

# Roteiro de Pesquisa da Cyfip2 Network



Este roteiro reúne o conhecimento, pensamentos, ideias e opiniões das principais partes interessadas no esforço para desenvolver tratamentos para a Encefalopatia Epiléptica e do Desenvolvimento 65 (DEE65), uma condição causada, na maioria das vezes, por variantes patogênicas dominantes de novo no gene Cyfip2. O roteiro tem como objectivo servir como um guia para a Cyfip2 Network e aliados em todo o mundo na definição de prioridades para financiamento e outros apoios, visando promover pesquisas em direção a soluções para pacientes com DEE65.

# Sumário

Introdução	5
Descrição da doença	10
Cenário de Pesquisa	16
Históricos de Casos	19
Bioquímica de Cyfip2	23
Ferramentas de Pesquisa Sobre Cyfip2	27
Desenvolvimento Terapêutico	41
Reposicionamento de fármacos	43
Oligonucleotídeos antissenso alelo-seletivos	47
Tratamentos em fase de investigação para todas as DEEs	52
Ensaio clínico para DEEs	55
Conclusões	59
Glossário	60
Linha do Tempo da Pesquisa sobre Cyfip2	66
Referências	89



Honzik, República Tcheca







A Cyfip2 Network foi criada em 2023 para aumentar a conscientização, apoiar crianças e famílias afetadas pela DEE65 e financiar pesquisas para o desenvolvimento de tratamentos.

- Firmou parceria com a RARE-X para criar um Plano de Coleta de Dados de pacientes online e de fácil acesso
- Iniciou o desenvolvimento de uma terapia com oligonucleotídeo antissenso (ASO) visando a variante Arg87Cys do Cyfip2
- Garantiu financiamento para gerar um modelo de camundongo condicional da variante Arg87Cys do Cyfip2
- Reuniu pesquisadores de todo o mundo, com diversas formações científicas, para discutir a pesquisa sobre Cyfip2 em uma série de reuniões virtuais

[www.cyfip2network.org](http://www.cyfip2network.org)

Este Mapa Estratégico de Pesquisa apresenta o plano detalhado para apoiar o desenvolvimento de tratamentos para a DEE65, visando a causa primária da doença. Entrevistas com os pesquisadores e famílias de pacientes sugeriram atividades voltadas para o desenvolvimento de terapias. Estas serão apresentadas como programas potenciais que a Cyfip2 Network poderia apoiar. Para alcançar a cura desta doença, é essencial explorar mais de um projeto, assim como diversas abordagens terapêuticas.

As prioridades estratégicas também incluem funções não relacionadas à pesquisa da Cyfip2 Network, incluindo o apoio às famílias com recursos e a comunidade, e o aumento da conscientização global sobre a DEE65. Estes recursos podem ser acessados em [www.Cyfip2Network.org](http://www.Cyfip2Network.org).



Eli, Reino Unido



## Sobre DEE65

A DEE65 é uma condição genética rara que leva a crises epilépticas e impede que as crianças atinjam marcos do desenvolvimento como andar e falar. É um tipo de encefalopatia epiléptica e do desenvolvimento, uma forma grave de epilepsia que é acompanhada por atraso no desenvolvimento e encefalopatia. Uma revisão recente descobriu que mais de 900 genes diferentes foram associados à DEE (Poke et al., 2023). A DEE65 é causada por variantes patogênicas no gene *Cyfp2*. Não existe tratamento ou cura para esta doença.



A woman with short blonde hair, wearing a black t-shirt, is standing behind a young boy with brown hair, wearing a white polo shirt and blue jeans. The boy is using a white and yellow four-wheeled walker. The woman is holding the handles of the walker, assisting the boy as he walks. They are in a brightly lit room with large windows in the background. In the foreground, there are several colorful, padded blocks (orange, yellow, green, red) and a blue ball. The overall atmosphere is supportive and encouraging.

# In the Unknown

GeneDx is on a mission to shorten and prevent the diagnostic odyssey. By providing clear, accurate, and meaningful genetic information, our comprehensive genetic tests help guide healthcare decisions, fuel the discovery of new genetic causes of disease, and accelerate the development of new therapies.

**Since 2015 in the US, GeneDx has identified 27 patients with a pathogenic or likely pathogenic variant in the CYFIP2 gene.**

In addition to helping individuals by enabling their genetic diagnosis, each patient tested at GeneDx enables us to more precisely interpret the genetic information of future patients we test—helping even more families find answers.

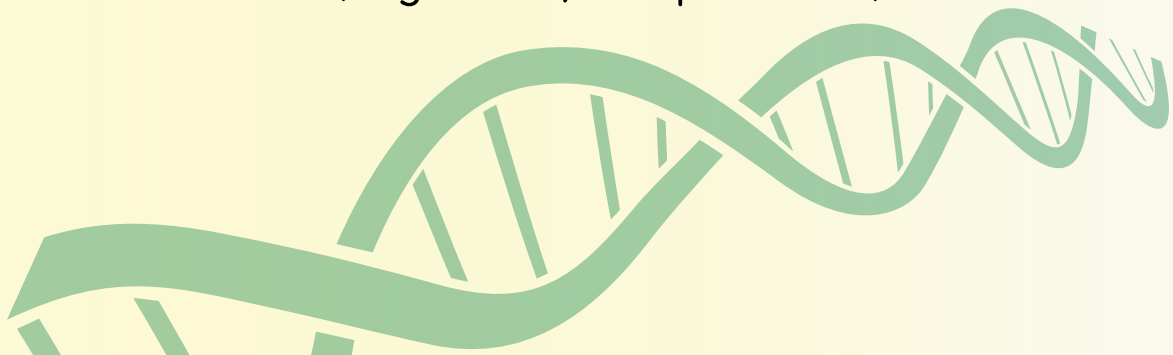
**There is power in numbers. When patients come together, we can do great things.**

This number is current as of February 2025 and is subject to change. For example, patients may opt out of data sharing or be part of institutional agreements which prohibits data sharing, new patients may be identified, and variant classifications may evolve.

## Sobre Cyfip2

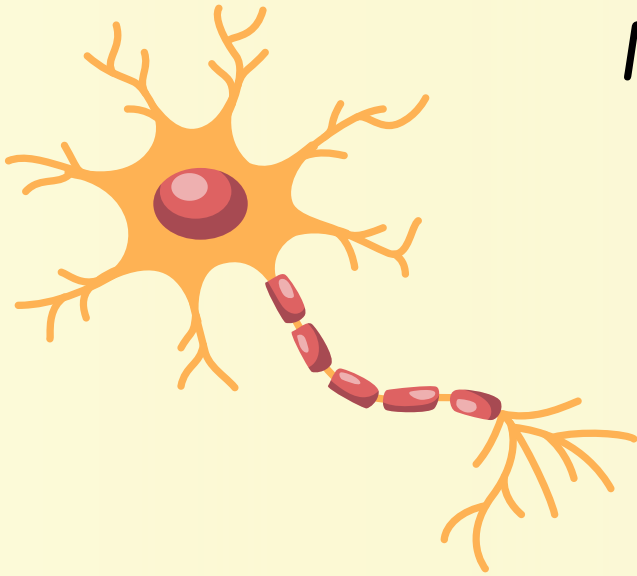
Cyfip2 é uma abreviação de Cytoplasmic Fragile X Messenger Ribonucleoprotein 1 Interacting Protein 2 (Proteína 2 de Interação com a Ribonucleoproteína Mensageira do X Frágil Citoplasmática). O gene foi descoberto pela primeira vez em 2001 por pesquisadores que estudavam a síndrome do X Frágil (Schenck et al., 2001). A causa genética da síndrome do X Frágil é um gene chamado FMRP. A proteína Cyfip2 atua como parceira da FMRP. No entanto, somente depois de 9 anos da descoberta do gene que bioquímicos elucidaram outro papel da Cyfip2 ao estudar uma proteína chamada actina (Chen et al., 2010). A Cyfip2, que é encontrada principalmente em neurônios no cérebro, controla o complexo proteico que remodela o citoesqueleto, uma rede de filamentos proteicos encontrados no interior da célula. Quando a Cyfip2 não está funcionando corretamente, os filamentos proteicos são depositados em áreas onde causam danos neuronais afetando o desenvolvimento e a função cerebral.

Até o momento, médicos e cientistas confirmaram que 26 variantes genéticas diferentes em Cyfip2 estão ligadas à DEE65, com outras duas variantes suspeitas de estarem ligadas à doença (Begemann et al., 2021; Zweier et al., 2019; Begemann, dados não publicados). Quase metade das variantes ocorre na Arginina 87, um aminoácido crítico para controlar a remodelagem do citoesqueleto. A maioria das outras variantes também parece estar envolvida no controle do citoesqueleto. A maioria dos pacientes com DEE65 apresenta epilepsia, diminuição do tônus muscular e grave deficiência intelectual/atraso no desenvolvimento. Um estudo abrangente de história natural de 46 pacientes está em andamento (Begemann, não publicado).

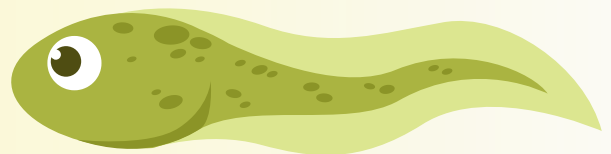




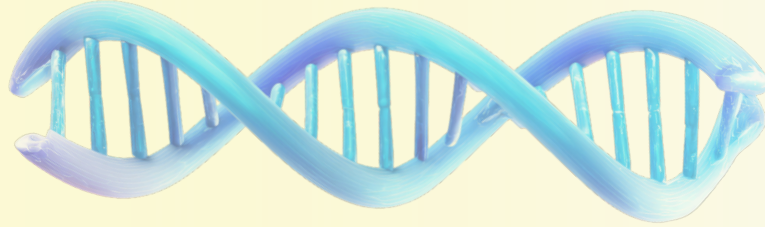
## Modelos de doença



Modelos de DDE65 que poderiam ser usados para descobrir e testar tratamentos para a doença incluem nocautes de Cyfip2 em camundongos e peixes-zebra, adição temporária do mRNA da variante Arg87Cys de Cyfip2 em girinos no qual o mRNA da variante Arg87Cys de Cyfip2 foi adicionado temporariamente, e edição genômica de Cyfip2 em camundongos para gerar a variante Arg87Cys em uma das duas cópias. . Além disso, amostras de pacientes foram usadas para criar linhagens celulares que carregam várias das variantes causadoras da doença.



## Tratamentos em Desenvolvimento



Tratamentos em desenvolvimento para a DEE65 estão em seus estágios iniciais. As opções terapêuticas incluem uma remoção seletiva do RNA mensageiro patogênico por oligonucleotídeo antissenso (ASO), fármacos reposicionados selecionados a partir daqueles já aprovados pela FDA e por outras agências reguladoras, e compostos que regulam outros aspectos da via biológica prejudicada pelas variantes de Cyfip2.

“Estudos recentes nos níveis molecular, celular e de modelo animal estão gradualmente revelando os mecanismos patológicos subjacentes aos transtornos do neurodesenvolvimento associados ao CYFIP2. No entanto, ainda existem lacunas significativas no desenvolvimento de estratégias terapêuticas, indicando uma necessidade de maior progresso e colaboração entre a pesquisa clínica e básica.” Ma et al, 2024

# Descrição da doença

Os pacientes são atualmente diagnosticados com DEE65 com base em uma apresentação clínica, incluindo crises epilêpticas refratárias que começam nos primeiros seis meses de vida, atraso no desenvolvimento psicomotor, microcefalia, dismorfismos faciais e hipotonia. Este conjunto de sintomas é, por vezes, denominado síndrome de Ohtahara ou West (Scheffer et al., 2025). Como este conjunto de sintomas indica uma causa genética, os pacientes são frequentemente avaliados com sequenciamento completo do genoma (WGS) ou sequenciamento completo do exoma (WES). Com mais de 900 genes diferentes potencialmente associados à DEE, identificar a causa genética de cada paciente é um processo minucioso.





# Descrição da Doença

O termo DEE foi introduzido em 2017 para diferenciar síndromes de epilepsia em que as crises epiléticas causam atraso no desenvolvimento daquelas em que o atraso é um sintoma independente da doença. Naquela época, estava claro que a maioria das síndromes de DEE eram causadas por variantes genéticas. A forma mais comum de DEE é a síndrome de Dravet. As DEEs são distúrbios neurológicos complexos e, portanto, difíceis de diagnosticar. O diagnóstico e a identificação da causa genética muitas vezes falham em levar a um plano de tratamento eficaz, mas como algumas síndromes de DEE são tratáveis com medicamentos, cirurgia ou mudanças dietéticas, é importante estabelecer a causa genética o mais cedo possível (Samanta et al., 2025).

A DEE65 é um subconjunto muito raro de DEE. Em um estudo epidemiológico realizado na Escócia em 2021, a incidência de DEE foi de aproximadamente 1 em 1200 crianças nascidas (Symonds et al., 2021). A DEE mais comum, a síndrome de Dravet, representa cerca de 7,5% dos casos de DEE nesse estudo. É muito difícil estimar a incidência de uma doença tão rara como a DEE65. O relatório de história natural mais recente da Dra. Anais Begemann realizada na Suíça identifica 46 pacientes com DEE65 que foram relatados na literatura ou identificados diretamente na prática clínica da Dra. Begemann. Com o uso limitado de testes genéticos todo o mundo, é provável que existam mais casos que permanecem não diagnosticados.



Síndrome de West

Síndrome de Ohtahara

or



DEE65

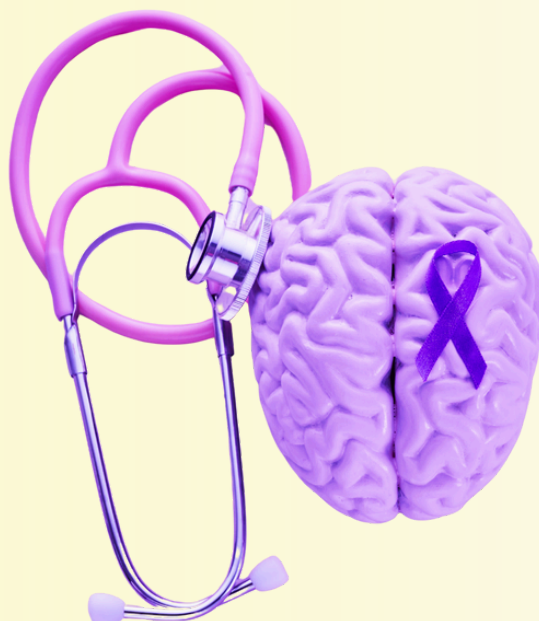


Muitas doenças raras recebem múltiplos nomes à medida que diferentes médicos descrevem conjuntos de sintomas relacionados, ou muitas vezes o mesmo conjunto, de forma independente. Estas síndromes são diferenciadas umas das outras com base no tipo de crise epiléptica, na idade de início e na progressão dos sintomas.

Na era dos testes genéticos, surgiu um novo sistema de nomenclatura e classificação, onde cada causa genética da doença recebe um identificador único, como DEE65 para pacientes com variantes em *Cyfp2*. Dar à síndrome um nome como West ou Ohtahara pode oferecer aos médicos uma visão geral dos sintomas que o paciente apresenta e sugerir regimes de tratamento. Saber a causa genética precisa pode não levar a uma maior compreensão dos sintomas ou levar a tratamentos alternativos a curto prazo, mas pode sugerir um plano de longo prazo para o desenvolvimento de medicamentos. Portanto, ainda podemos usar o nome de um médico que descreveu um conjunto de sintomas muito antes da era dos testes genéticos modernos (o Dr. West descreveu a síndrome que leva seu nome em 1840) como uma abreviação para uma síndrome complexa e variável.

# Sinais e sintomas da DEE65

Todos os pacientes com DEE65 experimentam deficiência intelectual e atraso no desenvolvimento. A maioria também tem epilepsia, consistindo em diferentes tipos de crises (incluindo crises tônicas, mioclônicas e tônico-clônicas, ausências e espasmos epilépticos) e anormalidades em seus testes de ressonância magnética (MRI) e EEG. A maioria dos pacientes exibe hipotonia (fraqueza muscular) e cerca de metade apresenta tamanho da cabeça menor do que o normal para sua idade e peso (microcefalia). Muitos pacientes também exibem problemas visuais (seja atrofia óptica, deficiência visual cortical ou estrabismo), dificuldades de alimentação e problemas comportamentais que são semelhantes ao transtorno do espectro autista (Begemann et al., 2021). Observou-se também que alguns pacientes apresentam deficiência do número normal de neutrófilos no sangue. Embora a incidência relatada de neutropenia seja baixa, este teste não é rotineiramente solicitado na avaliação de pacientes com epilepsia. Portanto, é possível que as variantes de *Cyfp2* também afetem a produção ou a sobrevivência dos neutrófilos e poderiam, portanto, comprometer a resposta do paciente à infecção.





# Isabella e sua família, Brasil

"Depositamos nossa esperança na ciência para melhorar significativamente a qualidade de vida de Isabella, especialmente no que diz respeito à sua comunicação."

