISIS CONICAS PIES	No	No	No
FALANGE MEDIA CORTA PIES	Si	No	Si
EVENTOS QUIRURGICOS	No	No	No

Tabla 4. Características clínicas, radiológicas y audiológicas en familia 1.

*La discriminación fonémica se caracteriza por dificultad para otorgar un significado a las palabras que se escuchan.



Figura 10. Se observa la fusión carpal de huesos grande y ganchoso izquierdos en hermano del caso índice. (II 2)

FAMILIA 2

Caso índice que corresponde a masculino de 5 años 9 meses de edad con craneosinostosis bicoronal, cuya madre y hermana menor poseen un fenotipo normal, sin embargo fueron positivas a la mutación Pro250Arg (**Figura 11 y 12**). El caso índice fue sometido a frontoorbitotomía y avance frontal en 2003, con buena evolución post quirúrgica. El padre fue negativo a la mutación Pro250Arg. Por último, el hermano mayor - positivo a la mutación - posee hidrocefalia sin craneosinostosis; en el año de 1999 se sometió a colocación de sistema de derivación ventrículo peritoneal. En la **tabla 5** se presentan las características fenotípicas y radiográficas de esta familia.

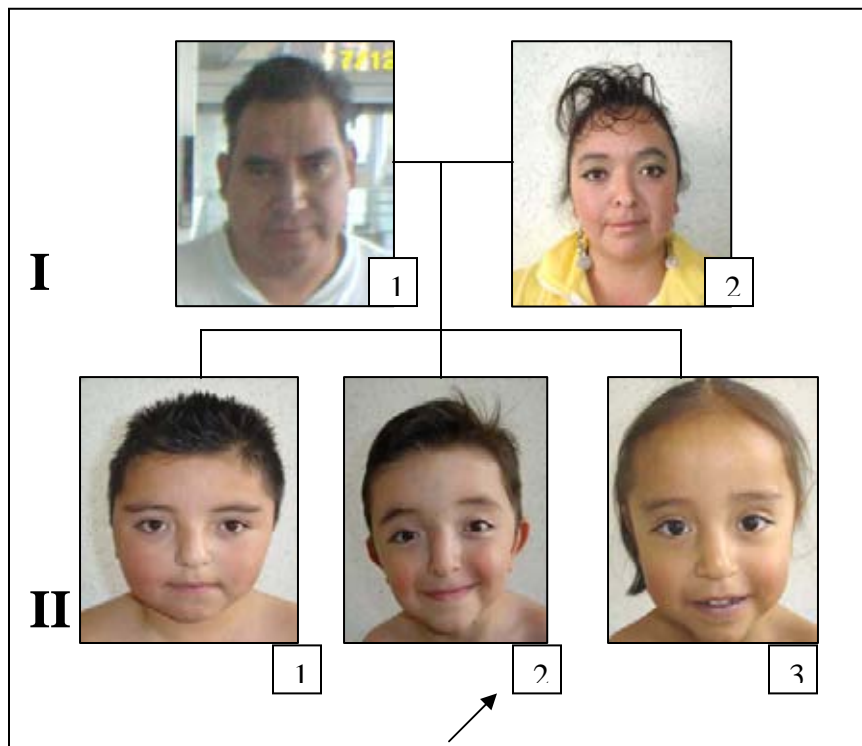


Figura 11. Manifestaciones craneofaciales en caso índice y sus familiares en primer primer grado. Observe la expresividad variable del fenotipo.



Figura 12. Restricción enzimática en gel de agarosa 3% en donde el carril 1 corresponde al marcador de pesos moleculares. Carriles 2-5 corresponden al caso índice y familiares en primer grado positivos a la mutación. Carril 6: control positivo a la mutación Pro250Arg, Carril 7: control sano.

Manifestaciones clínicas: en esta familia madre e hijos son positivos a la mutación y presentan clinodactilia y braquidactilia. La asimetría facial estuvo presente en el caso índice, hermano mayor y la madre. Las fisuras palpebrales hacia abajo se encontraron presentes únicamente en la madre. La hipoplasia medio facial y el hipertelorismo ocular sólo se presentaron en el caso índice **(Figura 13)**.

La hermana menor y la madre – ambas positivas a la mutación – clínicamente son sanas y poseen dismorfias menores como braquidactilia y clinodactilia de manos.

