

**PATRÍCIA CASPARY**

**Síndrome ADULT: descrição clínica de cinco membros da mesma família, aspectos  
histológicos e investigação de mutação genética no *p63***

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Medicina e Ciências da Saúde da Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul como parte dos requisitos para a obtenção do grau de Mestre em Medicina.

Área de Concentração: Clínica Médica  
Orientadora: Profa. Dra. Denise Cantarelli Machado  
Co-orientador: Prof. Dr. Hiram Lorangeira de Almeida Jr

PORTO ALEGRE

2012

## **AGRADECIMENTOS**

À minha família pelo incentivo;

Ao meu marido, Alberto, pela compreensão e estímulo;

À Profa. Dra. Denise Cantarelli Machado, pela disponibilidade para me orientar e auxiliar nas dificuldades durante o desenvolvimento do trabalho;

Ao Daniel Rodrigo Marinowic pelo auxílio no desenvolvimento do trabalho;

Ao Prof. Dr. Hiram Larangeira de Almeida Jr por ter acreditado em mim desde que fui residente de dermatologia e pela ajuda fundamental na realização deste trabalho;

À Santa Casa de Misericórdia de Porto Alegre por ter cedido espaço e material necessários.

## ÍNDICE

<b>Lista de Figuras</b>	<b>v</b>
<b>Lista de Tabelas</b>	<b>vi</b>
<b>Lista de Abreviaturas</b>	<b>vii</b>
<b>Resumo</b>	<b>viii</b>
<b>Abstract</b>	<b>ix</b>
<b>1. Introdução</b>	<b>10</b>
1.1 O Gene <i>p63</i> e a Pele	10
1.2 Síndromes Relacionadas ao <i>p63</i>	11
1.3 A Síndrome ADULT	12
<b>2. Justificativa</b>	<b>13</b>
2.1 Hipóteses	13
<b>3. Objetivos</b>	<b>14</b>
<b>4. Pacientes e Métodos</b>	<b>15</b>
4.1 Aspectos Éticos	15
4.2 População	15
4.3 Extração do DNA e Sequenciamento do Éxon 8 do Gene <i>p63</i>	16
4.4 Microscopia Óptica e Eletrônica de Biópsia Cutânea	17
<b>5. Resultados</b>	<b>18</b>
5.1 Aspectos Clínicos Observados nos Pacientes com Síndrome ADULT	18
5.2 Mutação no Éxon 8 de Gene <i>p63</i>	28

<b>5.3 Análise Histológica da Epiderme e da Derme dos Pacientes III:4 e III:2</b>	<b>29</b>
<b>6. Discussão/Conclusão</b>	<b>32</b>
<b>7. Referências</b>	<b>34</b>
<b>Anexos</b>	<b>36</b>
<b>Anexo 1 Artigo Submetido para Publicação</b>	<b>37</b>
<b>Anexo 2 Carta de Aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa</b>	<b>48</b>
<b>Anexo 3 Folha de Rosto CONEP</b>	<b>49</b>

## LISTA DE FIGURAS

<b>Figura 1-</b> Heredograma construído a partir do paciente (III:4) com Síndrome ADULT	18
<b>Figura 2</b> - Paciente II:2 – mãos	19
<b>Figura 3</b> - Paciente II:2 – unhas	20
<b>Figura 4</b> - Paciente II:2 – tórax	20
<b>Figura 5</b> - Paciente III:2 – face	21
<b>Figura 6</b> - Paciente III:2 – mão	22
<b>Figura 7</b> - Paciente III: 4 – palma	23
<b>Figura 8</b> - Paciente III: 4 – dentes	24
<b>Figura 9</b> - Paciente III: 4 – pés	24
<b>Figura 10</b> - Paciente III:4 – tórax	25
<b>Figura 11</b> - Paciente IV: I – palma	26
<b>Figura 12</b> - Paciente IV: I – unhas	26
<b>Figura 13</b> - Paciente IV: I – dentes	27
<b>Figura 14</b> - Paciente IV: I – polpa digital	27
<b>Figura 15</b> - Imagem do sequenciamento genético do paciente III:4	29
<b>Figura 16</b> - Imagem histológica da biópsia da pele do antebraço do paciente III:4	30
<b>Figura 17</b> - Imagem histológica da biópsia da pele da região palmar do paciente III:4	30
<b>Figura 18</b> - Imagem histológica da biópsia da pele do antebraço do paciente III:2	31
<b>Figura 19</b> - Imagem da microscopia eletrônica da biópsia do antebraço paciente III:2	31

## **LISTA DE TABELAS**

**Tabela 1-** Características fenotípicas dos membros afetados da família

28

## LISTA DE ABREVIATURAS

**EEC** – Ectrodactilia-Displasia Ectodérmica-Lábio/Palato Fendido, do inglês:

*Ectrodactyly-Ectodermal Dysplasia-Cleft Lip/Palate*

**DNA** – Ácido Desoxirribonucleico, do inglês: *Deoxyribonucleic Acid*

**LMS** – Síndrome membro-mama, do inglês: *Limb-Mammary-Syndrome*

**ADULT** – Acro-Dermato-Ungueal-Lacrimal-Dentes, do inglês *Acro-Dermato-*

*Ungueal-Lacrimal-Tooth*

**PCR** – Reação em Cadeia da Polimerase, do inglês: *Polymerase Chain Reaction*

**PBS** – Solução tampão fosfato-salina, do inglês: **Phosphate Buffered Saline**

**HE** – Hematoxilina/Eosina

## RESUMO

A ADULT (acro-dermato-ungueal-lacrimonal-tooth) é uma síndrome genética humana que se manifesta clinicamente por alterações cutâneas e do desenvolvimento dos apêndices embrionários. Sua etiologia foi identificada inicialmente em 2001, mas atualmente sabe-se que está relacionada a mais de uma mutação no gene *p63*. Apesar de descrita pela primeira vez há quase duas décadas (1993) na Alemanha, a síndrome ainda é pouco reportada e esta é a primeira família brasileira descrita.

Neste trabalho descrevemos os aspectos clínicos de cinco indivíduos de uma mesma família, os quais apresentavam manifestações fenotípicas compatíveis com a síndrome ADULT. Os achados clínicos incluem atelia/hipotelia, fotossensibilidade, distrofia ungueal, anormalidades dentárias e obstrução do ducto lacrimal. A dermatoglia, manifestação clínica demonstrada em todos os acometidos desta família, não fora descrita anteriormente nos portadores da síndrome. A avaliação histológica por microscopia óptica evidenciou retificação das papilas dérmicas e a análise por microscopia eletrônica mostrou alteração nas fibras colágenas da derme. O sequenciamento genético através de amostras de sangue periférico identificou uma mutação no gene *p63*, previamente conhecida como R298Q.

Palavras-chave: displasia ectodérmica, displasia mamária, genodermatose.



## ABSTRACT

ADULT (*acro-dermato-ungueal-tooth*) is a human genetic syndrome that manifests clinically by skin and embryonic appendages anomalies. This syndrome pathogenesis was first identified in 2001, but nowadays it is related to more than one mutation in *p63* gene. Although described almost 20 years ago (1993) in Germany, this syndrome still have few reports and this is the first brazilian family.

We report here the clinical aspects of five members of a family which clinical features corresponded to phenotypic ADULT manifestations. The clinical aspects included athelia/hypotelia, photosensitivity, dystrophic nails, tooth anomalies and lacrimal duct obstruction. The adermatoglyphia, manifestation found in all affected members of this family, was not described before. The histologic examination demonstrated flattening of dermal papillae and electron microscopy showed disrupted collagen fibers. The genetic sequencing of blood sample found a mutation in *p63* gene, already known as R298Q.

Key-words: ectodermal dysplasia, mammary dysplasia, genodermatosis.