- Mãe de Isabella





# Opções de Tratamento Atuais

Alguns pacientes com DEE65 foram tratados com sucesso com medicamentos anticonvulsivantes, conforme revisado em Squire, 2025. Os autores mencionam a eficácia do valproic acid e da lacosamide, mas os medicamentos anticonvulsivantes que foram relatados em estudos de caso variam consideravelmente. Às vezes, os cuidadores podem assumir a responsabilidade de escolher um regime de tratamento eficaz dentro de um conjunto de medicamentos e doses dados pelos seus médicos. Incentivar os clínicos a compartilhar sua experiência no tratamento de pacientes com DEE65 uns com os outros pode encurtar o tempo necessário para otimizar o tratamento para futuros pacientes. A pesquisa em camundongos e evidências anedóticas de pacientes levantam a possibilidade de que a atividade das crises possa diminuir alguns anos após o nascimento, mas reaparecer mais tarde na vida.

Os sintomas não relacionados às crises da DEE65, como outras DEEs, são difíceis de caracterizar e têm poucas opções de tratamento. Cuidadores e pais de pacientes com DEE relatam a comunicação e a função motora grossa como suas principais prioridades para tratamentos (Hecker et al., 2024). Os pais de pacientes com DEE65 expressaram que, embora as crises sejam o foco principal das visitas médicas e das intervenções diárias, os sintomas não relacionados às crises, incluindo problemas de sono, são tão ou mais preocupantes.

# Cenário de Pesquisa



A pesquisa sobre a função de Cyfip2 começou em 1999, quando o gene foi chamado pela primeira vez de PIR121 (Saller et al., 1999). Foi apenas em 2018 que clínicos no Japão ligaram quatro casos de DEE com variantes na Arginina 87 de Cyfip2 (Nakashima et al., 2018). Embora o número de laboratórios estudando Cyfip2 e DEE65 permaneça pequeno, um progresso significativo em nossa compreensão das causas da doença resultou do interesse científico em vários aspectos da função de Cyfip2.



Um estudo para encontrar a razão pela qual duas linhagens relacionadas de camundongos respondem de forma diferente à cocaína

Pais de uma criança com encefalopatia epiléptica procurando respostas na ciência laboratorial

## Cyfip2 Pesquisa

Uma busca por genes que controlam a resposta de larvas de peixe a ruídos altos

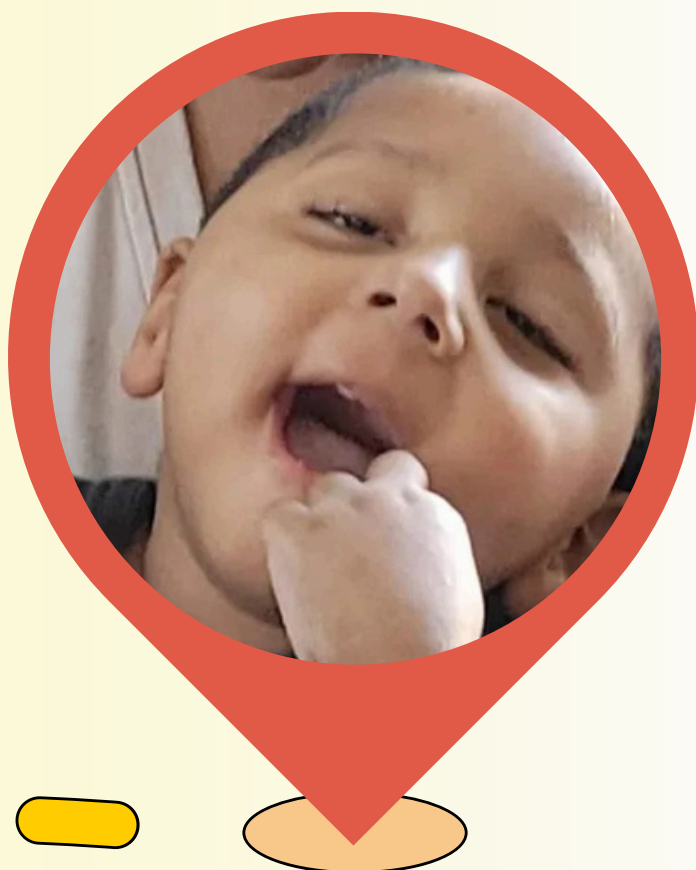
Uma dissecção molecular dos componentes de um complexo proteico que controla o movimento e a forma celular

Uma investigação sobre a causa da síndrome do X Frágil

# Como os cientistas passam a se interessar em estudar Cyfip2 e DEE65?

Cientistas escolhem uma área de estudo por muitas razões. Alguns são guiados para um projeto de pesquisa específico por seus mentores de carreira. Outros ficam intrigados por um relatório científico e iniciam uma nova linha de investigação. Às vezes, pacientes ou cuidadores de pacientes solicitam que um pesquisador investigue sua doença, despertando um interesse vitalício em encontrar tratamentos. Perguntou-se aos principais pesquisadores de Cyfip2 o que os levou ao interesse nesta área da biologia. Suas respostas variaram, mas todas levaram a contribuições significativas para esse campo.

Em homenagem à memória de  
Marcellus, Estados Unidos



# Históricos de Casos

Para uma doença ultrarrara, cada paciente que é descrito para a comunidade científica acrescenta dados significativos à nossa compreensão dessa doença. Clínicos que descobrem um diagnóstico genético de uma DEE geralmente relatam esse resultado em um artigo científico chamado relato de caso. Até o momento, houve 8 relatos de casos na literatura, incluindo dois relatórios maiores que compilam os relatos de casos anteriores, chamados histórias naturais retrospectivas (Amato et al., 2025; Arisaka et al., 2021; Begemann et al., 2021; Da Silva Cardoso et al., 2023; Nakashima et al., 2018; Peng et al., 2018; Salokivi et al., 2024; Zhong et al., 2019; Zweier et al., 2019). Esses relatórios comparam as características clínicas de cada paciente, bem como a causa genética da doença (a variante patogênica específica em *Cyfip2*). Os dados resultantes permitem uma correlação genótipo/fenótipo, um agrupamento de pacientes com base em seu curso da doença e sua mutação específica. Com uma amostra de dados muito pequena, essa correlação genótipo/fenótipo é imperfeita. É impossível neste momento prever o curso clínico que um paciente pode experimentar com base em sua variante patogênica. No entanto, parece até agora que variantes na posição 87 levam a sintomas mais graves do que variantes em outras partes do gene.

# Ganho ou perda de função?

Para desenvolver um tratamento eficaz para a DEE65, é importante determinar se a doença é causada por um “ganho de função” ou uma “perda de função” de Cyfip2. Um gene que é “perdido” ou mutado de tal forma que nenhuma proteína funcional é sintetizada poderia ser tratado por reposição gênica. No entanto, quando um gene ganha função, ou assume um papel diferente e prejudicial na célula devido a uma mudança na sequência de aminoácidos, reduzir a quantidade da proteína prejudicial seria um tratamento eficaz.

Uma informação importante usada para determinar se variantes patogênicas de Cyfip2 representam um ganho ou perda de função é a correlação genótipo/fenótipo. Se existirem pacientes que apresentam uma perda completa do gene, uma variante nula, então um mecanismo de perda de função é possível. No entanto, na visão geral mais recente dos históricos de casos, a Dra. Anais Begemann descobriu que todos os históricos de casos descritos de pacientes onde a causa genética é confirmada apresentam pequenas alterações no gene que não resultariam em uma variante nula. Portanto, é mais provável, dadas as informações disponíveis até o momento, que o ganho de função em Cyfip2 seja o mecanismo para a DEE65. Abaixo, serão discutidas outras abordagens para determinar se o ganho ou a perda de função é o mecanismo responsável pela DEE65..



# Programa de Coleta de Dados Cyfip2

A Cyfip2 Network fez parceria com a RARE-X para coletar informações sobre pacientes com DEE65 e facilitar a pesquisa e o desenvolvimento de tratamentos. O Programa de Coleta de Dados permite que famílias participem de pesquisas sem custo e sem visitas clínicas obrigatórias.

Quando os cuidadores fazem login na plataforma, eles recebem uma pesquisa “da cabeça aos pés” sobre o paciente. Com base nessas respostas, pesquisas adicionais são geradas. Além de detalhes sobre crises e espasmos, as pesquisas podem incluir perguntas sobre distúrbios do sono, deficiências psicomotoras, capacidade de comunicação, comportamento aberrante, problemas gastrointestinais, problemas visuais e saúde imunológica. A plataforma também coletará informações sobre intervenções médicas, dieta, fisioterapia e qualidade de vida do paciente e do cuidador. Essas informações ajudarão os pesquisadores a estudar o mecanismo da doença e potencialmente criar tratamentos para os pacientes.

**Inscriva-se aqui**





# Giuseppe e sua família, Itália

“Ele é um exemplo de força e coragem para todos.”  
- Mãe de Giuseppe



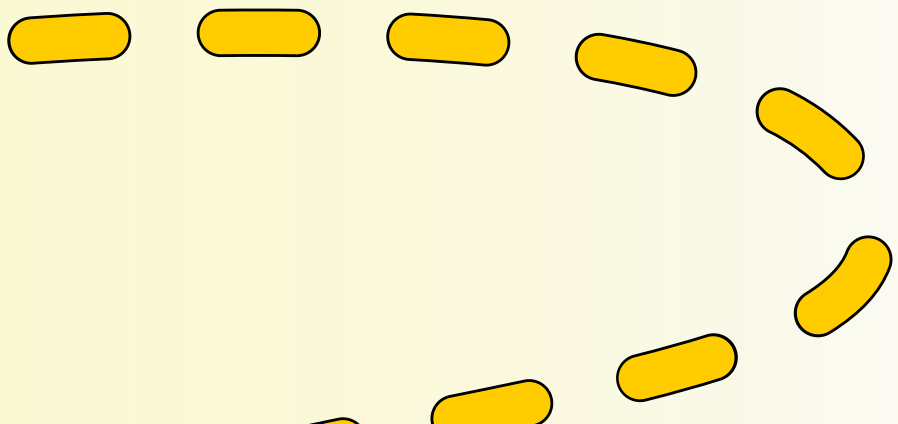


# Bioquímica de Cyfip2

Cyfip2 foi identificado pela primeira vez como um gene que era ativado por uma forma mutante da proteína p53 (Saller et al., 1999), que é frequentemente mutada em cânceres humanos. A conexão entre Cyfip2 e p53 levou a dezenas de artigos de pesquisa sobre o papel de Cyfip2 no câncer. Embora esses estudos focados em câncer não se conectem diretamente com o papel das variantes de Cyfip2 na DEE65, o interesse contínuo na proteína por parte da comunidade de pesquisa em câncer, muito ativa e bem financiada, poderia servir para avançar o desenvolvimento terapêutico para a DEE65.



Landon, Estados Unidos





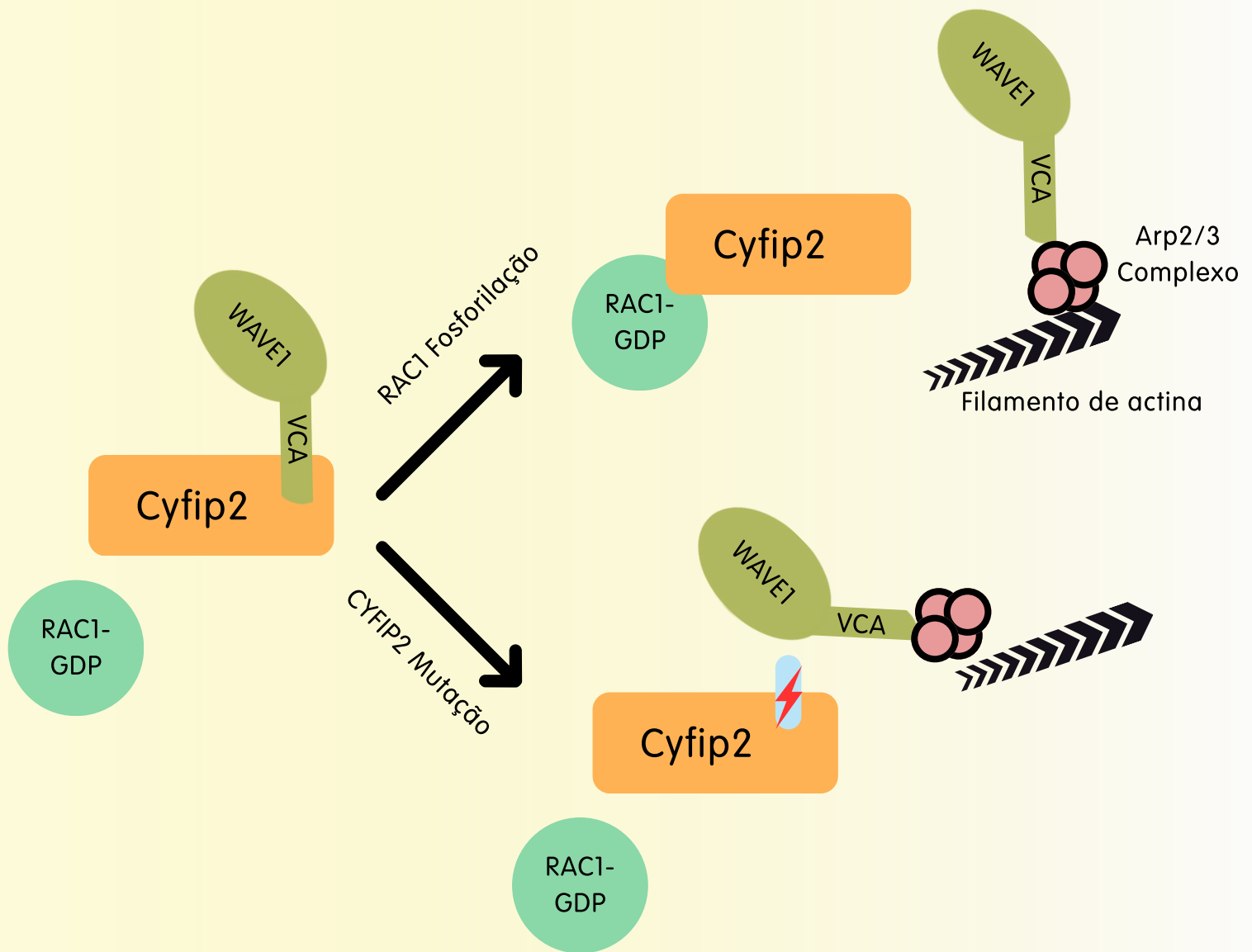
## Bioquímica de Cyfip2

Cyfip2 interage com uma proteína chamada FMRP (Proteína de Retardo Mental do X Frágil, ou Ribonucleoproteína Mensageira do X Frágil). Usando um método para “pescar” novos parceiros de ligação proteica de uma célula de levedura usando FMRP como a “isca”, dois novos genes foram descobertos, Cyfip1 e Cyfip2 (Schenck et al., 2001). Cyfip1 e 2 estão entre as proteínas associadas a FMRP mais estudadas, e ainda assim seu papel nas funções da FMRP ainda não está claro. FMRP liga-se ao RNA, controlando o processo pelo qual o RNA é lido para produzir proteínas (tradução). Cyfip1 é aparentemente importante para coordenar a tradução de RNA com a remodelagem do citoesqueleto (DeRubeis et al., 2013).

# O Complexo Regulador WAVE

Um novo papel para as proteínas Cyfip foi descoberto em 2010. As células são mantidas unidas por membranas lipídicas que formam as paredes e filamentos de proteína que mantêm a rigidez interna, assim como os cabos que sustentam uma ponte pênsil. Uma das proteínas que compõem esses filamentos é chamada actina. O Complexo Regulador WAVE, ou WRC, é um ponto de controle importante que determina onde e quando os filamentos de actina são formados. Cientistas na UT Southwestern ao examinar os componentes do WRC descobriram que a Cyfip1 desempenha um papel importante na organização do WRC e na manutenção de um componente chamado VCA em um estado inativo (Chen et al., 2010). Cyfip2, que é quase idêntica à Cyfip1, pode assumir esse papel no WRC também. Quando as proteínas Cyfip não estão funcionando corretamente, o VCA fica ativo o tempo todo e os filamentos de actina se formam em lugares onde a célula não precisa deles.

Nos neurônios, a formação precisa de filamentos de actina é importante para guiar extensões neuronais chamadas dendritos e axônios aos seus alvos adequados, e para formar as conexões nesses alvos chamadas sinapses (DeRubeis et al., 2013; Han et al., 2014; Y. Kim et al., 2024). Embora não tenha havido demonstração direta de que a perda de controle do filamento de actina, a orientação do axônio e a formação adequada de sinapses levem aos sintomas da DEE65, essa é a hipótese predominante para explicar como variantes patogênicas de CYFIP2 resultam na doença.”