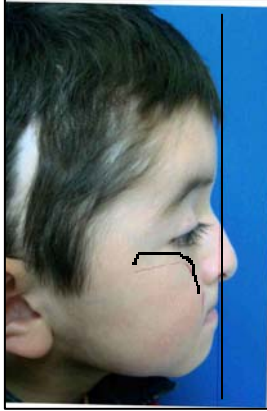


Figura 13.
Se observa la hipoplasia medio facial anteroposterior y prognatismo en nuestro caso índice.

Manifestaciones radiológicas: No se observaron alteraciones radiográficas de manera constante en todos los individuos positivos a la mutación y hubo variabilidad en las manifestaciones; éstas comprendieron desde epífisis cónicas en la hermana menor, fusión carpal en manos en la madre, falange media corta en manos y pies en caso índice y madre respectivamente. **Figura 14.**

Manifestaciones audiológicas: La madre presentó anacusia izquierda. El resto de los integrantes de la familia sólo presentaron mala discriminación fonémica.

MANIFESTACIONES CLÍNICAS	CASO ÍNDICE	HERMANO	HERMANA	MADRE
EDAD	5 ^a 9m	9 ^a 10m	3 ^a 9m	33 ^a
TIPO SINOSTOSIS	Bicoronal	**	No posee	No valorable
MACROCEFALIA	No	No	No	No
HIPOPLASIA MEDIO FACIAL	Si	No	No	No
FISURAS PALPEBRALES HACIA ABAJO	No	No	No	Si
HIPERTELORISMO OCULAR	Si	No	No	No
PTOSIS PALPEBRAL	No	No	No	No
ASIMETRÍA FACIAL	Si	Si	No	Si
RETRASO PSICOMOTOR	No	No	No	No
HIPOACUSIA	Mala discriminación fonémica	Mala discriminación fonémica	Mala discriminación fonémica	Anacusia izquierda
BRAQUIDACTILIA MANOS	Si	Si	Si	Si
CLINODACTILIA MANOS	Si	Si	Si	Si
FUSION CARPAL MANOS	No	No	No	Si
EPIFISIS CONICAS MANOS	No	No	No	No
FALANGE MEDIA CORTA MANOS	Si	No	No	No
BRAQUIDACTILIA PIES	No	Si	No	No
FUSION TARSAL PIES	No	No	No	No
EPIFISIS CONICAS PIES	No	No	Si	No
FALANGE MEDIA CORTA PIES	No	No	No	Si
EVENTOS QUIRURGICOS	1	3**	No	No

Tabla 5. Características clínicas, radiológicas y audiológicas en familia 2.

**Tres eventos quirúrgicos: en 1999 colocación del sistema de derivación ventrículo peritoneal (SDVP), en septiembre del 2000 neuroendoscopia para septostomia y tercer ventriculostomia y en octubre del 2000 revisión del SDVP



Figura 14. Observe epífisis cónica en tercer metatarsiano en su porción proximal en la hermana (II 3).

FAMILIA 3

Caso índice que corresponde a femenino de 3 años 3 meses de edad con craneosinostosis coronal derecha, la cual no requirió corrección quirúrgica por no poseer complicaciones funcionales o neurológicas. El padre se conocía sano y sin embargo posee la mutación Pro250Arg. A la madre se le realizó el estudio molecular y resultó negativa a la mutación. En la **tabla 6** se describen las manifestaciones clínicas, radiológicas y audiológicas asociadas. En el padre, las manifestaciones clínicas faciales relacionadas con el síndrome de Muenke no lograron analizarse claramente ya que posee deformidades faciales secundarias a herida por arma de fuego (**Figura 15**).