## 1. INTRODUÇÃO

A palavra síndrome se refere a um conjunto de sinais e sintomas que pode estar relacionado a uma ou mais doenças. Considerando-se as síndromes de origem genética que ocorrem em humanos (síndrome genéticas humanas), sabemos que mais de uma alteração no mesmo gene - ou ainda em genes diferentes - pode ser responsável pelo mesmo conjunto de manifestações.

As mutações ocorridas no gene *p63* apresentam uma alta correlação geno-fenotípica, ou seja, cada mutação neste gene tem um conjunto de manifestações clínicas característico. De maneira geral, acredita-se que essas mutações geram um distúrbio na formação e função da ectoderme e no desenvolvimento de apêndices levando a combinações variadas de displasia ectodérmica, fenda labial e/ou palatina e malformações e/ou desenvolvimento anormal dos membros.<sup>1,2</sup>

Cada uma das síndromes relacionadas ao gene *p63* ocorre por uma perturbação específica do funcionamento da proteína formada a partir do mesmo, a p63. Desta perturbação origina-se um conjunto predominante de sinais característicos de cada síndrome, mas a maneira como a mutação modifica a função da proteína e o motivo pelo qual essa alteração resulta na expressão fenotípica ainda não é conhecido.

### 1.1 O GENE *p63* E A PELE

O gene *p63* está localizado no braço longo do cromossomo 3, possui 15 éxons e é essencial para o desenvolvimento do epitélio escamoso estratificado, incluindo a epiderme. Ele é expresso em diversas isoformas de proteínas com diferentes capacidades funcionais.<sup>3,4</sup> Atualmente acredita-se que o *p63* atua na iniciação da diferenciação epidérmica, na

manutenção do potencial proliferativo dos queratinócitos basais da epiderme madura e na adesão celular através de diversos mecanismos ainda não totalmente compreendidos.<sup>5,6</sup> Por este motivo, as manifestações cutâneas são uma das principais características das síndromes relacionadas a alterações neste gene.<sup>1</sup>

## 1.2 AS SÍNDROMES RELACIONADAS AO GENE *p63*

Mutações no gene *p63* estão relacionadas a, pelo menos, cinco síndromes genética humanas conhecidas atualmente.<sup>6</sup> Destas síndromes, a melhor estudada é a EEC (*Ectrodactilia, Ectodermal dysplasia, Cleft lip/palate*), que apresenta vários alelos envolvidos na sua etiologia e sua expressividade e penetrância são variáveis.<sup>2</sup> Mutações envolvendo cinco aminoácidos (204, 227, 279, 280, 304) são responsáveis por 90% dos casos de EEC, e cada uma dessas mutações tem uma manifestação fenotípica predominante. Por exemplo, o palato ou lábio fendido encontra-se presente em 80% dos pacientes com a mutação R304, enquanto é raramente visto nos pacientes com a mutação R227.<sup>1</sup>

A síndrome membro-mama (LMS – *Limb-Mammary-Syndrome*), também relacionada ao *p63*, foi originalmente descrita numa família holandesa em 1999 por van Bokhoven e colaboradores.<sup>7</sup> Os pacientes apresentavam ectrodactilia, aplasia e/ou hipoplasia das glândulas mamárias/mamilos e fenda palatina, sem apresentar alterações nos cabelos ou na pele.<sup>1,2</sup> Já na primeira publicação, esta síndrome foi relacionada ao cromossomo 3q27, mas o gene ainda não havia sido identificado.<sup>7</sup> Propping e Zerres já haviam descrito uma síndrome semelhante à LMS em uma família alemã, seis anos antes, a qual denominaram ADULT<sup>8</sup> para se referir ao envolvimento das extremidades (*acro*), pele (*dermato*), unhas (*ungueal*), ducto lacrimal (*lacrima*) e dentes (*tooth*).<sup>1,2</sup> Estas duas síndromes tinham como manifestação predominante a alteração mamária. A ausência de fenda palatina e as exuberantes efélides levaram os autores a diferenciar a ADULT da LMS e mesmo da EEC, mas sua semelhança com as displasias ectodérmicas possibilitou posteriormente a identificação de mutações no *p63* como fator causal.

### 1.3 A SÍNDROME ADULT

A ADULT é uma síndrome genética que foi descrita inicialmente em 1993<sup>8</sup>, como parte das displasias ectodérmicas, mas ainda é muito pouco conhecida por ter poucos casos identificados até a presente data. Os pacientes apresentam como manifestações predominantes a hipoplasia mamária e de mamilos associada à ectrodactilia, dermatite esfoliativa dos dedos, distrofia ungueal, efélides exuberantes, fotossensibilidade, atresia ou estenose do ducto lacrimal, alopecia, hipodontia primária e perda precoce de dentes.

Na primeira família, descrita na Alemanha, as manifestações da síndrome estavam presente em todas as gerações, mas nem todos os familiares eram acometidos, sugerindo herança autossômica dominante com penetrância variável.<sup>5,8</sup> Em 2000, foi aventada a hipótese de ocorrer alteração, à semelhança da LMS<sup>9</sup>, no cromossomo 3, o que foi confirmado um ano mais tarde. Até o momento, diferentes mutações no *p63* foram relacionadas à ADULT. A primeira, em 2001, causada por uma substituição de um aminoácido asparginina por uma histidina no éxon 3 (N6H).<sup>4,10</sup> Posteriormente foram identificadas outras mutações, uma envolvendo a substituição de uma arginina por uma glutamina no éxon 8 (R298Q) e, mais recentemente, duas mutações causando a substituição de um único aminoácido, uma no éxon 4 (G518A) e outra no éxon 6 (R227Q). Entre essas alterações, a mais frequentemente encontrada até o momento é a R298Q, relatada em quatro famílias.<sup>4</sup>

## 2. JUSTIFICATIVA

A síndrome ADULT é uma doença genética recente e ainda muito pouco conhecida. Os pacientes acometidos parecem ter uma doença autossômica dominante com penetrância variável como as demais doenças deste grupo. As características clínicas da ADULT se repetem com pequenas variações, mas o pequeno número de pacientes descritos até o momento ainda requer uma melhor caracterização da síndrome.

Ainda não é bem compreendido como as proteínas mutadas, a partir de alterações no gene *p63*, exercem sua função. Existem, no momento, alguns grupos de pesquisadores estudando camundongos geneticamente modificados para o melhor esclarecimento destes fatos.<sup>6</sup> No entanto, estudos genéticos com outros indivíduos portadores desta síndrome podem contribuir para o melhor esclarecimento de suas causas, assim como da embriogênese geral.

### 2.1 HIPÓTESES

Hipótese 0: Os cinco membros da família com a síndrome ADULT aqui descritos possuem achados clínicos, histológicos e genéticos comparáveis com a literatura disponível.

Hipótese 1: Os cinco membros da família com síndrome ADUTL aqui descritos não possuem achados clínicos, histológicos e genéticos comparáveis com a literatura disponível.

### **3. OBJETIVOS**

Descrever as características clínicas, os achados histológicos de biópsias da pele e a mutação gênica de uma família brasileira com cinco indivíduos acometidos pela síndrome ADULT.

## **4. PACIENTES E MÉTODOS**

### **4.1 ASPECTOS ÉTICOS**

O presente estudo está em conformidade com os itens III.3.i e III.3.t das Diretrizes e Normas Regulamentadoras de Pesquisa Envolvendo Seres Humanos (Resolução CNS 196/96), bem como com a diretriz número 12 das Diretrizes Éticas Internacionais para Pesquisas Biomédicas Envolvendo Seres Humanos (*Council for International Organizations of Medical Sciences, CIOMS; 2002*), e registrado na Comissão Nacional de Ética em Pesquisa (CONEP) sob no. FR340004.

O projeto foi submetido e aprovado pela Comissão Científica do Programa de Pós-Graduação (191/10-PG) em Medicina e Ciências da Saúde e ao Comitê de Ética em Pesquisa (CEP 10/05059) da Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul (anexo).