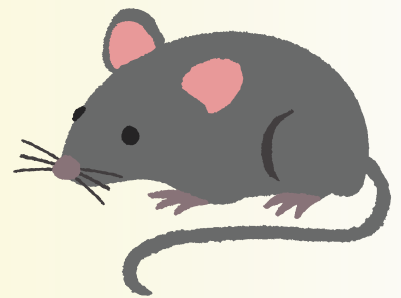
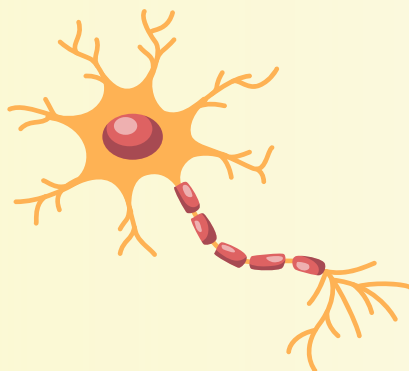
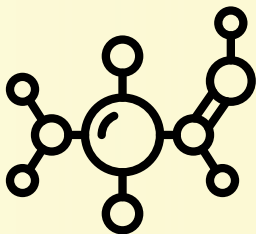


Desenho esquemático do Complexo Regulador WAVE e das proteínas que interagem com ele. Cyfip2 é uma proteína grande que atua como um andaime para a montagem do complexo. Ela também mantém a parte da WAVE1 chamada VCA em uma cavidade, impedindo-a de desencadear a montagem do filamento de actina até que a proteína Rac1 ative o complexo. Quando a Cyfip2 não consegue segurar a VCA naquele bolsão (o raio vermelho), filamentos de actina são formados mesmo quando a Rac1 não está ativando o processo. Esses filamentos de actina extras formam-se em partes da célula onde não são necessários e prejudicam a função do neurônio (Zweier et al., 2019).



# Ferramentas de Pesquisa Sobre Cyfip2

Para estudar qualquer doença, seja para obter uma maior compreensão da causa, refinar o diagnóstico ou desenvolver novos tratamentos, os cientistas precisam recriar a doença em um ambiente de laboratório controlado. A forma mais simples de modelos de doença pode exigir algumas proteínas empacotadas em uma rede cristalina que pode ser iluminada por raios-X. Mais complexas são as misturas de proteínas, ácidos nucleicos e compostos químicos que reproduzem as interações entre os componentes celulares. Alguns distúrbios podem ser modelados em cultura de células, enquanto outros podem exigir um organismo vivo inteiro para capturar todos os mecanismos que levam à progressão da doença. Os modelos laboratoriais mais complexos de doenças envolvem mamíferos com a variante patológica introduzida em seu DNA.

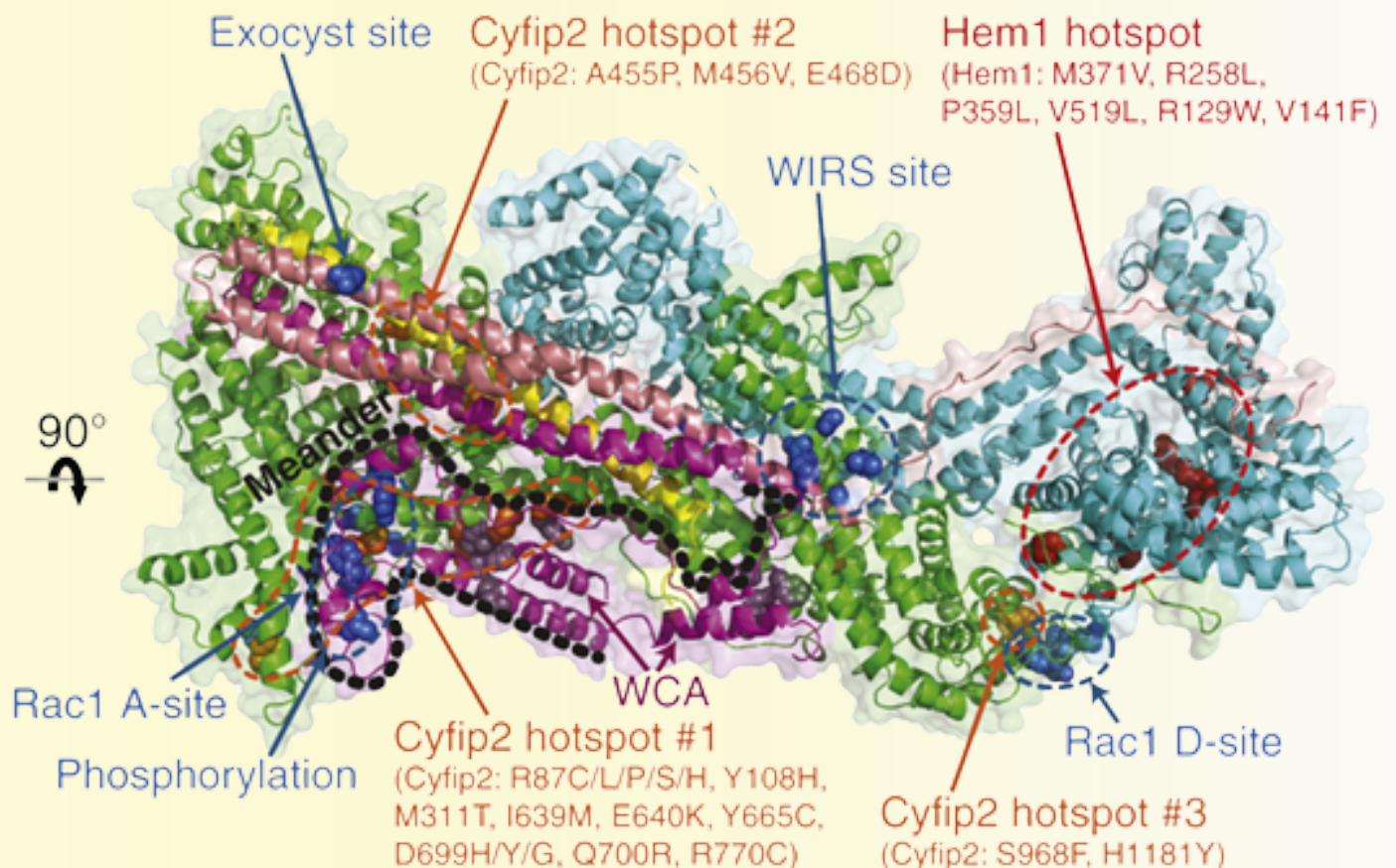


Mais complexos

# Estrutura Cristalina de Raios-X do WRC

Cyfp2 é membro de pelo menos dois complexos proteicos.

Embora a estrutura cristalina de raios-X do Complexo Regulador WAVE contendo Cyfp1 tenha sido relatada (Chen et al., 2010), a estrutura que contém Cyfp2 não foi. As duas proteínas compartilham uma grande semelhança e isso permitiu uma recriação da estrutura do WRC com Cyfp2 em um modelo de computador (Biembengut et al., 2022). Este modelo in silico pode ser animado posteriormente por um processo computacional chamado dinâmica molecular para revelar o mecanismo de desregulação do WRC por variantes na Arginina 87. Ele também pode ser usado para triar compostos que possam reverter o efeito dessas variantes (Venturi Biembengut et al., 2024).

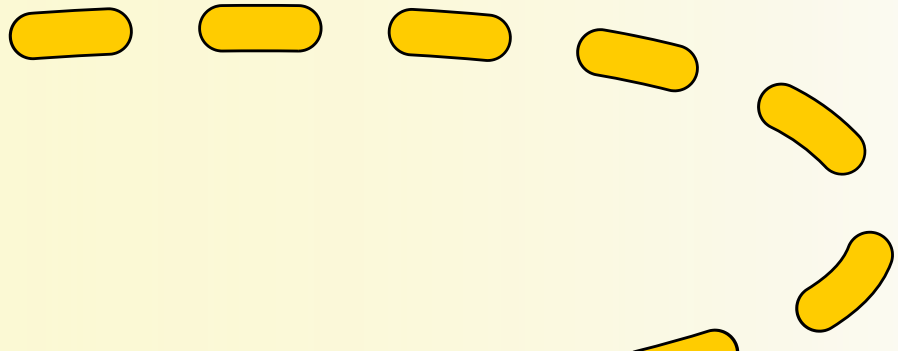


# Linhagens Celulares

As ferramentas de pesquisa necessárias para introduzir qualquer mutação no DNA de uma célula permitem que os cientistas criem todas as variantes patogênicas conhecidas no tipo de célula de sua escolha. No entanto, é preferível em muitos casos usar células coletadas de pacientes e familiares próximos, uma vez que o restante do genoma do paciente pode influenciar o efeito da variante de Cyfip2. Células podem ser coletadas de sangue, raspados de bochecha, biópsias ou, no caso de um artigo de 2023 (Da Silva Cardoso et al., 2023), amostras de urina. Fibroblastos de pacientes com DEE65 em cultura mostram um déficit na formação de uma estrutura chamada rufos dorsais (Begemann et al., 2021). Este é tanto um indicador de disfunção do filamento de actina quanto um ponto de partida potencial para criar um ensaio baseado em células para um esforço de reposicionamento de fármacos.



“ Quando estou trabalhando em uma linhagem celular no laboratório, lembro a mim mesma que esta é uma célula de um paciente que tem uma família. É importante parar e pensar sobre isso às vezes – Dra. Isabelle Zaboroski Silva





# Linhagens Celulares

Modelos animais (a serem discutidos abaixo) mostraram que a perda de atividade de Cyfip2 prejudica a capacidade dos neurônios no cérebro em desenvolvimento de encontrar seu alvo pretendido (Cioni et al., 2018). Linhagens celulares derivadas de pacientes podem ser induzidas a se tornarem neurônios em cultura. Se as variantes causadoras de DEE65 interrompem a orientação do axônio da mesma maneira que o nocaute do gene Cyfip2 faz, isso deve ser evidente na forma como os neurônios crescem em cultura. Este estudo está em andamento na Washington University St. Louis.



# Moscas e Peixes

Moscas-da-fruta são organismos modelo extraordinariamente úteis para estudos genéticos, porque se reproduzem rapidamente e são relativamente fáceis de manipular geneticamente. A mosca-da-fruta tem apenas uma forma de Cyfip. Ao remover parte da proteína, os pesquisadores descobriram que a Cyfip da mosca-da-fruta desempenha um papel na orientação de axônios, formação de sinapses e polimerização de actina (Schenck et al., 2003). Eles não analisaram o comportamento nas moscas. Não houve relatos de variantes causadoras de DEE65 em moscas-da-fruta.

Peixes-zebra compartilham muitas das características atraentes das moscas-da-fruta para estudos genéticos, mas têm o benefício adicional de serem vertebrados. Uma linhagem mutante de peixe-zebra chamada nevermind, na qual axônios destinados ao córtex visual falham em encontrar seus alvos, é uma variante nula para Cyfip2 (Pittman et al., 2010). Um outro estudo procurando por genes que regulam a resposta da larva do peixe a estímulos também mostrou que uma variante nula de Cyfip2 (esta chamada triggerhappy) tinha um limiar de susto reduzido (Marsden et al., 2018). Este modelo permitiu aos cientistas testar o efeito de remover e adicionar de volta o gene em momentos diferentes, e eles descobriram que a mudança no limiar de susto era reversível. Embora esta descoberta possa não ser diretamente aplicável a variantes causadoras de DEE65 em cérebros humanos, é uma indicação de que o papel de Cyfip2 envolve a manutenção da função neuronal e não simplesmente o desenvolvimento de redes neurais funcionais. O desenvolvimento de um peixe-zebra expressando variantes causadoras de DEE65 em Cyfip2 está em andamento na North Carolina State University, no laboratório do Dr. Kurt Marsden.

# Modelos de Camundongo

Em comparação com peixes e invertebrados, mamíferos são mais difíceis de manter no laboratório, ocupam mais espaço e têm custos maiores para garantir sua manutenção saudável. Apesar dessas desvantagens, a maioria dos cientistas considera os modelos de camundongo essenciais para entender como uma doença se desenvolve e se os tratamentos serão eficazes em pacientes. Assim como moscas-da-fruta e peixes-zebra, as ferramentas necessárias para manipular os genes de camundongos são bem desenvolvidas.

Ao contrário de moscas-da-fruta e peixes-zebra, camundongos podem ser dosados usando vias que são semelhantes à maneira como pacientes humanos seriam dosados: oralmente para alguns fármacos, intravenosa, ou no centro do cérebro ou medula espinhal para oligonucleotídeos e terapias gênicas virais.

Os primeiros modelos de camundongo explorando *Cyfp2* surgiram por acaso. Cientistas estavam estudando a resposta de camundongos à cocaína e descobriram que duas linhagens de camundongos de laboratório intimamente relacionadas respondiam de forma diferente à droga. A linhagem C57Bl/6J reagiu mais fortemente do que a linhagem C57Bl/6N (Kumar et al., 2013). Essas duas linhagens de camundongos apresentam apenas pequenas diferenças em seu código genético. Uma diferença em *Cyfp2* que torna a proteína menos estável provou ser a causa da resposta reduzida à cocaína nos camundongos 6N. Esse resultado levou a uma exploração do papel de *Cyfp2* no comportamento impulsivo e nos circuitos de recompensa que controlam não apenas as respostas à cocaína, mas também a ingestão de álcool e a compulsão alimentar (Hartmann et al., 2023).



# Modelos de Camundongo

Usando uma estratégia chamada nocaute (knock-out), onde um gene é alterado para que nenhum produto proteico seja produzido, Kihoon Han e colegas mostraram que *Cyfp2* é essencial para a sobrevivência do camundongo (Han et al., 2014). Como a maioria dos genes existe em duas cópias ou alelos (um de cada progenitor), esses pesquisadores estudaram camundongos que mantiveram apenas um alelo do gene (nocautes heterozigotos). Esses camundongos exibiram hiperatividade e pareciam bastante semelhantes aos camundongos sem FMRP. Embora a estratégia de nocaute seja uma maneira importante de explorar como um gene afeta as vias biológicas, um procedimento mais trabalhoso é necessário para estudar uma variante patogênica que resulta em um ganho de função. Esse modelo de camundongo só foi gerado em 2023, representando um grande avanço no desenvolvimento de terapias.

Camundongos expressando a variante Arg87Cys em *Cyfp2* em uma de suas duas cópias do gene têm peso corporal e força reduzidos (Kang et al., 2023). Eles exibem espasmos espontâneos semelhantes à epilepsia que desapareceram progressivamente durante o desenvolvimento, mas ressurgiram quando atingiram a idade adulta. (Ma et al, 2025). Eles tiveram uma resposta menor à interação social em testes usados para estudar o espectro autista em camundongos. Os camundongos têm uma sensibilidade aumentada à droga indutora de crises PTZ. Todos esses resultados sugerem que o camundongo *Cyfp2* Arg87Cys é um modelo válido da doença humana. A diferença nos camundongos nocaute heterozigotos e naqueles expressando a variante Arg87Cys também é fortemente sugestiva de que o mecanismo da doença envolve um ganho de função. Esses camundongos devem ser úteis para prever o curso da doença em pacientes e também seriam úteis para testar quaisquer novas estratégias terapêuticas, incluindo fármacos e terapias geneticamente direcionadas.

# Novo Modelo de Camundongo

O modelo de camundongo desenvolvido pela Dra. Han e seus colegas da Korea University representa um grande avanço na compreensão da DEE65 e no desenvolvimento de tratamentos. No entanto, uma das principais lacunas apontadas por cientistas especialistas é entender quando e onde a desregulação de Cyfip2 afeta os neurônios. Essa informação é essencial para o desenvolvimento de terapias, porque esses tratamentos precisarão agir em um momento específico (o momento da administração) e em um local específico (dependendo de como o tratamento é entregue ao paciente). Precisamos garantir que o momento e o local de ação do medicamento sejam compatíveis com o momento e o local onde o mecanismo da doença ocorre.

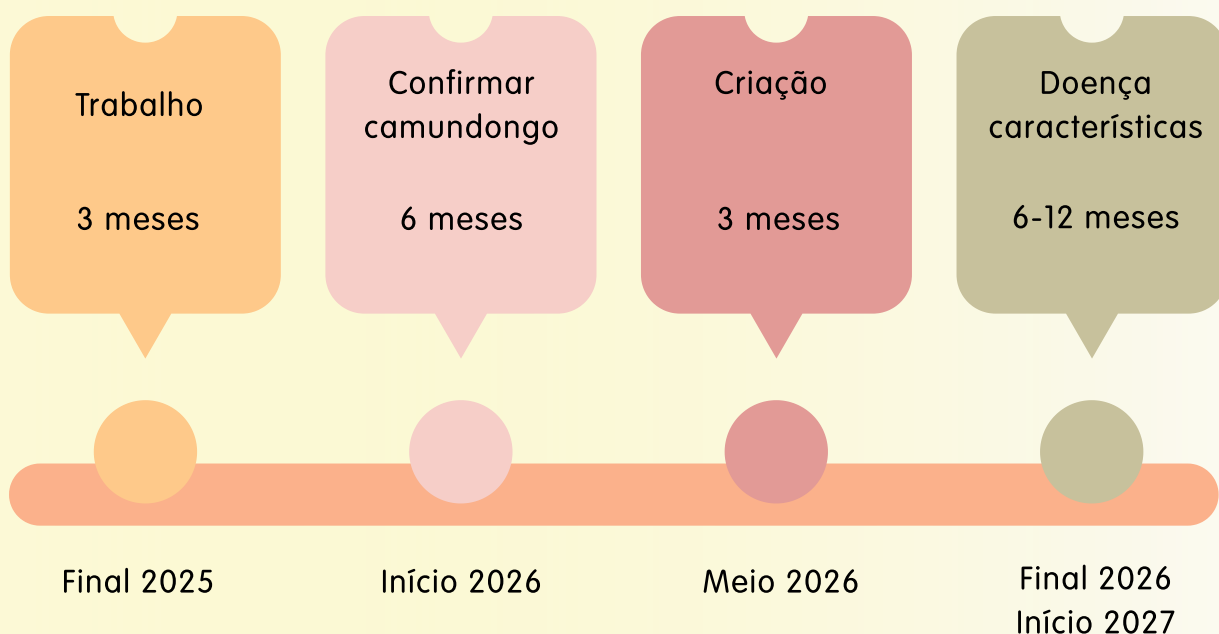
Por essa razão, a Cyfip2 Network fez uma parceria com o Czech Center for Phenogenomics (CCP) para produzir um modelo de camundongo condicional de DEE65. Nesse modelo, a variante patogênica Arg87Cys é introduzida de uma forma que só será expressa nas células do camundongo que também expressam a proteína Cre. Isso permitirá que cientistas criem linhagens de camundongos que expressem a variante patogênica apenas em um tipo específico de neurônio, por exemplo, ou que expressem a forma Arg87Cys apenas em um momento definido após o nascimento. Essa flexibilidade ampliada demonstra o incrível poder da genômica em modelos murinos.