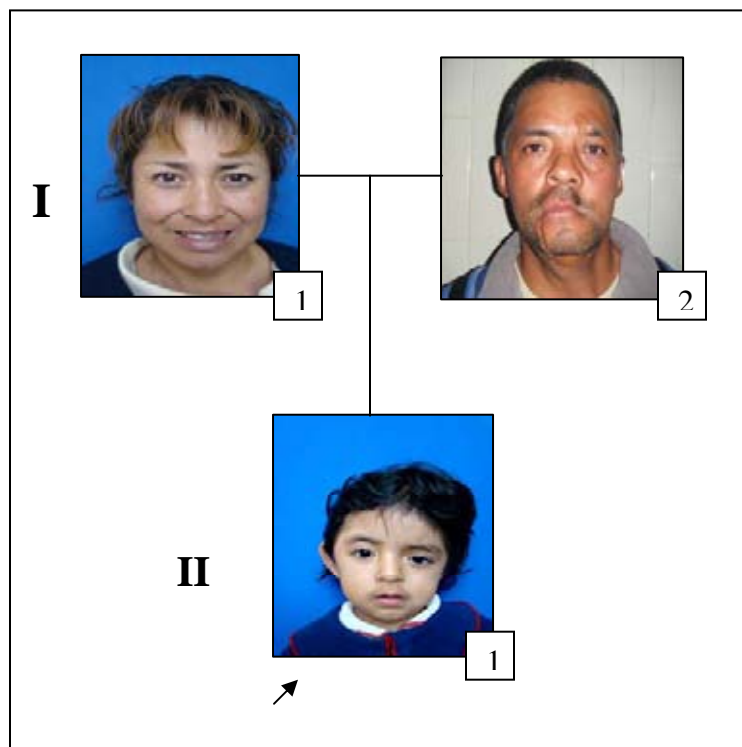


Figura 15.

Obsérvese asimetría facial en caso índice.

Manifestaciones clínicas: asimetría facial en nuestro caso índice, además de hipoplasia mediofacial e hipertelorismo ocular.

Manifestaciones radiográficas: padre con falanges medias cortas en pies y la hija con epífisis cónicas en pies.

Manifestaciones audiológicas: ambos con discriminación fonémica alterada.

MANIFESTACIONES CLINICAS	CASO INDICE	PADRE
EDAD	3ª3m	37ª
TIPO SINOSTOSIS	Coronal derecha	No valorable
MACROCEFALIA	No	No
HIPOPLASIA MEDIO FACIAL	Si	No valorable
FISURAS PALPEBRALES HACIA ABAJO	No	Si
HIPERTELORISMO OCULAR	Si	No valorable
PTOSIS PALPEBRAL	No	No
ASIMETRIA FACIAL	Si	No valorable
RETRASO PSICOMOTOR	Si	No
HIPOACUSIA	Mala discriminación fonémica	Mala discriminación fonémica
BRAQUIDACTILIA MANOS	Si	No
CLINODACTILIA MANOS	No	No
FUSION CARPAL MANOS	No	No
EPIFISIS CONICAS MANOS	No	No
FALANGE MEDIA CORTA MANOS	No	No
BRAQUIDACTILIA PIES	No	No
FUSION TARSAL PIES	No	No
EPIFISIS CONICAS PIES	Si	No
FALANGE MEDIA CORTA PIES	No	Si
EVENTOS QUIRURGICOS	No	No

Tabla 6. Características clínicas, radiológicas y audiológicas en familia 3.

IX. DISCUSIÓN

La frecuencia del síndrome de Muenke en la muestra estudiada fue de 14.28%, lo que indica que puede ser una causa frecuente de craneosinostosis coronal en la población que acude al Instituto Nacional de Pediatría. Es importante mencionar que hasta antes de haber realizado el análisis molecular, en la familia 1 se consideró el diagnóstico de síndrome de Saethre-Chotzen y en la familia 2 se había considerado que el caso índice y su hermano presentaban entidades diferentes pero no relacionadas en etiología. Lo anterior nos sugiere que en nuestra población existen pacientes con craneosinostosis coronal en quienes no se ha establecido el diagnóstico adecuado de síndrome de Muenke.

Dentro de la familia 2, el hermano mayor del caso índice presenta hidrocefalia sin craneosinostosis. En la literatura que se revisó para la realización de este protocolo, no se encontró la hidrocefalia como manifestación clínica asociada al síndrome de Muenke. Dado que previamente, se descartaron en este paciente, otros posibles factores condicionantes de hidrocefalia, consideramos que el espectro clínico del síndrome de Muenke no está completamente delineado y que la hidrocefalia podría ser una manifestación asociada.