### **4.2 POPULAÇÃO**

Após assinatura do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido, foram estudados onze indivíduos de uma família, dos quais cinco apresentavam características clínicas da síndrome ADULT. A investigação iniciou a partir de um paciente de 18 anos que procurou o serviço e se estendeu aos seus familiares. Foram realizados anamnese e exame físico completo no serviço de dermatologia do Hospital Santa Casa de Misericórdia de Porto Alegre. A documentação fotográfica dos achados foi realizada após autorização dos pacientes

ou de seus responsáveis. Dois indivíduos foram submetidos à biópsia cutânea e todos foram submetidos à coleta de sangue para sequenciamento genético. O estudo configura assim uma série de casos.

#### **4.3 EXTRAÇÃO DO DNA E SEQUENCIAMENTO DO ÉXON 8 DO GENE *p63***

O DNA genômico foi isolado dos leucócitos de uma amostra de 3 mL de sangue periférico. O sangue foi centrifugado por 5 minutos a 400 g. Após a centrifugação, a camada contendo os leucócitos foi transferida para tubos de 1,5 mL e, a seguir, realizada lavagem com PBS (tampão fosfato-salina, pH 7,2). As células foram ressuspensas com 200 µL de PBS seguido da adição de 400 µL de Trizol LS (Invitrogen, Carlsbad, EUA), seguido da adição de 120 µL de clorofórmio (Merck, Darmstadt, Alemanha). Após centrifugação à 20.000 g por 10 minutos (Eppendorf 5417C – Hamburg, Ale) o sobrenadante foi transferido para um novo tubo e o DNA presente na porção aquosa foi precipitado pela adição de 0,1 volume de acetato de sódio 2 M e 0,7 volumes de isopropanol e incubado a -20°C por duas horas. A amostra foi centrifugada à 20.000 g por 10 minutos, o sobrenadante foi descartado e o DNA ressuspenso com 50 µL de água MilliQ e mantido a -20°C para genotipagem. O DNA foi quantificado em espectrofotômetro FotoUltra (Eppendorf).

Para o sequenciamento do éxon 8 do gene *p63* humano, as amostras de DNA foram amplificadas em termociclador (PTC-200/MJ Research - Waltham, EUA) utilizando oligonucleotídeos complementares iniciadores direto 5' – CAAGTGCTTTTGGGTCCATT – 3' e reverso 5' – CCTGGAGTCCACTTCAATGC – 3'. Após a amplificação, os produtos da PCR foram purificados utilizando o kit de purificação Concert Rapid PCR Purification System (Gibco). As amostras foram enviadas ao Serviço de Sequenciamento do Centro de Estudos do Genoma Humano da USP em frascos de 200 µL contendo 5 µL de amostra na concentração de 20 ng/µL acrescidos de 2,5 µL do oligonucleotídeo direto a uma concentração de 5 µM.



#### **4.4 MICROSCOPIA ÓPTICA E ELETRÔNICA DE BIÓPSIA CUTÂNEA**

Foi realizada uma biópsia cutânea (punch 4 mm) no primeiro paciente examinado (III:4, Figura 1) e na irmã mais velha (III:2, Figura 1) com intuito de estudar as alterações histológicas cutâneas presentes na síndrome. Como todos os afetados da família tinham apresentação clínica muito semelhante em relação aos achados da pele apenas aqueles com maior expressividades foram selecionados para biópsia.

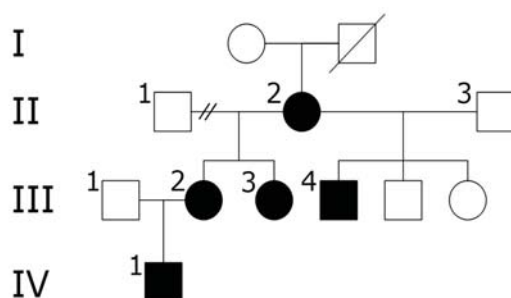
O material para microscopia óptica foi conservado em formol, fixado em parafina, cortado em cortes finos (4  $\mu$ m) com micrótomo e corado com hematoxilina-eosina.

O material para microscopia eletrônica foi conservado em glutaraldeído, fixado em parafina, cortado em cortes finos com micrótomo e corado com chumbo. A análise foi realizada em microscópio eletrônico marca Zeiss, modelo EM 900.

## 5. RESULTADOS

### 5.1 ASPECTOS CLÍNICOS OBSERVADOS NOS PACIENTES COM SÍNDROME ADULT

A partir do paciente III:4, foram entrevistados e examinados os demais familiares e construído o heredograma apresentado na Figura 1. A família em questão era constituída por 11 indivíduos vivos e as manifestações clínicas iniciaram a partir da mãe (II:2, Figura 1) do paciente caso. Além da mãe, havia ainda duas irmãs e um sobrinho que correspondiam às características fenotípicas da síndrome ADULT (Figura 1). Todas as gerações tinham pelo menos um indivíduo com manifestações clínicas e os pacientes eram de diferentes gêneros. Não foi identificada consanguinidade entre os membros da família. O padrão clínico encontrado sugeriu herança autossômica dominante.



**Figura 1** – Heredograma construído a partir do paciente (III:4) com síndrome ADULT. Os indivíduos afetados representam o padrão de herança autossômica dominante com penetrância variável.

Todos os pacientes apresentavam hipoplasia mamária e/ou atelia e adermatoglifia combinados com diversas outras manifestações cutâneas descritas abaixo.

### Paciente II:2

A paciente II:2, 55 anos, apresentava distrofia das 20 unhas (Figura 2 e 3), atelia, fotossensibilidade, efélides (Figura 4), ausência de dermatóglifos, lábios finos além de canal lacrimal imperfurado e estenosado bilateralmente. Relatava perda de todos os dentes na adolescência e fazia uso de próteses dentárias. Não apresentava nenhuma outra comorbidade, nem usava medicações. Negava doenças pregressas, internações hospitalares e tabagismo. Referiu não ter amamentado os filhos. O exame micológico direto e cultural das unhas foi negativo.



**Figura 2 - Paciente II:2- mãos:** distrofia das unhas e lentigos no dorso das mãos.



**Figura 3 – Paciene II:2-unhas:** distrofia das unhas do pé.



**Figura 4 - Paciente II:2 - tórax:** atelia, hipoplasia mamária e fotossensibilidade.

### **Paciente III:2**

A paciente III:2, 27 anos, apresentava ao exame físico efélides, fotodano, lábios finos, nariz alongado (Figura 5), oncodistrofia, xerose, adermatoglifia (Figura 6), atelia e hipoplasia mamária. Relatava ter perdido todos os dentes na adolescência. Negava outras doenças atuais ou pregressas, assim como negava também uso de medicações e tabagismo.



**Figura 5 - Paciente III:2 – face: fotossensibilidade, efélides, lábios finos e nariz alongado.**



**Figura 6 - Paciente III:2 mão: adermatoglifia.**

### **Paciente III:3**

A paciente III:3, 24 anos, apresentava ao exame físico lacrimejamento, lábios finos, fotodano e adermatoglifia. Relatava hipoplasia mamária (paciente não concordou em examinar mamas ou ser fotografada). Também relatava perda dos dentes na adolescência. Negava outras doenças, uso de medicações e tabagismo.

### **Paciente III:4**

O paciente III:4, 18 anos, apresentava dermatite esfoliativa no couro cabeludo e nas mãos desde o nascimento (Figura 7). Durante a infância teve diversas internações por dor abdominal e vômitos com diagnóstico pós-operatório de Doença de Hirschprung (exame

histopatológico varicela no segundo ano de vida durante uma internação hospitalar e necessitou o uso de aciclovir endovenoso. Foram identificados ao exame físico: adermatoglifia (Figura 7), displasia dentária, lábios finos (Figura 8), nariz alongado, onicodistrofia (Figura 9), efelides e atelia (Figura 10). A avaliação oftalmológica evidenciou estenose e imperfuração do ducto lacrimal. O estudo laringoscópico e otorrinolaringológico foi normal assim como a ultrassonografia abdominal e as radiografias das mão e pés. O exame micológico direto e cultural das unhas foi negativo.