Após uma proposta de financiamento bem-sucedida, o CCP generosamente ofereceu criar o modelo de camundongo condicional sem custo para a Cyfip2 Network. Assim que os camundongos nascerem e a expressão condicional do gene patogênico for confirmada, eles precisarão ser caracterizados em uma série de experimentos. O orçamento para realizar esses experimentos ainda está em desenvolvimento.

Desenvolver terapêuticas para essas crianças envolve uma quantidade intensa de trabalho, mas ainda precisamos trabalhar mais duro –

Dr. Vivek Kumar

### Geração de Modelos de Camundongo



Nosso objetivo imediato é delinear as alterações neurobiológicas detalhadas que ocorrem no cérebro de camundongos Cyfip2 Arg87Cys. Com base nessas percepções, pretendemos identificar e validar alvos terapêuticos –

Dr. Kihoon Han



# Girinos

Finalmente, a rã-de-unhas-africana (*Xenopus laevis*) tornou-se uma importante ferramenta de pesquisa devido ao grande tamanho de seus ovos que podem então ser injetados com proteínas e ácidos nucleicos com muito menos dificuldade do que outras células de vertebrados. Injetar ovos de *Xenopus* com RNA de Cyfip2 tipo selvagem resultou em girinos levemente hiperativos, enquanto injetar RNA de Cyfip2 Arg87Cys fez com que os girinos desenvolvessem comportamento de crise espontânea e atividade cerebral anormal (Panthi et al., 2022). Este modelo representa outro forte indicador de um mecanismo de ganho de função, uma vez que produzir o fenótipo de crise não exigiu a remoção do Cyfip2 tipo selvagem. Esses girinos também poderiam ser usados para triar tratamentos potenciais, em números maiores do que seria possível para camundongos.

## Resumo dos Modelos de Doença

Model	Location
Fibroblastos derivados de pacientes (6 variantes diferentes)	University of Zurich
iPSCs derivadas de pacientes (2 pacientes, ambos R87C)	Institute Carlos Chagas/Fiocruz
Fibroblastos derivados de pacientes	Coriel Institute (não catalogado)
Girinos de <i>Xenopus laevis</i> expressando 2 variantes patogênicas diferentes de Cyfip2	Univeristy of Otago, New Zealand
Peixe-zebra nocaute para Cyfip2	NCSU
Camundongos nocaute para Cyfip2	International Mouse Phenotyping Consortium
Camundongos editados Cyfip2 R87C	Korea University





# Honzík, República Tcheca

“Espero que o Honzík aprenda a andar e a falar melhor. Eu também gostaria de ajudar outras pessoas.”

- Mãe do Honzík



# Lacunas no cenário de pesquisa

Embora um progresso significativo tenha sido feito desde que Cyfip2 foi identificado pela primeira vez como o gene associado à DEE65, muito resta a ser feito:

## Compreensão científica básica

- Onde e quando a expressão de Cyfip2 é importante no desenvolvimento do cérebro?
- Quais proteínas compõem o WRC em parceria com a Cyfip2?
- Como a atividade da Cyfip2 é regulada?
- Qual é o papel (se houver) da interação Cyfip2/FMRP na DEE65?
- Como as variantes diferentes de Arg87x afetam a atividade?

## Ferramentas de Pesquisa

- Modelo de camundongo condicional (permite que os pesquisadores restrinjam a variante patogênica a certos tecidos ou a certos momentos durante o desenvolvimento)
- Modelos complexos baseados em células, como cultura 3D e organoides cerebrais (para explorar quais tipos de células são mais vulneráveis às variantes patogênicas de Cyfip2 e para reproduzir respostas semelhantes a crises em um sistema modelo mais controlável)

## O que a Cyfip2 Network e seus aliados podem fazer para ajudar?

Purpose	Project	Research Location/ Investigator	Cost
Geração de modelo de doença	Coletar amostras biológicas de pacientes para criar linhagens celulares (fibroblastos ou iPSCs)	University of Brescia, Italy/ Alessandro Barbon	
Geração de modelo de doença	Caracterizar camundongos Cyfip2 R87C sendo gerados no Instituto Tcheco	UC Davis, CCP	



# Desenvolvimento Terapêutico

Foto: Eli durante um curso intensivo da DMI!



## Desenvolvimento Terapêutico

Um dos objetivos mais importantes da Cyfip2 Network é acelerar o desenvolvimento de terapias modificadoras da doença para a DEE65. Os tratamentos atuais concentram-se no controle das crises, o que é importante, mas não aborda os outros aspectos da doença

“As comorbidades incluem atraso no desenvolvimento e regressão resultando em deficiência intelectual; características psiquiátricas, incluindo transtorno do espectro autista, transtornos de humor, ansiedade e psicose; manifestações gastrointestinais, musculoesqueléticas, respiratórias e cardíacas, juntamente com uma taxa de mortalidade consideravelmente aumentada.”

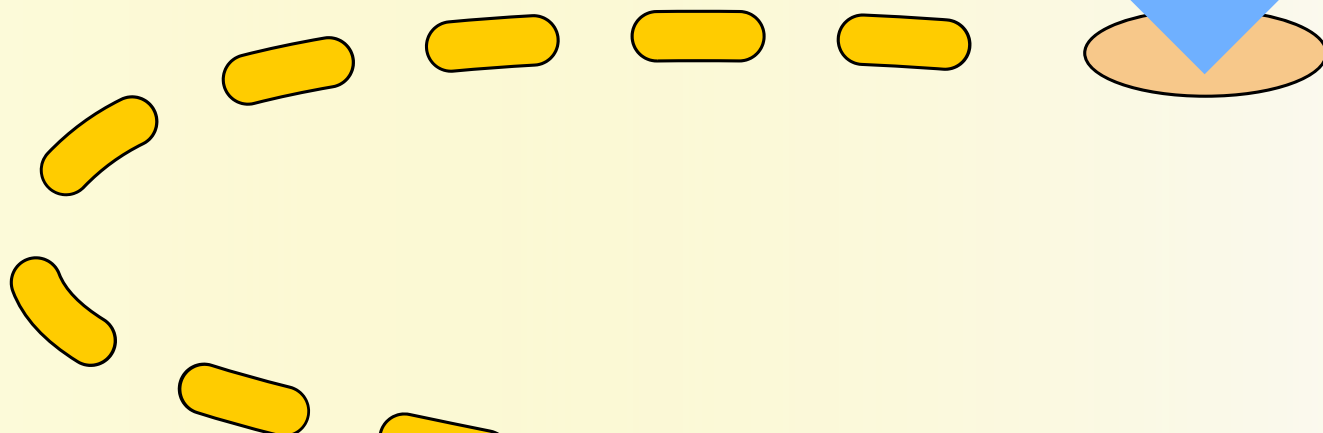
Scheffer et al., 2025

Em uma nota positiva, estamos entrando em uma nova era da medicina onde medicamentos geneticamente direcionados que podem reduzir, substituir ou até mesmo reparar genes defeituosos estão atualmente em desenvolvimento para doenças raras e até ultrarraras.

# Reposicionamento de Fármacos

Criar um medicamento farmacêutico inteiramente novo é um processo caro e demorado, e há pouco incentivo econômico para buscar novos tratamentos para doenças ultrarraras. No entanto, encontrar um novo uso para um medicamento antigo é relativamente barato e rápido. Pouco mais de 300 compostos químicos que agem em alvos dentro do cérebro foram aprovados para uso em humanos, e embora nenhum desses medicamentos tenha sido aprovado para tratar DEE65, é possível que um deles tenha um efeito biológico que poderia ser benéfico para os pacientes.

Lucas, Estados Unidos



# Reposicionamento de Fármacos

Descobrir quais dos medicamentos aprovados podem beneficiar os pacientes com DEE65 pode ser feito de algumas maneiras diferentes. Pesquisadores no instituto brasileiro Fiocruz usaram um modelo computacional da Cyfip2 para “encaixar” (dock) compostos químicos na localização Arg87Cys (Venturi Biembengut et al., 2024). Eles encontraram 11 compostos previstos para apresentar forte afinidade de ligação. Para testar esses resultados contra a proteína real, eles adicionaram os medicamentos às células para testar se eles mudariam a temperatura na qual a proteína se desnaturava. Eles descobriram que 8 compostos aumentaram a estabilidade térmica da Cyfip2, indicando que esses compostos se ligam à proteína. O próximo passo para determinar se esses compostos seriam benéficos para pacientes com DEE65 é testá-los em um ensaio baseado em células que indicaria a restauração da função normal da Cyfip2 ou a remoção da função indesejada da variante Arg87Cys. Pelo menos três laboratórios estão criando ativamente tais ensaios baseados em células: o laboratório de Patricia Shigunov na Fiocruz, o laboratório de Joseph Dougherty na Washington University St. Louis, e o laboratório de Eileen Kennedy na University of North Carolina. É vitalmente importante usar um ensaio que reflita com precisão a doença, portanto seria útil usar alguns ensaios baseados em células diferentes para esse propósito. Os compostos também devem ser testados no contexto de outras variantes patogênicas, porque essas variantes também causam alterações na mesma região da proteína que a Arg87Cys. Isso exigiria a criação de uma linhagem celular de pacientes com as outras variantes patogênicas.



# Reposicionamento de Fármacos

Uma segunda abordagem para identificar medicamentos candidatos ao reposicionamento é realizar triagens de alto rendimento utilizando um ensaio relevante. Isso poderia ser um ensaio baseado em células (por exemplo, o teste de rufos dorsais em fibroblastos descrito acima (Begemann et al., 2021)), ou um teste em animais pequenos o suficiente para usar em um experimento com mais de 300 condições (girinos (Panthi et al., 2022) ou peixes-zebra, por exemplo). O desenvolvimento de um ensaio adequado para triagem de alto rendimento de medicamentos aprovados é uma atividade que está financeiramente ao alcance de grupos de defesa de pacientes e tem potencial para impactar significativamente a busca por tratamentos eficazes.



Isabella, Brasil

# Reposicionamento de Fármacos

Universidade da Carolina do Norte,  
Chapel Hill



Outra abordagem para o reposicionamento de fármacos é aproveitar o fato de que, além da DEE65, as proteínas Cyfip também estão envolvidas no processo de crescimento e metástase do câncer. Pesquisadores na University of Georgia e University of North Carolina Chapel Hill desenvolveram compostos que alteram a função do Complexo Regulador WAVE (Limaye et al., 2022). Esses compostos agem em células que expressam as proteínas Cyfip tipo selvagem, mas determinar se eles removem os efeitos nocivos das variantes patogênicas de Cyfip2 será um próximo passo importante. Embora esses tratamentos ainda estejam longe de estudos em humanos, eles estão sendo desenvolvidos para uma doença que atrai uma grande quantidade de recursos, o que os fará avançar mais rapidamente do que qualquer tratamento específico para DEE65.

# Oligonucleotídeos Antissenso Alelo-seletivos

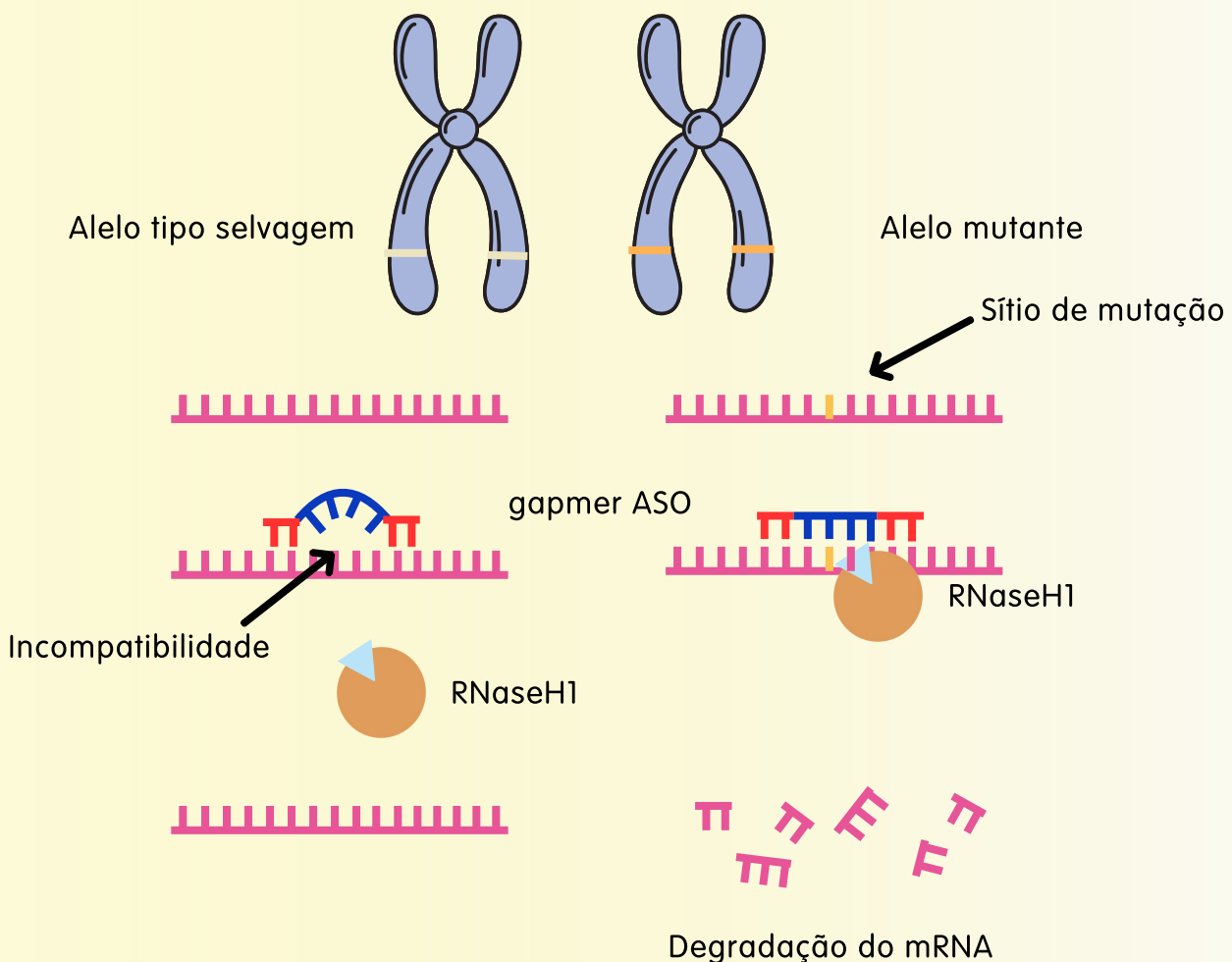
Cyfp2 está presente em dois alelos em cada célula (um em cada cromossomo 5). Em pacientes com DEE65, um alelo é normal e a outra cópia carrega uma variante patogênica. A

variante é muitas vezes diferente apenas por um nucleotídeo do alelo normal (chamado polimorfismo de nucleotídeo único, ou SNP, pronunciado “snip”), mas esse único nucleotídeo é suficiente para produzir uma proteína que tem um efeito nocivo na célula e, em última análise, no paciente. Em camundongos, a remoção de ambos os alelos de Cyfp2 não é tolerada. Os camundongos sem nenhuma Cyfp2 não sobrevivem após o nascimento. Camundongos com apenas um alelo do gene sobrevivem após o nascimento, embora tenham algumas diferenças daqueles com ambos os alelos (Han et al., 2014; G. H. Kim et al., 2020; Zhang et al., 2019, 2020). Essas diferenças não são tão graves quanto as observadas nos camundongos expressando Arg87Cys em um alelo (Kang et al., 2023). Considerando esses dados de camundongos juntamente com o fato de que todos os pacientes com DEE65 estudados até o momento expressam alguma forma de Cyfp2 (em oposição a uma variante nula), sugere-se que o mecanismo da doença é um ganho de função. Portanto, pode ser benéfico para os pacientes remover o alelo patogênico, para reverter o ganho de função, se for possível fazê-lo e deixar o alelo normal no lugar.