En nuestras tres familias se demuestra la expresividad variable del gen, por ejemplo, en el caso de la familia 1, el caso índice presenta sinostosis bicoronal, ptosis palpebral y falange media corta, mientras que su hermano posee sinostosis unilateral, con fusión carpal en manos. Así mismo, en la familia 2, se presenta un caso de expresión mínima en el cual la hermana del caso índice se encuentra sin craneosinostosis y con manifestaciones fenotípicas y radiográficas mínimas. En el caso de la familia 3, las manifestaciones fenotípicas no pudieron analizarse debido a que el padre presentaba deformidades faciales secundarias a herida por arma de fuego. Sin embargo, dentro de sus manifestaciones radiográficas sólo presentó una de las seis características evaluadas. Lo anterior debe alertar al clínico que el síndrome de Muenke tiene expresividad variable con incluso manifestaciones mínimas, por lo que es indispensable para un diagnóstico certero realizar el

estudio clínico así como radiológico y audiológico en los familiares de primer grado.

Antes de realizar el análisis molecular en los familiares en primer grado, los padres positivos a la mutación se conocían como sanos, sin embargo el diagnóstico positivo a la mutación Pro250Arg los convierte en portadores con riesgo de transmisión del 50%. Una vez hecho el diagnóstico molecular se asesoró a los padres y se les sugirió acudir con médicos especialistas para la atención adecuada de las áreas afectadas. Lo anterior, permitió mejorar el asesoramiento genético con relación a riesgo de recurrencia, por lo que nuestros resultados confirman, lo sugerido en la literatura, de realizar el estudio molecular en familiares de primer grado aún cuando clínicamente no muestren manifestaciones clásicas del síndrome de Muenke.

El número de pacientes estudiados en el presente trabajo es bajo, por lo que la frecuencia del síndrome de Muenke observada puede ser no exacta, por lo que se requiere una muestra mayor para una evaluación estadística certera. Sin embargo, el identificar en 21 casos analizados, 3 familias con síndrome de Muenke, nos permite sugerir que todos los pacientes con craneosinostosis coronal no sindromática, ya sea unilateral o bilateral deben ser sometidos al diagnóstico molecular en búsqueda de la mutación Pro250Arg y de esta forma se podrá brindar un asesoramiento genético certero incluso para tomar decisiones con relación al manejo quirúrgico de los pacientes. Thomas y cols. en 2005, observó que los pacientes con craneosinostosis coronal positivos a la mutación Pro250Arg requerían una reoperación en el 20.7% de los casos con relación al 4.3% de los pacientes negativos a la mutación, lo cual fue estadísticamente significativo además de que los casos con síndrome de Muenke parecen requerir intervenciones tempranas con una operación de liberación posterior (alrededor de los 6 meses) para evitar un frontal muy prominente, dichos hallazgos deberán ser evaluados en los pacientes que se identifiquen en nuestra población.

ANEXO 1

REGISTRO INP:

REGISTRO LABORATORIO BIOLOGÍA MOLECULAR:

HOJA DE CAPTACIÓN DE DATOS DIAGNÓSTICO MOLECULAR DEL SÍNDROME DE MUENKE Y SU DESCRIPCIÓN CLÍNICA EN PACIENTES CON CRANEOSINOSTOSIS CORONAL

NOMBRE DEL PACIENTE: _____

EDAD _____ SEXO _____ PESO _____ TALLA _____

NOMBRE DE LA MADRE _____ EDAD _____

NOMBRE DEL PADRE _____ EDAD _____

DOMICILIO _____

TELÉFONO _____

FECHA DE ELABORACIÓN: _____

ÁRBOL GENEALÓGICO

ANEXO 1

MANIFESTACIONES CLÍNICAS

1 Si = PRESENTE

2 No = AUSENTE

D: derecha

I: izquierda

SINOSTOSIS UNICORONAL

SINOSTOSIS BICORONAL

MACROCEFALIA
MEDIOFACIAL

HIPOPLASIA

FISURAS PALPEBRALES
HACIA ABAJO

HIPERTELORISMO
OCULAR

PTOSIS PALPEBRAL

ASIMETRÍA FACIAL

RETRASO PSICOMOTOR O MENTAL

HIPOACUSIA

DISMORFIAS EN MANOS:

BRAQUIDACTILIA

DISMORFIAS EN PIES:

BRAQUIDACTILIA

CLINODACTILIA

RADIOGRAFIAS EN MANOS

FUSIÓN CARPAL

RADIOGRAFIAS EN PIES

FUSIÓN TARSAL

EPÍFISIS CÓNICAS

EPÍFISIS CÓNICAS

FALANGE MEDIA CORTA

FALANGE MEDIA CORTA

BIOLOGÍA MOLECULAR

MUTACIÓN Pro250Arg

CIRUGÍA

CORRECCIÓN QX

ANEXO 2

CARTA CONSENTIMIENTO INFORMADO (MENORES DE EDAD)

México D.F. a ___ de _____ de 200 ___

Por medio de la presente hago constar que estoy de acuerdo en que mi hijo (a) _____ participe en el proyecto "Diagnóstico Molecular del Síndrome de Muenke y su Descripción Clínica en Pacientes con Craneosinostosis Coronal" que se lleva a cabo en el Instituto Nacional de Pediatría.