**Figura 7 – Paciente III:4 – palma:** dermatite esfoliativa das mãos e adermatoglifia.



**Figura 8 - Paciente III:4 - dentes: dentes cônicos, lábios finos.**



**Figura 9- Paciente III:4 – pés: onicodistrofia.**





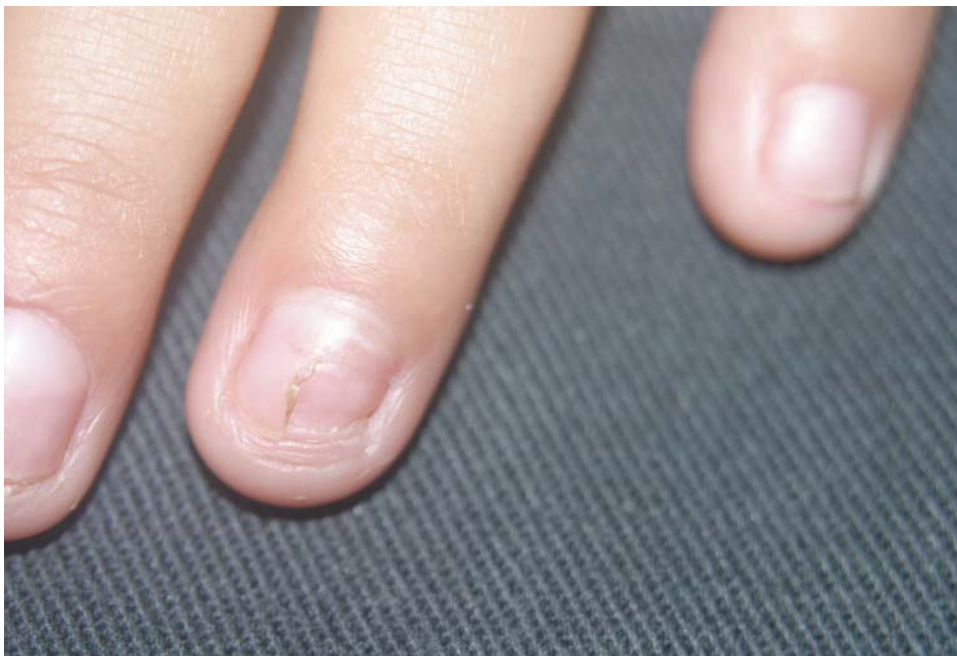
**Figura 10 - Paciente III:4 - tórax:** atelia, efélides, máculas atróficas (sequela de varicela).

#### **Paciente IV:1**

O paciente IV:1, 6 anos, apresentava ao exame físico fragilidade cutânea palmar (Figura 11), onicodistrofia (Figura 12), deficiência no esmalte dentário, efélides (Figura 13) e adermatoglifia (Figura 14). Estenose do ducto lacrimal e hipoplasia do mamilo direito também estavam presentes. Teve vários episódios de pneumonia durante a infância- sic. Negava outras doenças ou uso de medicações. Relatava acompanhamento frequente com dentista sem sucesso.



**Figura 11 - Paciente IV: I – palma: fragilidade cutânea.**



**Figura 12 - Paciente IV: I – unhas: onicodistrofia.**



**Figura 13 - Paciente IV: I – dentes:** hipoplasia do esmalte dentário e perda precoce dos dentes por infecção.



**Figura 14 - Paciente IV: I – Polpa digital:** adermatoglifia.

Na Tabela 1 estão resumidas as características da Síndrome ADULT apresentadas pelos pacientes do estudo.

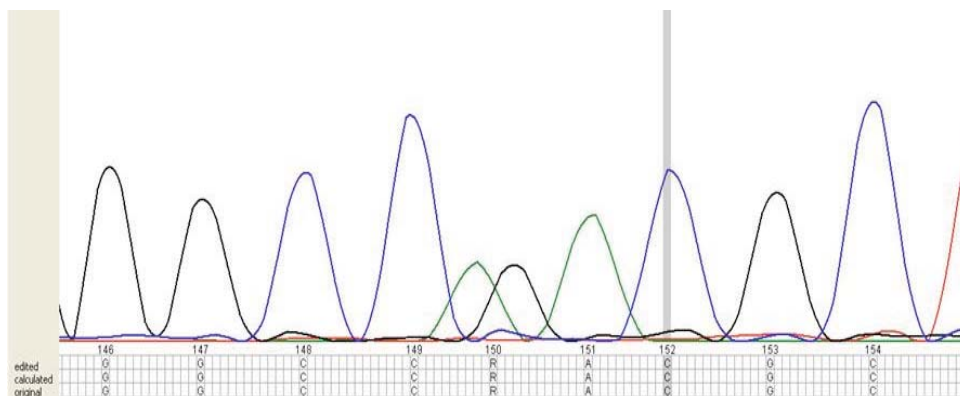
**Tabela 1: Características fenotípicas dos membros afetados da família.**

1 Alteração do esmalte dentário e perda precoce de dentes permanentes. 2 Fotossensibilidade, efêlides, xerose. 3 Cabelos finos, acinzentados. 4 Estenose ou imperfuração do ducto lacrimal. 5 Lábios finos, nariz alongado, olhos amendoados.

	Dentes <sup>1</sup>	Pele <sup>2</sup>	Cabelos <sup>3</sup>	Onicodis- trofia	Hipoplasia mamária e atelia	Ducto Lacrimal <sup>4</sup>	Adermatoglia	Fascies Típica <sup>5</sup>
<b>II:2</b>	+	+	+	+	+	+	+	+
<b>III:2</b>	+	+	+	+	+	-	+	+
<b>III:3</b>	+	+	+	+	+	+	+	+
<b>III:4</b>	+	+	+	+	+	+	+	+
<b>IV:1</b>	+	+	+	+	+	+	+	+

## 5.2 MUTAÇÃO NO ÉXON 8 DO GENE *p63*

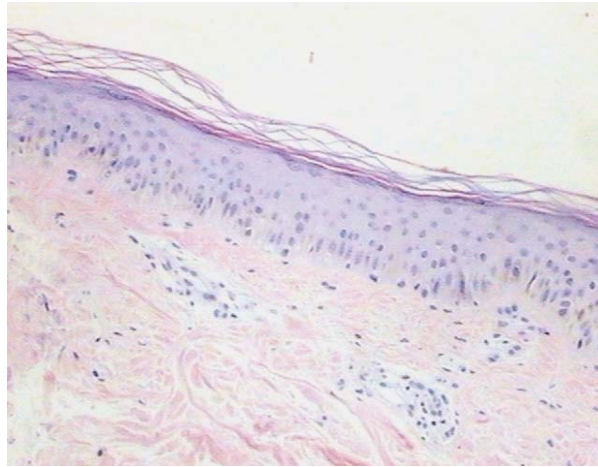
O sequenciamento do éxon 8 do gene *p63* evidenciou uma substituição de uma arginina por glutamina no paciente III:4 configurando a mutação (posição 150 no gráfico) conhecida como R298Q (c.893G>A; p.Arg298Gln) já relacionada previamente com essa síndrome (Figura 15). A identificação da mutação foi realizada apenas na amostra de sangue periférico do paciente III:4 devido ao tempo disponível para realizar este trabalho e pelo alto custo do exame.