## Oligonucleotídeos Antissenso Alelo-seletivos

Uma abordagem terapêutica chamada interferência de RNA, silenciamento gênico ou knockdown poderia alcançar essa remoção seletiva de alelo de Cyfip2. Um oligonucleotídeo que é complementar ao RNA mensageiro de Cyfip2, um oligonucleotídeo antissenso ou ASO, poderia ser construído para corresponder exatamente, por exemplo, à variante Arg87Cys. Como o ASO não corresponde exatamente ao alelo normal, ele não interferiria na produção da proteína normal. Tais oligonucleotídeos de silenciamento gênico alelo-específicos foram gerados para a doença de Huntington (Conroy et al., 2022). O design de ASOs alelo-específicos é descrito no artigo e os autores mostraram que o método é aplicável a outros genes.



# Oligonucleotídeos Antissenso

## Alelo-seletivos

O design de um ASO alelo-específico para a variante Arg87Cys beneficiaria a maioria dos pacientes com DEE65, mas seria ainda mais benéfico projetar um ASO que pudesse silenciar qualquer alelo patogênico. No laboratório de Joseph Dougherty na Washington University of St. Louis, pesquisadores identificaram um SNP “silencioso” chamado rs1823035 no gene Cyfip2 que não causa alteração na sequência da proteína e é encontrado em aproximadamente 1/3 dos alelos. Ao mirar uma ou outra versão dessa variante silenciosa, pode ser possível silenciar o alelo patogênico sem afetar o alelo normal.



# O que a Cyfip2 Network e aliados podem fazer para ajudar?

Propósito	Projeto	Local/ Investigador	Custo
<b>Reposicionamento de fármacos</b>	Testar compostos da triagem in silico em modelo baseado em células	Fiocruz/Shigurov	
Reposicionamento de fármacos	Triar compostos em peixe-zebra	NCSU/Marsden	
Desenvolvimento de novos medicamentos	Testar peptídeos grampeados visando Cyfip2 em modelo baseado em células	UNC/Kennedy	
Silenciamento gênico alelo-específico	Testar ASOs específicos para variantes patogênicas em modelo baseado em células	WUSTL/Dougherty	





**Ada e sua família,  
Estados Unidos**



# Tratamentos sendo investigados para todas as DEEs

Como a DEE65 compartilha sintomas e prognóstico com outras DEEs, vale a pena explorar tratamentos que são eficazes no tratamento de outras DEEs e examinar se eles podem ter utilidade no tratamento da DEE65.

## **Bexicaserin**

Com a aquisição da Longboard Pharmaceuticals pela Lundbeck, o desenvolvimento do primeiro tratamento voltado para todas as DEEs mudou-se para uma grande empresa com recursos significativos e experiência em levar medicamentos neurológicos à aprovação de mercado. Bexicaserin age em um receptor de serotonina específico, o 5-HT<sub>2C</sub>. Medicamentos como a fenfluramine, que visam receptores de serotonina de forma não seletiva, reduzem as crises, mas causam efeitos colaterais indesejados (sedação e doença valvular cardíaca, entre outros). Compostos que ativam especificamente o 5-HT<sub>2C</sub> foram considerados promissores porque camundongos sem 5-HT<sub>2C</sub> exibem crises espontâneas (Tecott et al., 1995). Bexicaserin reduz crises em pacientes com DEE e até agora não levantou sérias preocupações de segurança (Chan et al., 2025). O medicamento está atualmente em um ensaio de Fase III, o estágio final antes da aprovação comercial.

# Tratamentos sendo investigados para todas as DEEs

## **BMB-101**

Semelhante ao Bexicaserin, o BMB-101 atua no receptor 5-HT<sub>2C</sub>. Ele está atualmente em um ensaio de Fase 2 para DEE. É importante notar que a frequência de crises é o desfecho primário em ambos os estudos de agonistas de 5-HT<sub>2C</sub> (BMB-101 e Bexicaserin). Embora não tenha havido dados convincentes de que a redução nas crises impacte o desenvolvimento cognitivo na DEE, o único medicamento que demonstrou alguma capacidade de melhorar a cognição na epilepsia é a fenfluramine (Soto-Insuga et al., 2025), que é um agente liberador de serotonina que atua em todos os receptores de serotonina. Portanto, é possível que esses agonistas de serotonina mais bem tolerados (seletivos para o receptor 5-HT<sub>2C</sub>) possam ter um benefício semelhante, mas pode ser difícil para os pesquisadores saberem se tal efeito existe sem uma medida de desfecho apropriada (ver próxima seção).

## **Relutrigine**

A Praxis Precision Medicine desenvolveu um bloqueador de canal de sódio que mostrou eficácia em modelos animais de epilepsias não relacionadas a canais de sódio. A empresa demonstrou eficácia em pacientes com SCN2A/SCN8A e está expandindo os estudos para incluir todos os pacientes com DEE. Embora a empresa afirme que “todas as DEEs geneticamente impulsionadas resultam em hiperativação de canais de sódio”, seria importante testar o composto em um modelo de DEE65 para garantir que as crises nesses modelos também sejam reduzidas.



# Desenvolvimento Terapêutico

## **Ravicti**

O medicamento Ravicti da Amgen, ou fenilbutirato de glicerol, é usado para controlar os níveis de amônia em distúrbios do ciclo da ureia. O medicamento mostrou atividade anticrise em modelos de epilepsia SLC6A1 e STXBP1. Pesquisadores na Weill Cornell Medicine estão conduzindo um estudo do medicamento em todas as DEEs, seguindo um braço inicial apenas com pacientes SLC6A1 e STXBP1 (Stone et al., 2025).

## **Epidiolex/Canabidiol/Óleo de CBD**

A FDA aprovou o Epidiolex para tratar duas formas de DEE, síndrome de Dravet e síndrome de Lennox-Gastaut, em 2018. “Os dados atualmente disponíveis sugerem que a resposta ao tratamento com uma solução altamente purificada à base de óleo de CBD derivado de plantas pode ser vista em pacientes em uma ampla gama de distúrbios de epilepsia e etiologias.” (Lattanzi et al., 2021) Um relato do tratamento bem-sucedido de um único paciente com DEE65 com canabidiol (de Góes et al., 2022) não contém nenhuma informação sobre a dose, esquema ou fonte do medicamento, dificultando avaliar a eficácia deste tratamento.

## **Dieta cetogênica ou de Atkins modificada**

Algumas formas de DEE, incluindo a síndrome de Dravet, respondem bem a uma dieta cetogênica (Sharma & Tripathi, 2013). No entanto, alguns subtipos de DEE não são receptivos a esse tratamento e a dieta pode, na verdade, piorar os pacientes (Ko et al., 2018). Como não há relatos na literatura sobre a eficácia deste tratamento, é melhor (como com qualquer intervenção) proceder com cautela.

# Ensaaios clínicos para DEEs

Conforme relatado acima, pais de pacientes com DDE65 expressaram que, embora o controle das crises seja importante, o atraso no desenvolvimento deve ser considerado tão relevante quanto, ou até mais, na avaliação da eficácia de uma terapia.. Desenvolver uma intervenção terapêutica que trate esses sintomas não relacionados às crises exigirá uma maneira de medir a melhora no paciente. Essas medidas de desfecho, sejam usadas em história natural ou ensaios clínicos intervencionais, devem ser:

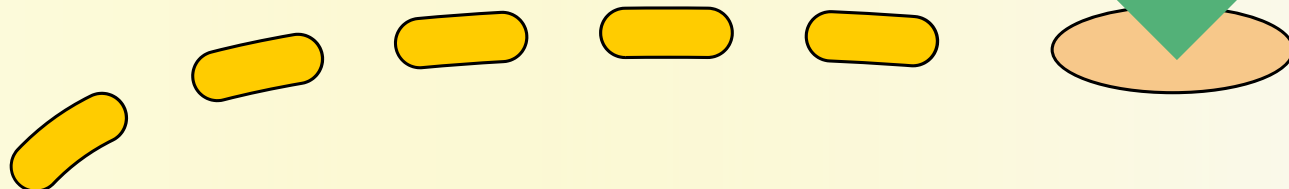
- 1) Relevantes para a qualidade de vida e bem-estar do paciente
- 2) Aplicadas consistentemente por diferentes avaliadores clínicos e em diferentes locais
- 3) Sensíveis à mudança, seja melhora ou piora

Além do tratamento de Fase 3 da Stoke Therapeutics/Biogen para a síndrome de Dravet, zorevunersen, os ensaios clínicos estudando tratamentos modificadores da doença para DDE ainda estão em seus estágios iniciais. Ainda há tempo para se preparar para ensaios clínicos para tratamentos modificadores da doença de uma maneira que garanta que medicamentos eficazes cheguem aos pacientes que precisam deles.

## Ensaio clínico para DEEs

Mesmo que muitos medicamentos tenham sido investigados e aprovados para reduzir a carga de crises em pacientes com diferentes formas de epilepsia, medir se um medicamento reduz a carga de crises ainda não é tão simples ou confiável quanto os investigadores gostariam para provar rigorosamente que um medicamento é eficaz. As crises geralmente acontecem em casa, podem ocorrer a qualquer hora do dia ou da noite, e mesmo os cuidadores mais atentos e observadores nem sempre conseguem determinar que tipo de crise o paciente está experimentando, quando começou ou o que a desencadeou. Apesar dessa limitação, a maioria dos tratamentos investigados para DEE usará uma contagem da carga de crises como medida de desfecho primária.

Giuseppe e sua família, Itália





# O Inchstone Project

Como espera-se que as terapias de precisão não apenas reduzam a frequência e a intensidade das crises, mas também melhorem o desenvolvimento cerebral e a deficiência intelectual, as medidas de desfecho nos ensaios clínicos devem ser sensíveis à mudança esperada. O Developmental Epileptic Encephalopathy Project (DEE-P) iniciou um programa para desenvolver essas medidas de desfecho, chamado Inchstone Project (porque é focado em melhorias menores do que as medidas de marcos típicos). O projeto inclui adaptar métodos de medição de habilidades para crianças com deficiência visual, determinar o que uma mudança significativa na função motora representa para pais de crianças com DEE, e desenvolver novas medidas de desfecho apropriadas para pacientes que podem ter desempenho no “pisso” das escalas de desenvolvimento padrão Bayley ou Vineland (Hecker et al., 2024). Medir qualquer melhoria que um tratamento traga será difícil e exigirá novas ferramentas para capturar com precisão ganhos sutis em pacientes que começam com comprometimento profundo.

O Inchstone Project visa acelerar o desenvolvimento de medidas de desfecho até o ponto de aprovação da FDA para pacientes com DEE. Tais medidas de desfecho devem ser mais sensíveis a melhorias incrementais do que as ferramentas que têm sido usadas para atrasos de desenvolvimento menos graves. O projeto reúne domínios comportamentais e a menor melhoria que os cuidadores considerariam importante e identifica padrões nos dados (Downs et al., 2025). Este é um primeiro passo no desenvolvimento e seleção de avaliações de desfechos clínicos que poderiam ser usadas em ensaios clínicos para DEEs à medida que novos tratamentos são testados.

# O que a Cyfip2 Network e aliados podem fazer para ajudar?

Purpose	Project	Location/ Investigator
Otimizar a eficácia dos tratamentos de crises existentes	Coletar resultados de tratamento de pacientes e formar uma opinião de consenso	Todos os clínicos de DEE65
Comparar EEGs de pacientes com DEE65 com outros distúrbios	Banco de EEG	Combined Brain, todos os clínicos de DEE65
Prontidão para ensaios clínicos	Participar do Inchstone Project em <a href="http://www.inchstoneproject.org">www.inchstoneproject.org</a>	Todos os cuidadores e clínicos de DEE65

# Conclusões

Comparado às formas mais comuns de DEE (síndrome de Dravet/SCN1A, SCN2A, CDKL5), o desenvolvimento de tratamentos para a DEE65 está em um estágio inicial. No entanto, lições aprendidas com o tratamento dessas outras DEEs farão com que os tratamentos para DEE65 passem da descoberta científica para estudos clínicos e para o atendimento ao paciente mais rapidamente. O estudo da função da Cyfip2 em contextos diferentes da DEE65 também impulsionará a pesquisa, embora a aplicabilidade dos resultados da ciência básica possa não ser imediatamente aparente. Os cuidadores de pacientes podem acelerar esse processo diretamente doando amostras biológicas (para criar modelos de doença baseados em células), participando de estudos de história natural (para prever melhor o curso clínico, produzindo dados que podem atuar como um grupo placebo virtual para pequenos estudos) e apoiando os estágios iniciais e arriscados da pesquisa. Organizações como a Cyfip2 Network também desempenham um papel importante na pesquisa científica ao reunir investigadores de mundos muito diferentes que podem aprender uns com os outros. Em março de 2025, a Cyfip2 Network organizou uma reunião virtual onde cientistas estudando comportamento de busca por cocaína em camundongos, respostas a ruídos em peixes-zebra, organização de filamentos de actina e encefalopatia epilética trocaram ideias e iniciaram colaborações. Esse papel como centro da rede é um componente inestimável do processo de descoberta científica.



# Glossário

Actina – uma proteína que forma filamentos ou cabos dentro das células

Agonista – uma substância que ativa um receptor para transmitir um sinal para dentro de uma célula.

Alelo – uma cópia de um gene (geralmente usado no contexto em que um paciente tem dois alelos diferentes).

Arginina – um dos 20 aminoácidos e um local frequente de variantes patogênicas.

Axônio – uma longa projeção que se estende do corpo do neurônio para outra célula.

Bloqueador de canal de sódio – uma classe de substâncias que reduzem o fluxo de sódio através de uma membrana celular. Esta classe inclui toxinas naturais, medicamentos para dor, medicamentos para arritmia cardíaca, bem como anticonvulsivantes

Citoesqueleto – a rede de filamentos, incluindo filamentos de actina, que dão rigidez a uma célula e permitem que ela se mova.

Correlação genótipo/fenótipo – uma comparação das variantes patogênicas (sequência gênica) com características físicas, como sinais e sintomas da doença.

De novo – uma variante patogênica que não é herdada de nenhum dos pais.

Dendrito – uma das várias projeções curtas que se estendem a partir do corpo de um neurônio (geralmente o axônio de um neurônio se conecta ao dendrito de outro neurônio).

Desnaturar – um processo no qual a forma tridimensional de uma proteína é alterada de modo que ela não executa mais sua função normal. A proteína geralmente se torna insolúvel. A albumina na clara do ovo é desnaturada quando o ovo é cozido.

Dinâmica molecular – o movimento rápido de partes de uma molécula em relação a outras partes.

Doença ultrarrara – uma doença que afeta menos de 1 em 50.000 pessoas.

Dominante – uma condição genética na qual um alelo de um gene controla o fenótipo do organismo, não importa qual seja o outro alelo (como olhos castanhos).

Edição genômica – um método de alterar a sequência de DNA em um organismo vivo, seja para criar um modelo de doença ou para curar uma doença em um paciente.

Ensaio clínico de Fase 1 – um estudo clínico que determina quanto de um medicamento é seguro para dar aos pacientes (às vezes realizado em indivíduos saudáveis).

Ensaio clínico de Fase 2 – um estudo clínico que determina qual dose de medicamento é eficaz em pacientes

Ensaio clínico de Fase 3 – um estudo clínico que determina se um medicamento é elegível para distribuição comercial.

Ensaio clínico intervencional – um estudo clínico no qual um tratamento é dado ao paciente para determinar se o tratamento é eficaz.

Estabilidade térmica – a capacidade de uma proteína de resistir à desnaturação em resposta ao calor. Essa propriedade geralmente é alterada quando uma substância se liga à proteína, portanto, a estabilidade térmica é uma maneira relativamente simples de triar compostos para uma atividade biológica específica.

Estudo de história natural – um estudo clínico no qual dados de pacientes são coletados ao longo do tempo sem tratamento (ou com um padrão de tratamento consistente) para coletar informações sobre como uma doença geralmente progride.

Fibroblasto – um tipo de célula que é encontrado em muitas partes do corpo e é fácil de usar para criar uma linhagem celular.

Fármaco reposicionado – um medicamento que foi aprovado para distribuição comercial para uma doença e que é eficaz no tratamento de outra doença.

Ganho de função – uma alteração que dá a uma proteína uma nova atividade (no contexto de doença genética, a nova atividade é geralmente prejudicial à saúde).



Hipotonia – perda de força e controle muscular.

In silico – um experimento que ocorre em um computador usando dados fornecidos por um pesquisador.

Linhagem celular – uma célula modificada de um paciente ou animal que vive em uma incubadora e pode ser multiplicada várias vezes para fornecer material de pesquisa para vários experimentos. As linhagens celulares também podem ser congeladas e transferidas de um laboratório para outro.

Medida de desfecho – uma medida usada em um ensaio clínico para determinar a gravidade da doença, progressão ou resposta a um tratamento.

Modelo de camundongo condicional – um camundongo geneticamente modificado que permite aos pesquisadores controlar onde e quando uma variante patogênica é expressa.

Neutrófilo – uma célula sanguínea envolvida no combate a certos tipos de infecção.

Nocaute – remoção de um gene do DNA para criar um modelo baseado em células ou animal.

Nucleotídeo – uma unidade de DNA ou RNA que compõe o código genético (A, T, G ou C no DNA)

Não seletivo – uma substância que afeta muitos alvos biológicos diferentes.