Se me ha explicado que para la realización del estudio, se requiere una muestra de saliva de mucosa oral, la cual será tomada con todos los requisitos de seguridad, por lo que representa un riesgo mínimo. Además, me han informado que de la muestra de saliva se obtendrá el material genético cuyo análisis permitirá identificar un cambio o mutación que es responsable de la presencia de la craneosinostosis en algunos pacientes y lo que permite establecer el diagnóstico de síndrome de Muenke.

En caso de que mi hijo (a) presente la mutación autorizó que se le realice un estudio clínico con mediciones faciales con toma de una fotografía para ello, así como toma de radiografías comparativa de manos y pies y la realización de estudios para la evaluación de su audición. Se me ha informado que todos los estudios clínicos y de gabinete se realizarán por profesionales en el área y que dichas valoraciones así como los estudios no representan ningún riesgo para mi hijo (a). Se me ha explicado que los resultados de dichos estudios ayudarán a la descripción clínica de los pacientes con síndrome de Muenke así como para detectar individuos con la mutación pero sin manifestaciones clínicas.

Asimismo se me ha indicado que toda la información derivada del estudio es absolutamente confidencial y que sólo a los padres, nos informarán los resultados de las valoraciones clínicas y de los estudios realizados en mi hijo (a). Se me informó que la participación es completamente voluntaria por lo que si no deseamos participar, ello no repercutirá en la atención de mi hijo (a).

A T E N T A M E N T E

Padre, Madre o Tutor

Testigo

Médico Responsable: Dra. Ariadna González del Ángel; Médico Genetista.
Teléfono 10-84-09-00 Ext. 1306

ANEXO 3

CARTA CONSENTIMIENTO INFORMADO (MAYORES DE EDAD)

México D:F: a ___ de _____ de 200 ___

Por medio de la presente hago constar que estoy de acuerdo en que yo _____ participe en el proyecto “Diagnóstico Molecular del Síndrome de Muenke y su Descripción Clínica en Pacientes con Craneosinostosis Coronal” que se lleva a cabo en el Instituto Nacional de Pediatría.

Se me ha explicado que para la realización del estudio, se requiere una muestra de 3 ml sangre, la cual será tomada con todos los requisitos de seguridad por lo que representa un riesgo mínimo. Además, me han informado que de la muestra de sangre se obtendrá el material genético cuyo análisis permitirá identificar un cambio o mutación que es responsable de la presencia de la craneosinostosis en algunos pacientes lo que permite establecer el diagnóstico de síndrome de Muenke.

En caso de que yo presente la mutación autorizo que se me realice un estudio clínico con mediciones faciales con toma de una fotografía para ello, así como la toma de radiografías comparativas de manos y pies, y realización de estudios para la evaluación de mi audición. Se me ha informado que todos los estudios clínicos y de gabinete se realizarán por profesionales en el área y que dichas valoraciones así como los estudios no representan ningún riesgo para mí. Se me ha explicado que los resultados de dichos estudios ayudarán a la descripción clínica de los pacientes con síndrome de Muenke así como para detectar individuos con la mutación pero sin manifestaciones clínicas.

Asimismo se me ha indicado que toda la información derivada del estudio es absolutamente confidencial y que sólo a mí se me informarán los resultados de mis valoraciones clínicas y de los estudios. Se me indicó que mi participación es completamente voluntaria por lo que si no deseo participar, ello no repercutirá en la atención de mi hijo (a).

A T E N T A M E N T E

Padre, Madre o Tutor

Testigo

Médico Responsable: Dra. Ariadna González del Ángel; Médico Genetista.
Teléfono 10-84-09-00 Ext. 1306

BIBLIOGRAFÍA

Andrew O, M Wilkie Craniosynostosis: Genes and Mechanisms. Hum Mol Genet. 1997; 6: 1647-1656.

Arnett WG, McLaughlin PR. Planificación facial y dental para ortodoncistas y cirujanos orales. España: Elsevier; 2005. 47-76.