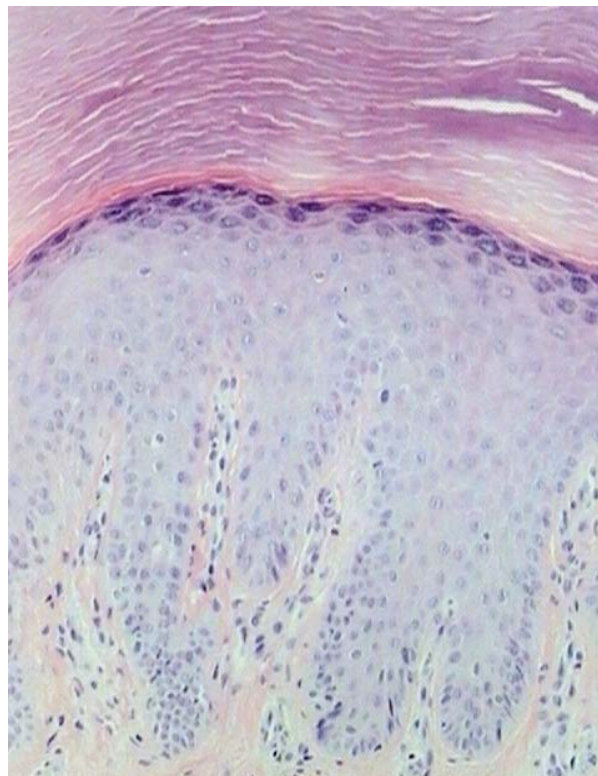
**Figura 15 - Imagem do sequenciamento genético do paciente III:4.  
Troca de um nucleotídeo na posição 150: G > A.**

### **5.3 ANÁLISE HISTOLÓGICA DA EPIDERME E DA DERME DOS PACIENTES III:4 e III:2**

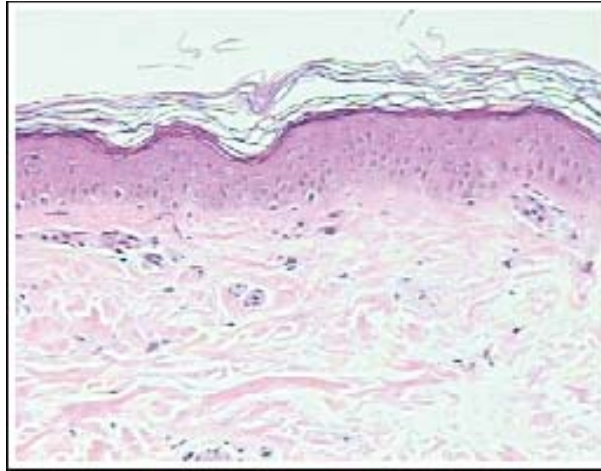
A análise por microscopia óptica de amostras cutâneas dos pacientes III:2 e III:4, coradas com hematoxilina-eosina, não apresentaram alteração estrutural na epiderme ou derme (Figuras 16 e 17) com exceção da retificação das papilas dérmicas na biópsia dos antebraços (Figuras 16 e 18). Os anexos cutâneos estavam presentes e preservados quanto ao número e morfologia.



**Figura 16 – Imagem histológica da biópsia da região antebraço esquerdo do paciente III:4. Epiderme retificada (HE 100X).**



**Figura 17 – Imagem histológica da biópsia da região palmar do paciente III:4 (HE 200X).**



**Figura 18: imagem histológica biópsia do antebraço da paciente III:2. Epiderme retificada (HE 100X).**

A análise da biópsia por microscopia eletrônica de transmissão evidenciou degeneração da fibras colágenas da derme (Figura 19).



**Figura 19: Imagem da microscopia eletrônica da biópsia do antebraço do paciente III:2. Degeneração das fibras colágenas (ME 7.000X).**

## 6. DISCUSSÃO/CONCLUSÃO

As síndromes que se originam por mutações no gene *p63* têm como manifestação um conjunto de sinais que por vezes se sobrepõem, mas algumas alterações específicas em determinados aminoácidos se expressam de maneira bastante característica. Neste estudo apresentamos cinco indivíduos da mesma família com características compatíveis com a síndrome ADULT descrita por Propping e Zerres em 1993<sup>8</sup>. Apesar de poucos casos relatados até o presente momento sabe-se que essa síndrome tem como características principais as alterações mamárias e cutâneas, assim como a ausência de lábio ou palato fendido o que a diferencia das demais síndromes deste grupo. A acrodactilia não é específica, mas é também frequente nesta síndrome. Nos pacientes da família que descrevemos a acrodactilia não foi encontrada em nenhum dos acometidos e isso pode estar relacionado com as variações fenotípicas da própria síndrome. A aderomatoglia, relatada pelos pacientes como dificuldade em fazer documentos como a carteira de identidade, foi uma manifestação consistente na família relatada, apesar de não ter sido descrita anteriormente.

O sequenciamento genético do indivíduo III:4 identificou uma mutação já conhecida e relacionada previamente à ADULT (R298Q), mas a nenhuma outra síndrome ligada ao *p63*, confirmando a hipótese de tratar de manifestações da síndrome mencionada. Não foi possível neste estudo, por motivos técnicos, avaliar o sequenciamento genético dos demais familiares do paciente. A avaliação histológica já havia sido descrita em um único paciente relatado como síndrome ADULT<sup>11</sup> e também demonstrou retificação das papilas dérmicas. A avaliação pela microscopia eletrônica, mostrou alterações das fibras colágenas, podendo a mutação interferir na formação e estruturação do colágeno e não somente da epiderme como era suposto. Os achados histológicos relatados previamente não foram demonstrados e o paciente apresentado tinha características sobrepostas a outras displasias ectodérmicas. Não se julgou



necessário a realização de novas biópsias por ser um exame invasivo e os achados clínicos muito semelhantes em todos os pacientes.

Por fim, a avaliação e definição das síndromes genéticas humanas nem sempre é uma tarefa simples, pois engloba diversas particularidades. As características clínicas associadas ao achado de mutação genética no p63 em amostra de sangue periférico nos permite concluir que se trata de mais uma família com a síndrome ADULT. Os achados histológicos apesar de pouco significativos correspondem aos achados prévios na literatura. O estudo de mais casos pode ser importante para a maior compreensão e caracterização destes pacientes assim como para o entendimento das consequências de mutações ocorridas no gene *p63*.

## 7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 1 Rinne T, Spadoni E, Kjaer KW, Denesino C, Larizza D, Kock M, Huoponen K, Savontaus M, Aaltonen M, Duijf P, Brunner HG, Penttinen M, van Bokhoven. *Delineation of ADULT syndrome phenotype due to arginine 298 mutations of p63*. Eur J Hum Genet. 2006;14(8): 904-10.
- 2 Brunner HG, Hamel BCJ, van Bokhoven H. *TP 63 gene in EEC and other syndromes*. J Med Genet. 2002; 39(6):377-81.
- 3 King KE, Weinberg WC. *P63: defining roles in morphogenesis, homeostasis, and neoplasia of the epidermis*. Mol Carcinog. 2007; 46(8):716-24.
- 4 Wang X, Yang J, TAO A, Yang W, Zhang H. *Mutation Analysis of P63 gene in the first Chinese family with ADULT Syndrome*. Chin Med J. 2009; 122(16): 1867-1871.
- 5 Chan JJ, Harper J, Melleiro JE, McGrath. *ADULT ectodermal dysplasia syndrome resulting from the missense mutation R298Q in the p63 gene*. Clin Exp Dermatol. 2004; 29(6):669-672.
- 6 Koster MI. *p63 in Skin Development and Ectodermal Dysplasias*. J Invest Dermatol. 2010; 130(10): 2352-58.
- 7 van Bokhoven H, Jung M, Smits AP, van Beersum S, Rüschenhoff F, van Steensel M, Veenstra M, Tuerling JH, Mariman EC, Brunner HG, Wienker TF, Reis A, Ropers HH, Hamel BC. *Limb mammary syndrome: a new genetic disorder with mammary hypoplasia, ectrodactyly, and other Hand/Foot anomalies maps to human chromosome 3q27*. Am J Hum Genet. 1999; 64(2):538-46.
- 8 Propping P, Zerres K. *ADULT-Syndrome: An Autosomal-Dominant Disorder With Pigment Anomalies, Ectrodactyly, Nail Dysplasia and Hypodontia*. Am J Med Genet. 1993; 45(5): 642-8.
- 9 Propping P, Field W, Wienker TF, Uhlhaas S, Zerres K. *ADULT Syndrome Allelic to Limb Mammary Syndrome*. Am J Med Genet. 2000; 90(2):179-182.
- 10 Amiel J, Bougeard G, Francannet C, Raclin V, Munnich A, Lyonnet S, Frebourg T. *TP63 mutation in ADULT syndrome*. Eur J Hum Genet. 2001; 9(8):642-5.