Oligonucleotídeo antissenso (ASO) – uma cadeia de nucleotídeos que complementa uma sequência de RNA ou DNA e, portanto, liga-se ao RNA ou DNA em um local específico.

Perda de função – uma alteração que remove a função normal de uma proteína (no contexto de doença genética, a perda é prejudicial à saúde).

Receptor de serotonina – uma família de proteínas que detectam o neurotransmissor serotonina e transmitem um sinal para dentro de uma célula. Esses receptores são responsáveis pela atividade de muitas substâncias psicoativas, incluindo tratamentos para transtornos mentais.

RNA mensageiro ou mRNA – um oligonucleotídeo produzido por uma célula que contém as instruções para fazer uma proteína.

Rufos dorsais – um anel de filamentos de actina que é encontrado no topo de muitos fibroblastos cultivados.

Sequenciamento completo do exoma – um método de avaliar todos os genes expressos em um paciente para encontrar potenciais variantes patogênicas. Este método sequencia apenas cerca de 2% do genoma e não pode avaliar variantes que estão fora dos genes expressos, o que pode ter efeitos na saúde.

Sequenciamento completo do genoma – um método de avaliar todo o DNA de um paciente para encontrar variantes patogênicas. Este método é mais caro do que o sequenciamento completo do exoma e os resultados são mais difíceis de interpretar.

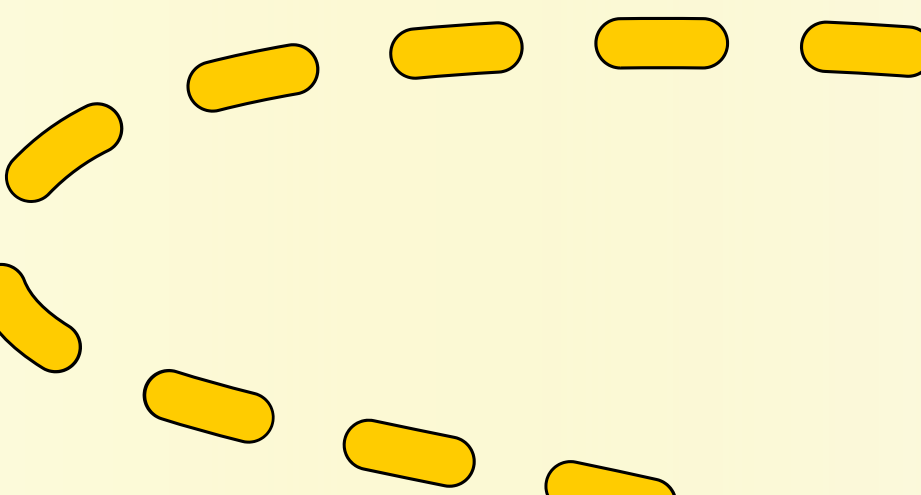
Terapia de reposição gênica – um tratamento que entrega uma nova cópia saudável de um gene para certos tecidos em um paciente.

Tipo selvagem – uma sequência genética que está livre de variantes deletérias, ou um animal que não tem variantes patogênicas em nenhum gene. Esta definição nunca é absoluta, uma vez que qualquer alteração na sequência gênica pode ter um efeito na saúde animal sob certas condições. Por exemplo, ambas as linhagens de camundongos C57Bl/6J e C57Bl/6N são consideradas tipo selvagem, mas a C57Bl/6N tem uma variante em *Cyfp2* que afeta o comportamento de busca por recompensa.

Variante nula – uma variante genética que resulta em nenhuma proteína funcional (semelhante à perda de função).

Variante patogênica – uma sequência alternativa de um gene que resulta em uma doença genética.

Fin e sua família, Suíça





# Linha do Tempo da Pesquisa sobre Cyfip2

A maneira mais simples de visualizar essas publicações é acessar <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/> e inserir o PMID na barra de pesquisa.

1999

Saller E, Tom E, Brunori M, Otter M, Estreicher A, Mack DH, Iggo R.

Increased apoptosis induction by 121F mutant p53.

EMBO J. 1999 Aug 16;18(16):4424-37.

PMID: 10449408

Cyfip2 foi identificado pela primeira vez em uma triagem de genes que são afetados por um fator de transcrição mutante chamado p53. Os autores chamaram o gene de 121F-specific p53 inducible RNA ou PIR121. Eles não sabiam a função do gene.

2000

Spranger S, Rommel B, Jauch A, Bodammer R, Mehl B, Bullerdiek J.

Interstitial deletion of 5q33.3q35.1 in a girl with mild mental retardation.

Am J Med Genet. 2000 Jul 17;93(2):107-9.

PMID: 10869111.

Este é um relato de caso que identifica uma possível causa de retardo mental em uma menina de 4 anos, com atraso psicomotor e crises epilépticas. A região do cromossomo 5 que é deletada contém Cyfip2, mas não há prova de que a alteração em Cyfip2 seja a causa dos sintomas da menina.

2001

Schenck A, Bardoni B, Moro A, Bagni C, Mandel JL.  
A highly conserved protein family interacting with the fragile X mental retardation protein (FMRP) and displaying selective interactions with FMRP-related proteins FXR1P and FXR2P.  
Proc Natl Acad Sci U S A. 2001 Jul 17;98(15):8844-9.  
PMID: 11438699

O primeiro relatório científico que usou o nome Cyfip2, este estudo de pesquisa começou como uma busca por proteínas associadas à Proteína de Retardo Mental do X Frágil (FMRP). Eles não atribuíram uma função para a Cyfip2 neste estudo, mas a encontraram em neurônios, e especificamente perto de sinapses, que conectam os nervos entre si. A FMRP controla o RNA mensageiro que fornece as instruções para produzir proteínas nos neurônios.

2003

Schenck A, Bardoni B, Langmann C, Harden N, Mandel JL, Giangrande A.  
CYFIP/Sra-1 controls neuronal connectivity in Drosophila and links the Rac1 GTPase pathway to the fragile X protein.  
Neuron. 2003 Jun 19;38(6):887-98.  
PMID: 12818175.

Este acompanhamento do artigo de 2001 do mesmo grupo agora identifica uma função para as proteínas Cyfip. Moscas-da-fruta (Drosophila) têm apenas uma forma de Cyfip. Remover este gene das moscas resulta em defeitos nas estruturas neuronais chamadas axônios e nas conexões entre neurônios chamadas sinapses. Eles não examinaram o comportamento nas moscas.

2010

Chen Z, Borek D, Padrick SB, Gomez TS, Metlagel Z, Ismail AM, Umetani J, Billadeau DD, Otwinowski Z, Rosen MK. Structure and control of the actin regulatory WAVE complex. Nature. 2010 Nov 25;468(7323):533-8. PMID: 21107423

O citoesqueleto de actina é um complexo de cabos de proteína que definem a forma da célula, muito parecido com os cabos de uma ponte pênsil. Os cabos estão mudando constantemente com as necessidades da célula, e este processo deve ser cuidadosamente controlado. Um complexo chamado Complexo Regulador WAVE (WRC) é um controlador do citoesqueleto de actina. Este artigo mostrou a maneira como a Cyfip1 (neste artigo chamada Sra1) se encaixa no WRC. Cyfip2, que é muito semelhante à Cyfip1, também se encaixa no WRC da mesma maneira, e desempenha o mesmo papel na comunicação de entradas de sinal para saídas do citoesqueleto.

Pittman AJ, Gaynes JA, Chien CB. nev (cyfip2) is required for retinal lamination and axon guidance in the zebrafish retinotectal system. Dev Biol. 2010 Aug 15;344(2):784-94. PMID: 20537992

Cientistas estudando o desenvolvimento do sistema nervoso gostam de usar peixes-zebra porque, como os humanos, eles são vertebrados, mas ao contrário dos humanos, eles são transparentes durante o desenvolvimento. Este estudo usou um peixe-zebra mutante chamado nevermind no qual os neurônios se desviavam no caminho para seus órgãos-alvo. Eles descobriram que os peixes mutantes careciam de Cyfip2, e levantaram a hipótese de que ou as ações de controle do citoesqueleto de actina ou as ações de ligação ao RNA da Cyfip2 eram necessárias para que os neurônios encontrassem seu caminho.



2013

Kumar V, Kim K, Joseph C, Kourrich S, Yoo SH, Huang HC, Vitaterna MH, de Villena FP, Churchill G, Bonci A, Takahashi JS.

C57BL/6N mutation in cytoplasmic FMRP interacting protein 2 regulates cocaine response.

Science. 2013 Dec 20;342(6165):1508-12.

PMID: 24357318

Estudando duas linhagens de camundongos de laboratório intimamente relacionadas, estes cientistas descobriram que uma linhagem respondia à administração repetida de cocaína de forma diferente da outra. Eles buscaram a diferença entre essas duas linhagens e descobriram que a linhagem que era menos sensível à cocaína possuía uma variante do Cyfip2 que diminuía a estabilidade da proteína. Eles criaram a hipótese de que mudanças nas conexões entre os nervos no cérebro eram responsáveis por essas diferenças.

2014

Abekhoukh S, Bardoni B.

CYFIP family proteins between autism and intellectual disability: links with Fragile X syndrome.

Front Cell Neurosci. 2014 Mar 27;8:81.

PMID: 24733999

Este artigo de revisão especula que, como Cyfip1 e Cyfip2 podem interagir com a FMRP, eles também podem se mostrar envolvidos na deficiência intelectual ou em transtornos do espectro autista. Embora não haja novos dados, a hipótese é notavelmente presciente.

2015

Han K, Chen H, Gennarino VA, Richman R, Lu HC, Zoghbi HY. Fragile X-like behaviors and abnormal cortical dendritic spines in cytoplasmic FMR1-interacting protein 2-mutant mice.

Hum Mol Genet. 2015 Apr 1;24(7):1813-23.

PMID: 25432536

Interessados em estudar os parceiros da FMRP, estes autores geraram camundongos nocaute para Cyfip2. Os camundongos sem ambas as cópias de Cyfip2 não sobreviveram muito após o nascimento, mas os camundongos sem uma cópia (e mantendo uma cópia) mostraram hiperatividade, semelhante aos camundongos sem FMRP. Esses dados são fortemente sugestivos de que a atividade de Cyfip2 é importante para a função da FMRP. [É importante notar que um nocaute (perda completa da proteína) pode ser muito diferente da expressão de uma proteína com uma variante que interrompe a atividade.]

2018

Marsden KC, Jain RA, Wolman MA, Echeverry FA, Nelson JC, Hayer KE, Miltenberg B, Pereda AE, Granato M.

A Cyfip2-Dependent Excitatory Interneuron Pathway Establishes the Innate Startle Threshold.

Cell Rep. 2018 Apr 17;23(3):878-887.

PMID: 29669291

Procurando por genes que afetam as respostas de larvas de peixe-zebra a ruídos altos, estes autores introduziram mutações aleatórias em todo o genoma do peixe. As mutações que afetaram a “resposta de susto”, mas não afetaram a capacidade do peixe de ouvir o ruído ou se mover em resposta, incluíram uma alteração em Cyfip2 que se espera que remova toda a função da proteína. Restaurar o gene completo mais tarde no programa de desenvolvimento do peixe restaurou a resposta de susto aos níveis normais. O papel de Cyfip2 nesta via biológica é provavelmente devido à função de remodelagem do citoesqueleto de actina.

2018

Nakashima M, Kato M, Aoto K, Shiina M, Belal H, Mukaida S, Kumada S, Sato A, Zerem A, Lerman-Sagie T, Lev D, Leong HY, Tsurusaki Y, Mizuguchi T, Miyatake S, Miyake N, Ogata K, Saitsu H, Matsumoto N.

De novo hotspot variants in CYFIP2 cause early-onset epileptic encephalopathy.

Ann Neurol. 2018 Apr;83(4):794-806.

PMID: 29534297.

## Grande avanço:



Uma investigação sobre as causas genéticas da encefalopatia epiléptica em 699 pacientes revelou variantes na Arginina 87 do Cyfip2 em 4 indivíduos. A arginina é particularmente suscetível à mutação espontânea porque o código de DNA que codifica a arginina é vulnerável à alteração química. Prevê-se que a Arginina 87 estabilize a interação de Cyfip2 com o WAVE, resultando em uma atividade do WAVE que está sempre na posição “ligada”, independentemente das necessidades da célula para o crescimento de fibras de actina. De fato, quando o Cyfip2 variante foi adicionado às células, resultaram fibras de actina descontroladas. Este artigo fundamental não apenas descreve a síndrome mais tarde nomeada DEE65 pela primeira vez, como também sugere o mecanismo pelo qual o Cyfip2 variante leva a consequências nos neurônios.

2018

Cioni JM, Wong HH, Bressan D, Kodama L, Harris WA, Holt CE.

Axon-Axon Interactions Regulate Topographic Optic Tract Sorting via CYFIP2-Dependent WAVE Complex Function. *Neuron*. 2018 Mar 7;97(5):1078-1093.e6.

PMID: 29518358

Neste artigo de proeza tecnológica, os autores usam métodos de nocaute e substituição gênica em peixes e rãs para mostrar que o Cyfip2 desempenha um papel importante na triagem de axônios conforme o sistema nervoso se desenvolve. Eles continuam demonstrando que, dos dois papéis distintos atribuídos ao Cyfip2, sua interação com o WRC e os efeitos subsequentes no citoesqueleto de actina são cruciais para a função de triagem de axônios, enquanto a ligação ao RNA não é necessária.

Peng J, Wang Y, He F, Chen C, Wu LW, Yang LF, Ma YP, Zhang W, Shi ZQ, Chen C, Xia K, Guo H, Yin F, Pang N. Novel West syndrome candidate genes in a Chinese cohort.

*CNS Neurosci Ther*. 2018 Dec;24(12):1196-1206.

PMID: 29667327

Uma análise de 72 pacientes chineses com síndrome de West (epilepsia infantil com atraso no desenvolvimento) revelou 17 genes candidatos que provavelmente causam a doença, incluindo uma variante de arginina para cisteína na posição 87 do Cyfip2.



2019

Zhang Y, Kang HR, Han K.

Differential cell-type-expression of CYFIP1 and CYFIP2 in the adult mouse hippocampus.

Anim Cells Syst (Seoul). 2019 Nov 24;23(6):380-383.

PMID: 31853374

Apesar de sua similaridade, é claro que Cyfip1 e Cyfip2 desempenham papéis diferentes na biologia. Aqui, os autores mostram que as duas proteínas estão localizadas em diferentes tipos de células no cérebro, com Cyfip1 encontrada em neurônios e astrócitos em regiões discretas do cérebro, enquanto Cyfip2 é expressa em todo o cérebro, mas apenas em neurônios.

Zhong M, Liao S, Li T, Wu P, Wang Y, Wu F, Li X, Hong S, Yan L, Jiang L.

Early diagnosis improving the outcome of an infant with epileptic encephalopathy with cytoplasmic FMRP interacting protein 2 mutation: Case report and literature review.

Medicine (Baltimore). 2019 Nov;98(44):e17749.

PMID: 31689829

Uma menina na China apresentando sintomas da síndrome de West foi diagnosticada com DEE65 após sequenciamento completo do exoma. Ela tinha uma mutação R87L no Cyfip2.

2019

Zhang Y, Kang H, Lee Y, Kim Y, Lee B, Kim JY, Jin C, Kim S, Kim H, Han K.

Smaller Body Size, Early Postnatal Lethality, and Cortical Extracellular Matrix-Related Gene Expression Changes of Cyfip2-Null Embryonic Mice.

Front Mol Neurosci. 2019 Jan 4;11:482.

PMID: 30687000

Sabemos por relatórios anteriores que camundongos completamente desprovidos de expressão de Cyfip2 não sobrevivem. Este estudo tenta determinar por que os camundongos morrem logo após o nascimento. No entanto, os cérebros dos camundongos sem Cyfip2 parecem normais usando os métodos que esses autores empregam, deixando a questão sem resposta por enquanto.



2019

Zweier M, Begemann A, ..., Rauch A.  
Spatially clustering de novo variants in CYFIP2, encoding the cytoplasmic FMRP interacting protein 2, cause intellectual disability and seizures.  
Eur J Hum Genet. 2019 May;27(5):747-759.  
PMID: 30664714



## Marco importante:

A pesquisa de doenças raras depende da coleta de informações do maior número possível de pacientes em estudos de história natural. Este primeiro estudo de história natural em DEE65 descreve 12 pacientes com 8 variações genéticas diferentes. Todas essas variantes, exceto uma, estão localizadas em partes da proteína que interagem com o WAVE e os autores especulam que todas as variantes resultam em um estado “sempre ligado” da polimerização de actina do WAVE. Uma dessas variantes resulta em uma proteína encurtada, onde a peça que falta não deve contatar o WAVE, mas sim outro membro do WRC, chamado NCKAP1. A maioria desses pacientes apresentou crises e todos foram relatados como tendo atraso no desenvolvimento, na maioria dos casos grave. É importante notar que, até esta publicação, todas as variantes causadoras de DEE65 no Cyfip2 produzem uma proteína, o que significa que a doença é causada por uma função alterada do Cyfip2, não por uma quantidade reduzida da proteína. Isso contrasta com os modelos de camundongos descritos acima, nos quais as células dos camundongos produzem metade da quantidade normal de proteína. Não é incomum que duas doenças diferentes possam resultar da função alterada e da perda completa de uma proteína, e este pode ser o caso do Cyfip2 com base nas evidências até agora.