Bellus G, Gaudenz K, Zackai E, Clarke L, Szabo J, Francomano CA et al. Identical Mutations in Three Different Fibroblast Growth Factor Receptor Genes in Autosomal Dominant Craniosynostosis Syndromes. Nat Genet 1996; 14: 174-176.

Bonaventure J, Rousseau F, Legeai-Mallet L, Le Merrer M, Munnich A, Maroteux P. Common Mutations in the Fibroblast Growth Factor Receptor 3 (FGFR3) Account for Achondroplasia, Hypochondroplasia and Thanatophoric Dwarfism. Am J Med Genet 1996; 63:148-154.

Cohen M. Etiopathogenesis of craniosynostosis. Neurosurg Clin N Am 1997; 2: 507-512.

Delashaw J, Persing J, Jane J. Cranial Deformation Craniosynostosis. A new explanation. Neurosurg Clin N Am 1991; 2: 611-619.

Deng C, Wynshaw-Boris A, Zhou F, Kuo A, Leder P. Fibroblast Growth Factor Receptor 3 is a negative regulator of bone growth. *Cell* 1996; 84: 911-921.

Flores L. Avances en Craneosinostosis. *Rev Mex Neuroci* 2003; 4: 63-67.

Givol D, Yayan A. Complexity of FGF Receptors: Genetic Basis for Structural Diversity and Functional Specificity. *FACEB J* 1992; 6 : 3362-3369.

Golla A, Lichtner P, Von Gernet S, Winterpacht A, Fairley J, Murken et al. Phenotypic Expression of the Fibroblast Growth Factor Receptor 3 (FGFR3) Mutation P250R in a large craniosynostosis Family. *J Med Genet* 1997; 34: 683-684.

Graham JM, Braddock SR, Mortier GR, Lachman R, Van Dop C, Jabs EW. Syndrome of Coronal Craniosynostosis With Brachydactyly and Carpal/Tarsal Coalition Due to Pro250Arg Mutation in FGFR3 Gene. *Am J of Med Genet* 1998; 77: 322-329.

Gyapay G, Morissette J, Vignal A, Dib C, Fizame C, Millasseau et al. The 1993-1994 Genethon Human Genetic Linkage Map. *Nat Genet* 1994; 7: 246-339.

Hall J, Froster-Iskenius UJ, Allanson J. Handbook of Normal Physical measurements. New York: Oxford University Press;1989.

Heutink P, Vermeij-Keers C, Oostra B. The Genetic Background of Craniosynostosis Syndromes. *Eur J Hum Genet* 1995; 3: 312-323.

Hughes S. Differential Expression of the Fibroblast Growth Factor Receptor (FGFR) Multigene Family in Normal Human Adult Tissues. *J Histochem Cytochem* 1997; 45: 1005-1019.

Johnson D, Williams L. Structural and Functional Diversity in the FGF Receptor Multigene Family. *Adv Cancer Res* 1991; 60: 1-41.

Kanai M, Goke M, Tsunekawa S, Podolsky DK. Signal Transduction Pathway of Human Fibroblast Growth Factor Receptor 3. Identification of a novel 66kDA Phosphoprotein. *J Biol Chem* 1997; 272 : 6621-6628.

Keegan K, Jonson DE, Williams LT, Hayman MJ. Isolation of an additional member of the Fibroblast Growth Factor Receptor Family, FGFR-3. *Proc Natl Acad Sci USA*. 1991; 88: 1095-1099.

Lajeunie E, Le Merrer M, Bonaiti-Pellie C, Marchac D, Renier D. Genetic study of Nonsyndromic coronal craniosynostosis. *Am J Med Genet* 1995; 55: 500-504.

Lajeunie E, E Ghouzzi V, Lee Merrer M, Munich A, Bonaventure J, Renier D. Sex Related Expressivity of the Phenotype in Coronal Craniosynostosis Caused by Recurrent P250R FGFR3 mutation. *J Med Genet* 1999; 36: 9-13

Mason YJ. The Ins and Outs of Fibroblast Growth Factors. *Cell* 1994; 78: 547-552.

Meyers G, Orlow S, Munro I, Przylepa K, Jabs E. Fibroblast Growth Factor Receptor 3 (FGFR3) Transmembrane Mutation in Crouzon Syndrome with Acanthosis Nigricans. *Nat Genet* 1995; 11: 462-464.