- 11 Prontera P, Garelli E, Isidori I, Mencarelli A, Carando A, Cirillo S, Donti E. *Cleft Palate and ADULT Phenotype in a Patient With a Novel TP63 Mutation Suggests Lumping of EEC/LM/ADULT Syndromes Into a Unique Entity: ELA Syndrome*. Am J Med Genet A. 2011; 155(11):2746-2749.
- 12 Yang J, Zhang H, Yang W, Chen G, Tang Z. *Acro-dermato-ungueal-lacrima-tooth syndrome: case report*. Chin Med J. 2007;120(9):851-3.
- 13 Reisler TT, Patton MA, Meagher PPJ. *Further Phenotypic and Genetic Variation in ADULT Syndrome*. Am J Med Genet A. 2006; 140(22):2495-2500.
- 14 Duijf PHG, Vanmolkot KRJ, Propping P, Friedl W, Krieger E, McKeon F, Dötsch V, Brunner HG, van Bokhoven H. *Gain-of-function mutation in ADULT syndrome reveals the presence of a second transactivation domain in p63*. Hum Mol Genet. 2002; 11(7):799-804.
- 15 Aviatan-Hersh E, Indelman M, Bergman R, Sprecher E. *ADULT Syndrome Caused by a Mutation Previously Associated with EEC Syndrome*. Ped Dermatol. 2010; 27(6): 643-5.
- 16 Rinne T, Bruner H G, van Bokhoven H. *Spotlight on p63: p63-Associated Disorders*. Cell Cycle. 2007;6(3): 262-68.
- 17 Bedeschia MF, Escandec F, Bellinib M, Nataccia F, Cavallaria U, Lalattaa F. *Acro-dermato-ungueal-lacrima-tooth-like syndrome: report of a family with variable expression*. Clin Dismorphol 2006; 15(4): 239-41.
- 18 van Bokhoven H, Brunner HG. *Splitting p63*. Am J Hum Genet 2002;71(1): 1-13.
- 19 Rinne T, Hamel B, van Bokhoven H, Brunner HG. *Pattern of p63 Mutations and Their Phenotypes – Update*. Am J Med Genet A 2006; 140(13):1396-406.
- 20 Eter N, Zerres R, Propping P, Roggenkamper P, Spitznas M. *Severe persistent nasolacrimal duct obstruction: a typical finding in ADULT syndrome*. Br J Ophthalmol 2006; 90:1206-7.

## **ANEXOS**

ANEXO 1: ARTIGO SUBMETIDO PARA PUBLICAÇÃO

**ADULT syndrome: clinical and histological aspects of an affected family.**

Patrícia Caspary, MD 1

Hiram Larangeira de Almeida Jr, MD, PhD 2,3

Rowdy Meijer 4

Maurice van Steensel, MD, PhD 5

Daniel Marinowic 1,6

Denise Cantarelli Machado, PhD 1,6

1 Medicine and Health Science Post-Graduation Program, Pontifical Catholic University of Rio Grande do Sul, Brazil

2 Department of Dermatology, Federal University of Pelotas, Brazil

3 Department of Dermatology, Catholic University of Pelotas, Brazil

4 Department of Human Genetics, Radboud University Nijmegen Medical Centre, Nijmegen, The Netherlands

5 Department of Dermatology, University Hospital Maastricht, The Netherlands

6 Biomedical Research Institute, Pontifical Catholic University of Rio Grande do Sul, Brazil

Category of the article: Medical Genetics – Report

Number of tables: 1

Number of figures: 4

Key-words: acro-dermato-lacrimal-tooth syndrome, ectodermal dysplasia, genodermatosis

Address for correspondence:

Patrícia Caspary, MD

Rua Marques de Olinda 80/808

22251-040 – Rio de Janeiro - Brasil

Phone – 55-21-25519351 e-mail: [patriciacaspary@gmail.com](mailto:patriciacaspary@gmail.com)

There are no founding sources or conflict of interest.

## Abstract

**Background:** ADULT is a rare syndrome characterized by prominent ectodermal signs, mammary gland/nipples hypoplasia and absent cleft lip and palate. Recently it has been linked to *p63* gene mutations but its genophenotypical correlation as well as histological aspects are still not well understood.

**Methods:** All members of a family with ADULT syndrome were clinically examined. Cutaneous biopsies were analyzed and a DNA sequence of exon 8 of the *p63* gene was performed from peripheral blood samples.

**Results:** Five of the 11 members of the family presented a combination of atelia/hipotelia, nail dystrophy, teeth abnormalities, lacrimal duct stenosis, photosensitivity and ephelides. No limbs malformations were present in any member and a new characteristic was noticed, the adermatoglyphia. DNA sequencing showed a G>A substitution at nucleotide 893 leading to an arginine residue to glutamine (R298Q). Histological analysis demonstrated normal sweat glands, but dermal collagen disruption and flattening of epidermis.

**Conclusions:** ADULT syndrome is an autosomal dominant disease with variable phenotypic-genotypic characteristics. The mainly *p63* mutation occurs in exon 8 as found in the family we described in this article. Acrodactyly, although reported before, is not evidenced in this family. Adermatoglyphia found in this family may be an overlooked sign in this condition.

## ADULT syndrome: clinical and histological aspects.

### Introduction

Since 1999 it became apparent that the *p63* transcription factor is an important factor regulating embryogenic development (1). The main phenotypic characteristics of syndromes involving mutation in this gene include cleft lip/palate, acral anomalies and ectodermal dysplasia. To date there are five known syndromes with *p63* inherited mutations and although they have overlapping phenotypic characteristics, each one has its own typical trait combination and genophenotypic correlations (2). Mammary and nipple hypoplasia are prominent manifestations of Acro-Dermato-Ungueal-Lacrimal-Tooth (ADULT) syndrome (OMIM 103285), but this syndrome is also distinguished from other *p63* syndromes by absent cleft lip/palate and ectodermal signs (2). ADULT syndrome was first described in 1993 (3) and named on the basis of most common symptoms found in this first family with ADULT syndrome. Seven years later the same authors mapped it to chromosome 3q27 (4, 5) and more recently linked the disease specifically to *p63* gene (4, 6, 7). Since that, four different mutations involving exons 3 (6), 4 (1), 6 (8) and 8 (6) in this gene have been identified in different affected individuals. The syndrome seems to be autosomal dominant with incomplete penetrance, but to date the characteristics of ADULT syndrome are still not well understood. We describe a family with a new phenotypic characteristic and the histological aspect.

### Patient and Methods

An 18-year-old boy's clinical features corresponding to ADULT syndrome attended to the dermatology department. Informed consent was obtained and the proband and his family were examined and a peripheral peripheral blood sample collected. DNA was isolated from leucocytes using standard cold water leaching method. Exon 8 was amplified by PCR and sequenced as mentioned before (9).