2020

Arisaka A, Nakashima M, Kumada S, Inoue K, Nishida H, Mashimo H, Kashii H, Kato M, Maruyama K, Okumura A, Saitsu H, Matsumoto N, Fukuda M.

Association of early-onset epileptic encephalopathy with involuntary movements - Case series and literature review. *Epilepsy Behav Rep.* 2020 Dec 17;15:100417.

PMID: 33490948

Quatro pacientes com sintomas semelhantes, um dos quais tinha uma variante patogênica no *Cyfp2*, são comparados. Um tipo distinto de distúrbio de movimento, caracterizado por movimentos pequenos, rápidos e repetitivos (movimentos coreiformes), é descrito como uma característica distintiva da DEE65.

Kim GH, Zhang Y, Kang HR, Lee SH, Shin J, Lee CH, Kang H, Ma R, Jin C, Kim Y, Kim SY, Kwon SK, Choi SY, Lee KJ, Han K.

Altered presynaptic function and number of mitochondria in the medial prefrontal cortex of adult *Cyfp2* heterozygous mice.

*Mol Brain.* 2020 Sep 11;13(1):123.

PMID: 32917241

Os papéis propostos para *Cyfp2* até agora incluem a associação com a proteína controladora de RNA FMRP e a participação no WRC de remodelagem do citoesqueleto de actina. Este artigo propõe outro papel, regulando a localização das mitocôndrias no neurônio. As mitocôndrias são essenciais para muitas funções neuronais e precisam estar presentes em locais específicos na célula para realizar essas tarefas. Camundongos sem uma cópia de *Cyfp2* têm menos mitocôndrias nas extremidades dos neurônios, e *Cyfp2* foi encontrada como um componente das próprias mitocôndrias.





2020

Lee Y, Zhang Y, Kang H, Bang G, Kim Y, Kang HR, Ma R, Jin C, Kim JY, Han K.

Epilepsy- and intellectual disability-associated CYFIP2 interacts with both actin regulators and RNA-binding proteins in the neonatal mouse forebrain.

Biochem Biophys Res Commun. 2020 Aug 13;529(1):1-6. PMID: 32560809.

Até este relatório, a explicação da causa da DEE65 havia se concentrado no papel de Cyfip2 no WRC. No entanto, Cyfip2 foi identificada pela primeira vez como parceira da proteína controladora de RNA FMRP. Neste artigo, os autores examinaram a quais proteínas a Cyfip2 se liga dentro das células. Embora tenham encontrado outros membros do WRC, também encontraram outras proteínas de ligação ao RNA. Em seguida, testaram o efeito da expressão de Cyfip2 na formação de estruturas de RNA/proteína chamadas grânulos de estresse. Enquanto encontraram Cyfip2 tipo selvagem como um componente dos grânulos de estresse, as variantes patogênicas R87C, R87P e R87L não apenas não se associam aos grânulos de estresse, como sua presença impede a formação dos grânulos de estresse. Isso pode explicar como as variantes R87 levam a uma doença mais grave do que as variantes encontradas em outras partes do Cyfip2.

2020

Ghosh A, Mizuno K, Tiwari SS, Proitsi P, Gomez Perez-Nievas B, Glennon E, Martinez-Nunez RT, Giese KP. Alzheimer's disease-related dysregulation of mRNA translation causes key pathological features with ageing. *Transl Psychiatry*. 2020 Jun 16;10(1):192. PMID: 32546772

Este artigo propõe um potencial efeito deletério da eliminação de uma cópia de *Cyfp2*, uma vez que os camundongos com uma cópia restante desenvolveram patologia semelhante à Doença de Alzheimer à medida que envelheciam. No entanto, é importante notar o detalhe de que a linhagem de camundongos que usaram para criar os camundongos foi a C57BL/6N, que possui uma variante no *Cyfp2* causando menor estabilidade da proteína. Esses resultados não devem ser comparados diretamente com a caracterização anterior de nocautes heterozigotos de *Cyfp2*, que usaram a linhagem C57BL/6J.

Schaks M, Reinke M, Witke W, Rottner K. Molecular Dissection of Neurodevelopmental Disorder-Causing Mutations in CYFIP2. *Cells*. 2020 May 29;9(6):1355 PMID: 32486060

Embora os pesquisadores já tivessem suposto que as variantes causadoras de DEE65 no *Cyfp2* estavam ligando o WAVE de forma inadequada, isso nunca havia sido testado diretamente. Neste artigo, os autores usaram um ensaio celular chamado formação de lamelipódios para mostrar que, enquanto o *Cyfp2* tipo selvagem não conseguia contornar o "interruptor ligado" para a polimerização de actina, as variantes causadoras de DEE65 conseguiam. O mutante truncado descrito no estudo de história natural não teve a mesma atividade, sugerindo que ele atua para causar deficiência intelectual de uma maneira diferente. Outra realização importante neste artigo é o desenvolvimento de um ensaio baseado em células para identificar potenciais terapêuticas. Embora a medição de lamelipódios em células não seja fácil, ela pode formar a base para uma triagem de alto rendimento com algumas modificações.



2021

Begemann A, Sticht H, Begtrup A, Vitobello A, Faivre L, Banka S, Alhaddad B, Asadollahi R, Becker J, Bierhals T, Brown KE, Bruel AL, Brunet T, Carneiro M, Cremer K, Day R, Denommé-Pichon AS, Dymont DA, Engels H, Fisher R, Goh ES, Hajianpour MJ, Haertel LRM, Hauer N, Hempel M, Herget T, Johannsen J, Kraus C, Le Guyader G, Lesca G, Mau-Them FT, McDermott JH, McWalter K, Meyer P, Öunap K, Popp B, Reimand T, Riedhammer KM, Russo M, Sadleir LG, Saenz M, Schiff M, Schuler E, Syrbe S, Van der Ven AT, Verloes A, Willems M, Zweier C, Steindl K, Zweier M, Rauch A.

New insights into the clinical and molecular spectrum of the novel CYFIP2-related neurodevelopmental disorder and impairment of the WRC-mediated actin dynamics. *Genet Med.* 2021 Mar;23(3):543-554.

PMID: 33149277

Demonstrando o poder do engajamento de pacientes/cuidadores no processo científico, este estudo abrangente de história natural representa um acompanhamento significativo do relatório de 2018, com mais 16 pacientes expressando variantes missense e 3 com suspeita de perda de função. 11 novas variantes foram descritas, bem como mais três pacientes Arg87Cys. Todos os pacientes apresentaram atraso no desenvolvimento, metade com crises. Os três pacientes com variantes de perda de função tiveram uma apresentação menos grave e é possível que as variantes de Cyfip2 não tenham causado seus sintomas. Os fibroblastos dos pacientes foram cultivados e o citoesqueleto de actina das células foi examinado. As células dos pacientes exibiram uma presença reduzida de uma estrutura chamada rufos dorsais.

2022

Biembengut ÍV, Shigunov P, Frota NF, Lourenzoni MR, de Souza TACB.

Molecular Dynamics of CYFIP2 Protein and Its R87C Variant Related to Early Infantile Epileptic Encephalopathy.

Int J Mol Sci. 2022 Aug 5;23(15):8708.

PMID: 35955843

Um estudo de cristalografia de raios-X estabeleceu a estrutura do WRC que incluía Cyfip1. A similaridade entre Cyfip1 e Cyfip2 é suficiente para que esses autores criem um modelo computacional simulado do WRC contendo variantes de Cyfip2 tipo selvagem e causadoras de DEE65. De acordo com essas simulações, substituir a Arginina 87 por cisteína resulta em uma desestabilização de uma subestrutura importante do Cyfip2.

Chaya T, Ishikane H, Varner LR, Sugita Y, Maeda Y, Tsutsumi R, Motooka D, Okuzaki D, Furukawa T.

Deficiency of the neurodevelopmental disorder-associated gene Cyfip2 alters the retinal ganglion cell properties and visual acuity.

Hum Mol Genet. 2022 Feb 21;31(4):535-547.

PMID: 34508581

Estudos anteriores de história natural mostraram que mais da metade dos pacientes com DEE65 apresentam problemas visuais. Usando uma linhagem de camundongos que não consegue expressar Cyfip2 na retina (camundongos nocaute condicionais), esses autores mostram que, embora as retinas pareçam normais e respondam da mesma forma à luz, quer expressem Cyfip2 ou não, os camundongos sem Cyfip2 em suas retinas têm algumas alterações na expressão gênica na retina e têm algumas diferenças em sua capacidade de rastrear movimento com os olhos.



2022

Panthi S, szyszka P, beck CW

expression of mRNA encoding two gain-of-function cyfip2 variants associated with Dee65 results in spontaneous seizures in xenopus laevis tadpoles

biorxiv preprint, 2022

<https://www.biorxiv.org/content/10.1101/2022.12.07.519540v1.full.pdf>

Este relatório descreve um modelo vertebrado potencialmente valioso de DEE65. Rãs-de-unhas-africanas (*Xenopus laevis*) são uma importante ferramenta de pesquisa. Esses pesquisadores injetaram em embriões de rã RNA mensageiro codificando Cyfip2 tipo selvagem ou duas variantes patogênicas diferentes. Os girinos eclodidos de ovos que receberam a variante patogênica exibiram atividade de crise espontânea.

Limaye AJ, Bendzunas GN, Whittaker MK, LeClair TJ, Helton LG, Kennedy EJ.

In Silico Optimized Stapled Peptides Targeting WASF3 in Breast Cancer.

ACS Med Chem Lett. 2022 Mar 8;13(4):570-576.

PMID: 35450347

Cyfip2 foi identificado pela primeira vez como uma proteína associada à progressão do câncer. Esses pesquisadores desenvolveram um fármaco que se liga ao Cyfip2 e interrompe sua função no WRC. Essa abordagem poderia ter benefício terapêutico em pacientes com DEE65.

2023

Salokivi T, Parkkola R, Rajendran Y, Bharadwaj T, Acharya A, Leal SM, Järvelä I, Arvio M, Schrauwen I.

A novel variant in CYFIP2 in a girl with severe disabilities and bilateral perisylvian polymicrogyria.

Am J Med Genet A. 2024 Apr;194(4):e63478.

PMID: 37975178

Este relatório descreve uma menina com uma nova variante patogênica em Cyfip2, Valina 551 Leucina, que causa um conjunto distinto, mas sobreposto, de sintomas como as variantes de DEE65 descritas até o momento.

Silva ILZ, Gomes-Júnior R, da Silva EB, Vaz IM, Jamur VR, de Freitas Souza BS, Shigunov P.

Generation of an induced pluripotent stem cell line from a patient with epileptic encephalopathy caused by the CYFIP2 R87C variant.

Hum Cell. 2023 Nov;36(6):2237-2246

PMID: 37646972.

Modelos baseados em células são uma ferramenta importante no estudo de qualquer doença, mas para doenças raras eles são particularmente importantes. Neste relatório, células foram coletadas de uma amostra de urina de um paciente e reprogramadas em células-tronco pluripotentes induzidas (iPSCs). Essas células podem então ser usadas para examinar o efeito desta variante patogênica específica (R87C) na função de tipos de células relevantes, como neurônios.

2023

Ma R, Zhang Y, Li H, Kang HR, Kim Y, Han K.  
Cell-autonomous reduction of CYFIP2 is insufficient to induce Alzheimer's disease-like pathologies in the hippocampal CA1 pyramidal neurons of aged mice. *Anim Cells Syst* (Seoul). 2023 Mar 24;27(1):93-101. PMID: 36999135

Camundongos sem uma cópia de Cyfip2 desde a concepção desenvolvem características semelhantes à Doença de Alzheimer à medida que envelhecem. Este relatório mostra que se o Cyfip2 for completamente removido após o nascimento dos camundongos, não resultam tais patologias da Doença de Alzheimer. Este estudo sugere que o Cyfip2 desempenha um papel importante durante o desenvolvimento pré-natal, mas possivelmente um papel diferente após o nascimento.

Da Silva Cardoso J, Gomes R, Abreu M, Parente Freixo J, Falcão Reis C, Garrido C.  
Clinical Role of Codon 87 of the CYFIP2 Gene in Early Infantile Epileptic Encephalopathy: A Clinical Case Description. *Cureus*. 2023 Feb 22;15(2):e35323 PMID: 36968925

Este estudo de caso revela uma nova causa molecular de DEE65, uma deleção de três aminoácidos, incluindo R87. A apresentação da doença é semelhante à de pacientes que abrigam uma variante missense, como Arg87Cys.

2023

Kang M, Zhang Y, Kang HR, Kim S, Ma R, Yi Y, Lee S, Kim Y, Li H, Jin C, Lee D, Kim E, Han K.  
CYFIP2 p.Arg87Cys Causes Neurological Defects and Degradation of CYFIP2.  
Ann Neurol. 2023 Jan;93(1):155-163  
PMID: 36251395.

## Ferramenta de Pesquisa Importante:



O desenvolvimento de tratamentos para doenças depende de modelos de pesquisa, idealmente modelos animais vivos, e como nossa compreensão da genética de camundongos é muito avançada em comparação com outros mamíferos, os cientistas tendem a gerar modelos de camundongos primeiro.

Estes autores usam uma ferramenta de edição genética para alterar uma cópia do gene *Cyfp2* de um camundongo (eles usaram a linhagem C57BL/6N) para a variante Arg87Cys. Os camundongos cresceram até a idade adulta, mas com peso corporal e força reduzidos. Eles mostraram sinais de problemas neurológicos e exibiram mais do que o nível normal de atividade. Os camundongos também mostraram comportamentos que indicam uma síndrome semelhante ao autismo. Logo após o nascimento, os camundongos exibiram espasmos espontâneos semelhantes à epilepsia, mas esses espasmos desapareceram à medida que os camundongos envelheciam. Os pesquisadores induziram crises injetando um medicamento chamado PTZ, e os camundongos Arg87Cys exibiram uma maior tendência a responder.

Algumas mudanças na estrutura do cérebro nos camundongos Arg87Cys sugeriram uma diminuição na organização das partes do cérebro e um aumento na inflamação que progrediu com a idade. O nível do próprio *Cyfp2* estava diminuído, confirmando um relatório anterior de que as proteínas variantes são menos estáveis.

No geral, este modelo animal exibe excelente correlação com a doença humana e seria uma ferramenta de pesquisa valiosa para a criação de novas terapêuticas. A linhagem de camundongos usada tem uma forma menos estável de *Cyfp2* (Ser968Phe), então seria importante repetir este estudo usando a linhagem C57BL/6J com a forma mais estável da proteína.



2023

Poke G, Stanley J, Scheffer IE, Sadleir LG.  
Epidemiology of Developmental and Epileptic  
Encephalopathy and of Intellectual Disability and  
Epilepsy in Children.  
Neurology. 2023 Mar 28;100(13):e1363-e1375  
PMID: 36581463

Embora seja difícil estabelecer a prevalência de uma  
doença rara, estes autores tentam calcular a  
frequência de DEE em uma população escocesa.

2024

Deslauriers JC, Ghotkar RP, Russ LA, Jarman JA, Martin  
RM, Tippet RG, Sumathipala SH, Burton DF, Cole DC,  
Marsden KC.

Cyfp2 controls the acoustic startle threshold through  
FMRP, actin polymerization, and GABAB receptor function.  
bioRxiv [Preprint]. 2024 Feb 5:2023.12.22.573054.  
PMID: 38187577

Cyfp2 tem duas funções principais na biologia: participação  
no WRC para controlar a polimerização de actina e ligação à  
FMRP para suprimir a tradução de RNA. Até este ponto, a  
atividade no WRC de Cyfp2 explicava todos os efeitos  
conhecidos da mutação ou perda de Cyfp2. Neste relatório,  
que expande um estudo anterior sobre a resposta de susto  
em larvas de peixe-zebra, ambas as atividades biológicas  
se unem pela primeira vez. Mutantes de Cyfp2 que são  
incapazes de se ligar ao regulador do WRC Rac1 e mutantes  
que não conseguem se ligar à FMRP são ambos incapazes  
de restaurar a função normal em peixes sem Cyfp2. Uma  
função de Cyfp2 neste contexto é a ativação de um receptor  
de neurotransmissor chamado GABAB e, quando o GABAB é  
ativado por um medicamento chamado Baclofen, a resposta  
normal de susto é restaurada.

2024

Venturi Biembengut Í, de Castro Andreassa E,  
de Souza TACB.

Identification of CYFIP2 Arg87Cys Ligands via In  
Silico and In Vitro Approaches.

Biomedicines. 2024 Feb 21;12(3):479.

PMID: 38540093

## Desenvolvimento Terapêutico:



Até este ponto, toda a pesquisa sobre DEE65 visava entender a biologia por trás da doença. A presença de uma variante patogênica na proteína Cyfip2 cria uma versão de Cyfip2 que é menos estável e menos capaz de controlar a atividade da proteína WAVE, que ativa a polimerização de actina em neurônios onde não deveria ser polimerizada. Com esse conhecimento, os autores deste estudo procuraram compostos químicos que pudessem aderir à forma Arg87Cys de Cyfip2 e estabilizá-la, limitando, portanto, a função patogênica. Como a DEE65 é uma doença ultrarrara, é improvável que uma empresa farmacêutica gastasse bilhões de dólares e décadas para desenvolver um novo medicamento, então, neste caso, é melhor reposicionar um medicamento que já tenha sido aprovado para uso humano. Portanto, os autores usaram um conjunto de compostos já usados para tratar epilepsia como seu conjunto de triagem inicial, e expandiram para testar outros medicamentos que foram usados em humanos (embora não necessariamente aprovados).