Moloney DM, Wall SA, Ashworth GJ, Oldridge M, Glass IA, Francomano CA et al. Prevalence of Pro250Arg Mutation of Fibroblast Growth Factor Receptor 3 in Coronal Craniosynostosis. *Lancet* 1997; 349: 1059-1062.

Muenke M, Schell U. Fibroblast-Growth-Factor Receptor Mutations in Human Skeletal Disorders. *Trends Genet* 1995; 11: 308-313.

Pasquale EB. (1990): A Distinctive Family of Embryonic Protein-Tyrosine Kinase Receptors. *Proc Natl Acad Sci USA* 1990; 87:5812-5816

Muenke M, Wilkie AOM. Prevalence of Pro250Arg Mutation of Fibroblast Growth Factor Receptor 3 in Coronal Craniosynostosis. *Lancet* 1997; 349: 1059-1062

Perez- Castro AV, Wilson J, Alter MR. Genomic Organization of the Human Fibroblast Growth Factor Receptor 3 (FGFR3) Gene and Comparative Sequence Analysis with the Mouse FGFR3 gene. *Genomics* 1997; 41: 10-16.

Reardon W, Wilkes D, Rutland P, Pulleyn L, Malcom S, Dean J et al. . Craniosynostosis Associated with FGFR3 Pro250Arg Mutation Results in a Range of Clinical Presentations Including Unisutural Sporadic Craniosynostosis. *J Med Genet* 1997; 34: 632-636.

Ridgway E, Weiner H. Skull deformities. *Pediatr Clin North Am* 2004; 51: 359-387.

Rimoin D, Connor JM, Pyeritz R. Emery and Rimoin's Principles of Medical Genetics. 3rd. Edition. Boston: Churchill-Livingstone; 1997. 1128-1132.

Rousseau F, Bonaventure J, Legai- Mallet L, Pelet A, Rozet JM, Maroteaux P et al. Mutations in the Gene Encoding Fibroblast Growth Factor Receptor 3 in Achondroplasia. *Nature* 1994; 371: 252-254.

Sabino G, Di Rocco F, Zampino G, Tamburrini G, Calderelli M, Di Rocco C. Muenke Síndrome. *Childs Nerv Syst* 2004; 20: 297-301.

Shiang R, Thompson L, Zhou Y, Church D, Fielder T, Bocian M et al. Mutations in the Transmembrane Domain of FGFR3 Cause the Most Common Genetic Form of Dwarfism, Achondroplasia. *Cell* 1994; 78: 335-342.

Stevenson R, Hall J, Goodman M. Human Malformations and Related Anomalies. New York: Oxford University Press. 1993. 589-599.

Thomas GP, Wilkie AO, Richards PG, Wall SA. FGFR3 P250R mutation increases the risk of reoperation in apparent "nonsyndromic" coronal craniosynostosis. *J Craniofac Surg* 2005; 16: 347-52.

URL1 [http://www. The craniofacial Support Group](http://www.TheCraniofacialSupportGroup.org), Abril 2002.

Vajo Z, Francomano CA, Wilkin DJ. The Molecular and Genetic Basis of Fibroblast Growth Factor Receptor 3 Disorders: The Achondroplasia Family of Skeletal Dysplasias, Muenke Craniosynostosis, and Crouzon Syndrome with Acanthosis Nigricans. *Endocr Rev* 2000; 21: 23-39.

Webster MK, Donoghue DJ. FGFR Activation in Skeletal Disorders: too Much of a Good Thing. *Trends Genet* 1997; 13: 178-182.

Wilkie AOM, Morris-Kay GM, Jones EY, Heath JK. Functions of Fibroblast Growth Factors and Their Receptors. *Curr Biol* 1995; 5: 500-507.

Wilkie AOM. Cranyosinostosis: Genes and Mechanisms. *Human Molec Genet* 1997; 6: 1647-1656.

Wuechner C, Nordqvist AC, Winterpacht A, Zabel B, Schaling M. Developmental Expression of Splicing Variants of Fibroblast Growth Factor Receptor 3 (FGFR3) in mouse. *Int J Dev Biol* 1996; 40: 1185-1188.

Zamora EC, Duarte IS. Atlas de Cefalometría Análisis Clínico y Práctico. *Actualidades Médico Odontológicas: Latinoamérica*; 2003. 213-40.