### Results

The proband present at first clinical examination sparse and grayish hair, skin fragility, conic teeth and thin lip. Onicodystrophy, prominent ephelides and photosensitivity were also present. Absent nipples were detected in physical examination. Atrophic scars in the upper

trunk were present and related to varicella in childhood (figure 1). The ophthalmologic examination showed stenosis of the right lacrimal duct and obstruction of the left one as well as bilateral blepharitis. Hands and feet radiograms and abdominal ultrasonography showed no abnormalities. He had an acute child voice but the videolaryngoscopy was normal. He was term born. Scalp desquamation, redness and fine hair were described as seborrheic dermatitis in the first days of life and during infancy. Congenital megacolon was also diagnosed in childhood and attributed to Hirschsprung's disease after the histopathology examination that showed absent enteric ganglion cells on the mioenteric and submucosal plexus of sigmoid colon. His mother, two sisters and a nephew were also affected (figure 3). All of them had ephelides, photosensitivity, dystrophic nails and tooth, thin lips, adermatoglyphia and almond shapes eyes. Lacrimal duct stenosis was found in 3 of them. Cleft lip or palate and ectrodactyly were absent in all family members (table 1). There was no consanguinity in the family.

The DNA examination of blood sample from patient III:4 revealed a heterozygous nucleotide substitution (G>A) at 893 of *p63* gene, designated R298Q. The mutation within exon 8 is a missense mutation and lead to a replacement of arginine to a glutamine residue (figure 4). Cutaneous biopsy of the proband (III:4) and his sister (III:2) were examined with hematoxylin eosin staining and showed normal sweat glands and flattening of dermal papillae (figure 2a, b, and c). Transmission Electron Microscopy showed disrupted dermal collagen (figure 2d).

#### Comment

Ectrodactyly-Epidermaldysplasia-Cleft lip and palate (EEC) syndrome is the prototype disease of *p63* gene mutations. In this syndrome 34 different inherited mutations and 20 different amino acids were already described (1) and more than 200 cases reported. Up to date, the ADULT syndrome have just a few cases reported and 5 different mutations identified, but the most common is the same we found in the family reported here (R298Q).

In ADULT patients a varied phenotypic manifestation like the ones found in other ectodermal dysplasias has been evident but its genetic correlations are still not well understood. Although cleft lip and palate are a common feature in patients with *p63* syndromes, it is absent in patients with ADULT syndrome. Other common features, such ectrodactyly and syndactyly, present in patients with *p63* syndromes is also found in almost



all ADULT individuals, but they were detected in the family reported in this article. Adermatoglyphia has never been described before, but was present affected members in this family (10).

We observed an association with Hirshsprung disease present in our proband but it seems to be sporadic, similar to all patients already reported with this disease. We did not investigate genetic mutations related to Hirschsprung in this family. A previous association of Waardenburg and ADULT syndrome was already reported.

The mutation we found in this family confirmed the same *p63* mutation that was found in other 16 ADULT individuals (7, 9). The first family consisted in 8 persons<sup>3</sup> and therefore no more than 2 members of the same family were described. In a Chinese family the sister and aunt of the proband has also showed some of the ADULT features but they did not showed the same mutation found in their proband (9). The histological characteristics were described before (11) in just one paper and related as flattening of dermal collagen.

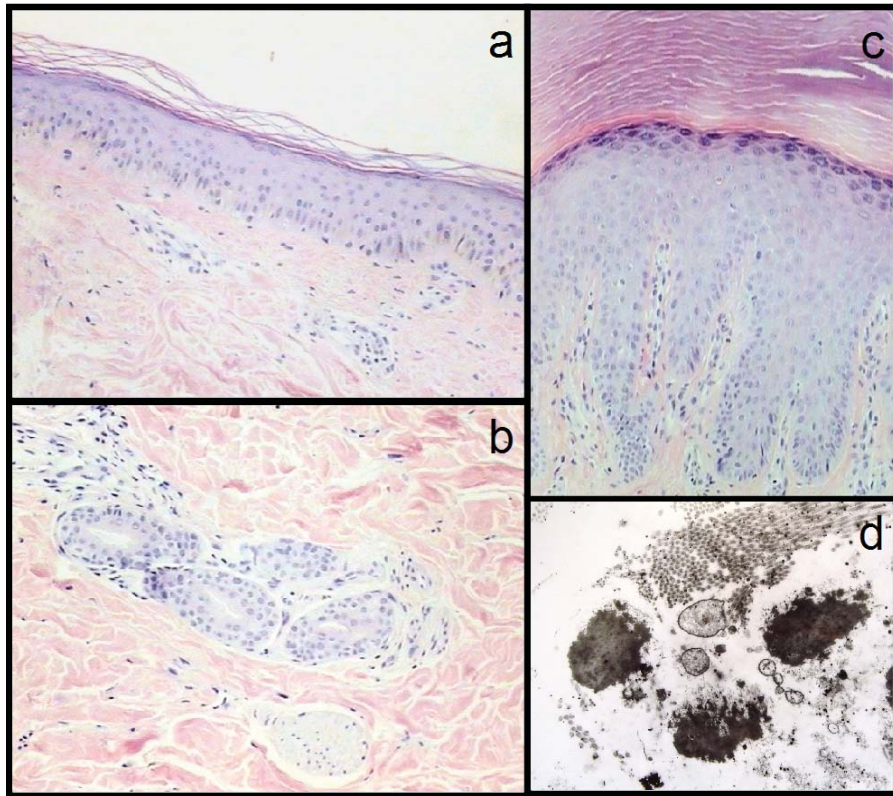
This study highlights the variation in phenotypes resulting from mutations in *p63* already related to ADULT syndrome and helps define genotype-phenotypic correlation in this syndrome. The increasing number of patients described will help to define phenotypic and genotypic traits of *p63* disorders.

## References

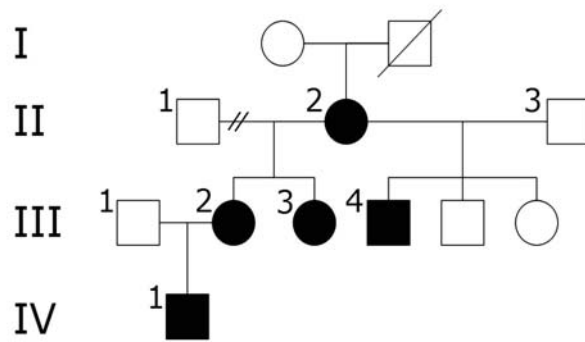
- 1 Rinne T, Brunner AG, van Bokhoven H. *p63-Associated disorders*. Cicle Cell. 2007; 6(3): 262-68.
- 2 Rinne T, Spadoni E, Kjaer KW, Denesino C, Larizza D et al. *Delineation of ADULT syndrome phenotype due to arginine 298 mutations of p63*. Eur J Hum Genet. 2006;14: 904-10.
- 3 Propping P, Zerres K. *ADULT-syndrome: An Autosomal-Dominal Disorder with Pigment anomalies, Ectrodactyly, Nails Dysplasia and Oligodontia*. Am J Med Genet. 1993; 45: 642-48.
- 4 Propping P, Friedl W, Wienker TF, Uhlhaas S, Zerres K. *ADULT Syndrome Allelic to Limb Mammary Syndrome (LMS)?* Am J Med Genet. 2000; 90: 179-82.
- 5 Eter N, Zerres K, Prpping P, Roggenkämper P, Spitznas M. *Severe persistent nasolacrimal duct obstruction: a typical finding in ADULT syndrome*. Br J Ophthalmol. 2006;90:1206-7.
- 6 Amiel J, Bougeard G, Francannet C, Raclin V, Munnich A et al. *TP63 mutation in ADULT syndrome*. Eur J Hum Genet. 2001; 9: 642-5.
- 7 Chan JI, Harper J, Melleiro JE, McGrath. *ADULT ectodermal dysplasia syndrome resulting from the missense mutation R298Q in the p63 gene*. Clin Exp Dermatol. 2004; 29: 669-672.
- 8 Slavotinek AM, Tanaka J, Winder A, Vargervik K, Haggstrom A, Bamshad M. *Acrodermato-ungual-lacrimal-tooth (ADULT) syndrome: report of a child with phenotypic overlap with ulnar-mammary syndrome and a new mutation in TP63*. Am J Med Genet A. 2005; 138A (2): 146-9.
- 9 Wang X, Yang J, TAO A, Yang W, Zhang H. *Mutation Analisis of P63 gene in the first Chinese family with ADULT Syndrome*. Chin Med J. 2009; 122(16): 1867-1871.
- 10 de Almeida HL Jr, Caspary P, Duquia RP, Meijer R, van Steensel M. *A dermatoglyphia, previously unrecognized manifestation in ADULT syndrome*. Am J Med Genet A. 2010 (Epub).
- 11 Prontera P, Garelli E, Isidori I, Mencarelli A, Carando A, Cirillo S, Donti E. *Cleft Palate and ADULT Phenotype in a Patient With a Novel TP63 Mutation Suggests Lumping of EEC/LM/ADULT Syndromes Into a Unique Entity: ELA Syndrome*. Am J Med Genet A. 2011; 155(11):2746-2749.



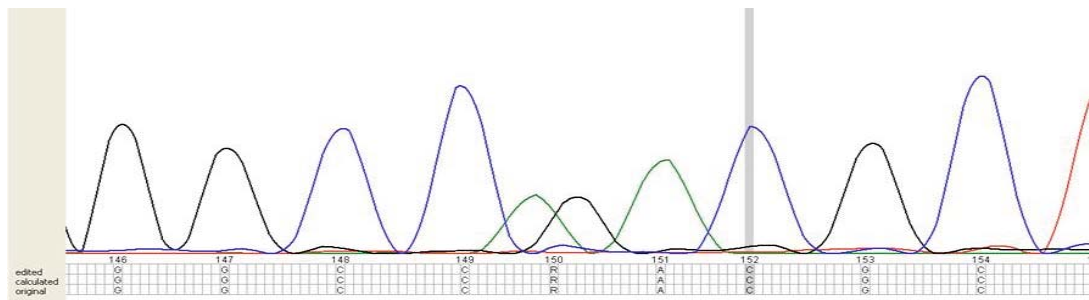
**Figure 1:** a. typical faces (elongated nose, thin lips and almond shaped eyes);  
b. onychodystrophy; c. conic teeth and deficient enamel; d. dermatitis and  
adermatoglyphia; e. fine, sparse, grayish hair; f. prominent freckling, absent nipple,  
hypoplastic nipples and atrophic scars.



**Figure 2:** Light Microscopy: a. forearm cutaneous biopsy (HE 100X) – rectification of dermal papillae; b. normal sweat gland (HE 400X); c. skin plantar biopsy (HE 400X) Transmission Electron Microscopy: d. disrupted collagen fibers (EM 7,000X).



**Figure 3:** Family genogram.



**Figure 4:** Genetic sequence of the proband: nucleotide substitution (G>A) at 893 nucleotide of *p63* gene.

**Table 1:** Family members characteristic features.

	Teeth <sup>1</sup>	Skin <sup>2</sup>	Hair <sup>3</sup>	Nails <sup>4</sup>	Hypoplastic mammary gland/nipple	Lacrimal duct <sup>5</sup>	Adermatoglyphia	Typical Facies <sup>6</sup>
II:2	+	+	+	+	+	+	+	+
III:2	+	+	+	+	+	-	+	+
III:3	+	+	+	+	+	+	+	+
III:4	+	+	+	+	+	+	+	+
IV:1	+	+	+	+	+	+	+	+

1 Lost of teeth in early adulthood or adolescence, conic teeth, anomalies in tooth enamel; 2 Photosensitivity, ephelides and dermatitis; 3 Fine, grayish, sparse hair; 4 Thickened, brittle, dystrophic nails; 5 Stenosis or obstruction of lacrimal duct; 6 elongated nose, thin lips, almond shaped eyes.

ANEXO 2: FICHA DE APROVAÇÃO DO COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA



Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul  
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO  
COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA

OF.CEP-634/10

Porto Alegre, 07 de julho de 2010.

Senhora Pesquisadora,

O Comitê de Ética em Pesquisa da PUCRS apreciou e aprovou seu protocolo de pesquisa registro CEP 10/05059 intitulado **"Síndrome ADULT: descrição clínica e investigação de mutação genética no p63 da primeira família brasileira"**.

Salientamos que seu estudo pode ser iniciado a partir desta data.

Os relatórios parciais e finais deverão ser encaminhados a este CEP.

Atenciosamente,

Prof. Dr. Rodolfo Herberto Schneider  
Coordenador do CEP-PUCRS

Ilma. Sra.  
Profa. Dra. Denise Cantarelli Machado  
IPB  
Nesta Universidade



### ANEXO 3: FOLHA DE ROSTO CONEP



**MINISTÉRIO DA SAÚDE**  
**Conselho Nacional de Saúde**  
**Comissão Nacional de Ética em Pesquisa - CONEP**

<b>FOLHA DE ROSTO PARA PESQUISA ENVOLVENDO SERES HUMANOS</b>				<b>FR - 340004</b>
Projeto de Pesquisa Síndrome ADULT: descrição clínica e investigação de mutação genética no p63 da primeira família brasileira.				
Área de Conhecimento 4.00 - Ciências da Saúde - 4.01 - Medicina - Diag.			Grupo Grupo II	Nível Diagnóstico
Área(s) Temática(s) Especial(s) Genética Humana,				Fase Não se Aplica
Unitermos ADULT, p63, displasia ectodérmica, mutações				
Sujeitos na Pesquisa				
Nº de Sujeitos no Centro 10	Total Brasil 10	Nº de Sujeitos Total 10	Grupos Especiais Criança e ou menores de 18 anos,	
Placebo NAO	Medicamentos HIV / AIDS NÃO	Wash-out NÃO	Sem Tratamento Específico NÃO	Banco de Materiais Biológicos NÃO
Pesquisador Responsável				
Pesquisador Responsável DENISE CANTARELLI MACHADO		CPF 294.669.110-15	Identidade 1008219014	
Área de Especialização IMUNOLOGIA		Maior Titulação DOUTORADO	Nacionalidade Brasileira	
Endereço RUA 17 DE JUNHO, 629 APT0 307		Bairro MENINO DEUS	Cidade PORTO ALEGRE - RS	
Código Postal 90110-170	Telefone 51 33203000 RAM 2364 / 51 30193403	Fax 51 33203312	Email dcm@pucrs.br	
Termo de Compromisso				
Declaro que conheço e cumprirei os requisitos da Res. CNS 196/96 e suas complementares. Comprometo-me a utilizar os materiais e dados coletados exclusivamente para os fins previstos no protocolo e publicar os resultados sejam eles favoráveis ou não. Aceito as responsabilidades pela condução científica do projeto acima.				
Data: ____/____/____			Assinatura _____	
Instituição Onde Será Realizado				
Nome Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul - PUCRS		CNPJ 88.630.413/0002-81	Nacional/Internacional Nacional	
Unidade/Órgão Faculdade de Medicina		Participação Estrangeira NÃO	Projeto Multicêntrico NÃO	
Endereço Avenida Ipiranga 6681		Bairro Partenon	Cidade Porto Alegre - RS	
Código Postal 90619900	Telefone (51) 3320-3500	Fax (51) 3339-1564	Email gabreit@pucrs.br	
Termo de Compromisso				
Declaro que conheço e cumprirei os requisitos da Res. CNS 196/96 e suas complementares e como esta instituição tem condições para o desenvolvimento deste projeto, autorizo sua execução.				
Nome: _____			Assinatura _____	
Data: ____/____/____				