Usando uma técnica chamada docking molecular, os autores encontraram uma lista de 11 compostos que seriam previstos para se ligar preferencialmente ao Cyfip2 Arg87Cys em relação à proteína tipo selvagem. Quando um composto se liga a uma proteína, ele pode alterar a estabilidade dessa proteína, o que pode ser medido aquecendo a amostra de proteína e vendo se ela se desnatura e se torna insolúvel. Usando uma cultura celular para produzir Cyfip2, os 8 compostos mais promissores mostraram estabilizar o Cyfip2 Arg87Cys, mostrando que eles podem se ligar seletivamente à forma patogênica.

Os próximos passos para testar esses compostos como tratamentos potenciais são cruciais. Os compostos devem ser confirmados quanto a ter um efeito estabilizador no Cyfip2 Arg87Cys, que essa estabilização tenha um efeito na função patogênica da proteína, e que afetar a função patogênica dessa maneira tenha um efeito positivo nos sintomas da doença em um modelo de doença, como o camundongo.

Como a primeira demonstração de um tratamento potencial para DEE65, este artigo representa uma transição da pesquisa sobre esta doença para uma nova fase.



2024

Xie S, Zuo K, De Rubeis S, Ruggerone P, Carloni P. Molecular basis of the CYFIP2 and NCKAP1 autism-linked variants in the WAVE regulatory complex. Protein Sci. 2025 Jan;34(1):e5238. PMID: 39660913

Usando um método computacional rigoroso, os autores examinam o efeito de cada variante causadora de DEE65 na estrutura de Cyfip2 e na interação com outros membros do WRC. Eles confirmam que todas as variantes que causam a doença também interrompem a função de Cyfip2 no controle da função do WAVE.

Hecker J, Conecker G, Chapman C, Hommer R, Ludwig NN, Sevinc G, Te S, Wojnaroski M, Downs J, Berg AT. Patient-advocate-led global coalition adapting fit-for-purpose outcomes measures to assure meaningful inclusion of DEEs in clinical trials. Ther Adv Rare Dis. 2024 Jun 22;18:26330040241249762 PMID: 38911512

Descreve o Inchstone Project e os resultados do trabalho no desenvolvimento de novas medidas de desfecho para DEEs.



2025

Kim HG, Berdasco C, Nairn AC, Kim Y.  
The WAVE complex in developmental and adulthood  
brain disorders.  
Exp Mol Med. 2025 Feb;57(1):13-29.  
PMID: 39774290

Este artigo de revisão descreve os paralelos entre variantes causadoras de doenças em WAVE1, NCKAP1, Cyfip2 e outros membros do WRC e vias relacionadas. Ele também fornece uma contextualização sobre as vias “a montante” que regulam o WRC, algumas das quais podem representar alvos terapêuticos promissores para DEE65.

Ma R, Kim US, Chung Y, Kang HR, Zhang Y, Han K.  
Recent advances in CYFIP2-associated  
neurodevelopmental disorders: From human genetics  
to molecular mechanisms and mouse models.  
Brain Dev. 2025 Feb;47(1):104302.  
PMID: 39603202.

Uma excelente revisão da literatura recente que mostra as diferenças entre o nocaute completo, o nocaute parcial e a substituição Arg87Cys de Cyfip2, e levanta a hipótese de que diferentes variantes patogênicas poderiam impactar funções distintas de Cyfip2 e sintomas da doença.



# Referências

Amato, M. E., Frías, M., Cerisola, A., Roldán, M., & Ortigoza-Escobar, J. D. (2025). Novel CYFIP2 Frameshift Variant Linked to Dyskinetic Crises: Functional Studies Show Impaired Cell Motility. *Clinical Genetics*, n/a(n/a). <https://doi.org/https://doi.org/10.1111/cge.14774>

Arisaka, A., Nakashima, M., Kumada, S., Inoue, K., Nishida, H., Mashimo, H., Kashii, H., Kato, M., Maruyama, K., Okumura, A., Saitsu, H., Matsumoto, N., & Fukuda, M. (2021). Association of early-onset epileptic encephalopathy with involuntary movements – Case series and literature review. *Epilepsy and Behavior Reports*, 15. <https://doi.org/10.1016/j.ebr.2020.100417>

Begemann, A., Sticht, H., Begtrup, A., Vitobello, A., Faivre, L., Banka, S., Alhaddad, B., Asadollahi, R., Becker, J., Bierhals, T., Brown, K. E., Bruel, A.-L., Brunet, T., Carneiro, M., Cremer, K., Day, R., Denommé-Pichon, A.-S., Dymont, D. A., Engels, H., ... Rauch, A. (2021). New insights into the clinical and molecular spectrum of the novel CYFIP2-related neurodevelopmental disorder and impairment of the WRC-mediated actin dynamics. *Genetics in Medicine*, 3(23), 543–554. <https://doi.org/10.1038/s41436>

Biembengut, Í. V., Shigunov, P., Frota, N. F., Lourenzoni, M. R., & de Souza, T. A. C. B. (2022). Molecular Dynamics of CYFIP2 Protein and Its R87C Variant Related to Early Infantile Epileptic Encephalopathy. *International Journal of Molecular Sciences*, 23(15). <https://doi.org/10.3390/ijms23158708>

Chan, R., Orevillo, C., O'Connell, G., McLin, D., Polega, S., Srinivas, N. R., & Kaye, R. (2025). Safety, Tolerability, Pharmacokinetics, Pharmacodynamics, and Food Effect of Bexicaserin in Healthy Participants: A First-in-Human Randomized, Double-Blind, Placebo-Controlled Single Ascending Dose Escalation Phase 1 Study. *Clinical Pharmacology in Drug Development*. <https://doi.org/10.1002/cpdd.1600>

Chen, Z., Borek, D., Padrick, S. B., Gomez, T. S., Metlagel, Z., Ismail, A. M., Umetani, J., Billadeau, D. D., Otwinowski, Z., & Rosen, M. K. (2010). Structure and control of the actin regulatory WAVE complex. *Nature*, 468(7323), 533–538. <https://doi.org/10.1038/nature09623>

Cioni, J. M., Wong, H. H. W., Bressan, D., Kodama, L., Harris, W. A., & Holt, C. E. (2018). Axon-Axon Interactions Regulate Topographic Optic Tract Sorting via CYFIP2-Dependent WAVE Complex Function. *Neuron*, 97(5), 1078–1093.e6. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2018.01.027>

Conroy, F., Miller, R., Alterman, J. F., Hassler, M. R., Echeverria, D., Godinho, B. M. D. C., Knox, E. G., Sapp, E., Sousa, J., Yamada, K., Mahmood, F., Boudi, A., Kegel-Gleason, K., DiFiglia, M., Aronin, N., Khvorova, A., & Pfister, E. L. (2022). Chemical engineering of therapeutic siRNAs for allele-specific gene silencing in Huntington's disease models. *Nature Communications*, 13(1). <https://doi.org/10.1038/s41467-022-33061-x>

Da Silva Cardoso, J., Gomes, R., Abreu, M., Parente Freixo, J., Falcão Reis, C., & Garrido, C. (2023). Clinical Role of Codon 87 of the CYFIP2 Gene in Early Infantile Epileptic Encephalopathy: A Clinical Case Description. *Cureus*. <https://doi.org/10.7759/cureus.35323>

de Góes, F. V., de Andrade Ramos, J. T. M., da Silva Fontana, R., de Carvalho Serão, C. L., Kok, F., & Gandelman Horovitz, D. D. (2022). Cannabidiol Successful Therapy for Developmental and Epileptic Encephalopathy Related to CYFIP2. *The Open Neurology Journal*, 16(1). <https://doi.org/10.2174/1874205x-v16-e2203290>

DeRubeis, S., Pasciuto, E., Li, K. W., Fernández, E., DiMarino, D., Buzzi, A., Ostroff, L. E., Klann, E., Zwartkruis, F. J. T., Komiyama, N. H., Grant, S. G. N., Poujol, C., Choquet, D., Achsel, T., Posthuma, D., Smit, A. B., & Bagni, C. (2013). CYFIP1 coordinates mRNA translation and cytoskeleton remodeling to ensure proper dendritic Spine formation. *Neuron*, 79(6), 1169–1182. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2013.06.039>

Downs, J., Haywood, S., Ludwig, N. N., Wojnaroski, M., Hommer, R., Muzyczka, K., Hecker, J. E., Conecker, G., Keeley, J., & Berg, A. T. (2025). Caregiver-reported meaningful change in functional domains for individuals with developmental and epileptic encephalopathy: A convergent mixed-methods design. *Developmental Medicine and Child Neurology*. <https://doi.org/10.1111/dmcn.16363>

Han, K., Chen, H., Gennarino, V. A., Richman, R., Lu, H. C., & Zoghbi, H. Y. (2014). Fragile X-like behaviors and abnormal cortical dendritic spines in Cytoplasmic FMR1-interacting protein 2-mutant mice. *Human Molecular Genetics*, 24(7), 1813–1823. <https://doi.org/10.1093/hmg/ddu595>

Hartmann, M. C., McCulley, W. D., Holbrook, S. E., Haney, M. M., Smith, C. G., Kumar, V., & Rosenwasser, A. M. (2023). Cyfip2 allelic variation in C57BL/6J and C57BL/6NJ mice alters free-choice ethanol drinking but not binge-like drinking or wheel-running activity. *Alcohol: Clinical and Experimental Research*, 47(8), 1518–1529. <https://doi.org/10.1111/acer.15137>

Hecker, J. E., Conecker, G., Chapman, C., Hommer, R., Ludwig, N. N., Sevinc, G., Te, S., Wojnarowski, M., Downs, J., & Berg, A. T. (2024). Patient-advocate-led global coalition adapting fit-for-purpose outcomes measures to assure meaningful inclusion of DEEs in clinical trials. In *Therapeutic Advances in Rare Disease* (Vol. 18). SAGE Publications Ltd. <https://doi.org/10.1177/26330040241249762>

Kang, M., Zhang, Y., Kang, H. R., Kim, S., Ma, R., Yi, Y., Lee, S., Kim, Y., Li, H., Jin, C., Lee, D., Kim, E., & Han, K. (2023). CYFIP2 p.Arg87Cys Causes Neurological Defects and Degradation of CYFIP2. *Annals of Neurology*, 93(1), 155–163. <https://doi.org/https://doi.org/10.1002/ana.26535>

Kim, G. H., Zhang, Y., Kang, H. R., Lee, S. H., Shin, J., Lee, C. H., Kang, H., Ma, R., Jin, C., Kim, Y., Kim, S. Y., Kwon, S. K., Choi, S. Y., Lee, K. J., & Han, K. (2020). Altered presynaptic function and number of mitochondria in the medial prefrontal cortex of adult Cyfip2 heterozygous mice. *Molecular Brain*, 13(1). <https://doi.org/10.1186/s13041-020-00668-4>

Kim, Y., Ma, R., Zhang, Y., Kang, H. R., Kim, U. S., & Han, K. (2024). Cell-autonomous reduction of CYFIP2 changes dendrite length, dendritic protrusion morphology, and inhibitory synapse density in the hippocampal CA1 pyramidal neurons of 17-month-old mice. *Animal Cells and Systems*, 28(1), 294–302. <https://doi.org/10.1080/19768354.2024.2360740>

Ko, A., Jung, D. E., Kim, S. H., Kang, H. C., Lee, J. S., Lee, S. T., Choi, J. R., & Kim, H. D. (2018). The efficacy of ketogenic diet for specific genetic mutation in developmental and epileptic encephalopathy. *Frontiers in Neurology*, 9(JUL). <https://doi.org/10.3389/fneur.2018.00530>

Kumar, V., Kim, K., Joseph, C., Kourrich, S., Yoo, S. H., Huang, H. C., Vitaterna, M. H., De Villena, F. P. M., Churchill, G., Bonci, A., & Takahashi, J. S. (2013). C57BL/6N mutation in cytoplasmic FMRP interacting protein 2 regulates cocaine response. *Science*, 342(6165), 1508–1512.

<https://doi.org/10.1126/science.1245503>

Lattanzi, S., Trinkaus, E., Striano, P., Rocchi, C., Salvemini, S., Silvestrini, M., & Brigo, F. (2021). Highly Purified Cannabidiol for Epilepsy Treatment: A Systematic Review of Epileptic Conditions Beyond Dravet Syndrome and Lennox–Gastaut Syndrome. In *CNS Drugs* (Vol. 35, Issue 3, pp. 265–281). Adis. <https://doi.org/10.1007/s40263-021-00807-y>

Limaye, A. J., Bendzunas, G. N., Whittaker, M. K., Leclair, T. J., Helton, L. G., & Kennedy, E. J. (2022). In Silico Optimized Stapled Peptides Targeting WASF3 in Breast Cancer. *ACS Medicinal Chemistry Letters*, 13(4), 570–576. <https://doi.org/10.1021/acsmchemlett.1c00627>

Marsden, K. C., Jain, R. A., Wolman, M. A., Echeverry, F. A., Nelson, J. C., Hayer, K. E., Miltenberg, B., Pereda, A. E., & Granato, M. (2018). A Cyfip2-Dependent Excitatory Interneuron Pathway Establishes the Innate Startle Threshold. *Cell Reports*, 23(3), 878–887. <https://doi.org/10.1016/j.celrep.2018.03.095>

Nakashima, M., Kato, M., Aoto, K., Shiina, M., Belal, H., Mukaida, S., Kumada, S., Sato, A., Zerem, A., Lerman-Sagie, T., Lev, D., Leong, H. Y., Tsurusaki, Y., Mizuguchi, T., Miyatake, S., Miyake, N., Ogata, K., Saitsu, H., & Matsumoto, N. (2018). De novo hotspot variants in CYFIP2 cause early-onset epileptic encephalopathy. *Annals of Neurology*, 83(4), 794–806. <https://doi.org/10.1002/ana.25208>

Panthi, S., Szyszka, P., & Beck, C. W. (2022). Expression of mRNA encoding two gain-of-function cyfip2 variants associated with DEE65 results in spontaneous seizures in *Xenopus laevis* tadpoles. <https://doi.org/10.1101/2022.12.07.519540>

Peng, J., Wang, Y., He, F., Chen, C., Wu, L. W., Yang, L. F., Ma, Y. P., Zhang, W., Shi, Z. Q., Chen, C., Xia, K., Guo, H., Yin, F., & Pang, N. (2018). Novel West syndrome candidate genes in a Chinese cohort. *CNS Neuroscience and Therapeutics*, 24(12), 1196–1206. <https://doi.org/10.1111/cns.12860>



Pittman, A. J., Gaynes, J. A., & Chien, C. Bin. (2010). Nev (cyfip2) is required for retinal lamination and axon guidance in the zebrafish retinotectal system. *Developmental Biology*, 344(2), 784–794. <https://doi.org/10.1016/j.ydbio.2010.05.512>

Poke, G., Stanley, J., Scheffer, I. E., & Sadleir, L. G. (2023). Epidemiology of Developmental and Epileptic Encephalopathy and of Intellectual Disability and Epilepsy in Children. *Neurology*, 100(13), E1363–E1375. <https://doi.org/10.1212/WNL.00000000000206758>

Saller, E., Tom, E., Brunori, M., Le Otter, M., Estreicher, A., Mack, D. H., & Iggo, R. (1999). Increased apoptosis induction by 121F mutant p53. In *The EMBO Journal* (Vol. 18, Issue 16).

Salokivi, T., Parkkola, R., Rajendran, Y., Bharadwaj, T., Acharya, A., Leal, S. M., Järvelä, I., Arvio, M., & Schrauwen, I. (2024). A novel variant in CYFIP2 in a girl with severe disabilities and bilateral perisylvian polymicrogyria. *American Journal of Medical Genetics, Part A*, 194(4). <https://doi.org/10.1002/ajmg.a.63478>

Samanta, D., Bhatia, S., Hunter, S. E., Rao, C. K., Xiong, K., Karakas, C., Reeders, P. C., Erdemir, G., Sattar, S., Axeen, E., Sandoval Karamian, A. G., Fine, A. L., Keator, C. G., Nolan, D., & Schreiber, J. M. (2025). Current and Emerging Precision Therapies for Developmental and Epileptic Encephalopathies. In *Pediatric Neurology* (Vol. 168, pp. 67–81). Elsevier Inc. <https://doi.org/10.1016/j.pediatrneurol.2025.04.010>

Scheffer, I. E., French, J., Valente, K. D., Auvin, S., Cross, J. H., & Specchio, N. (2025). Operational definition of developmental and epileptic encephalopathies to underpin the design of therapeutic trials. *Epilepsia*, 66(4), 1014–1023. <https://doi.org/10.1111/epi.18265>

Schenck, A., Bardoni, B., Langmann, C., Harden, N., Mandel, J.-L., & Giangrande, A. (2003). CYFIP/Sra-1 Controls Neuronal Connectivity in *Drosophila* and Links the Rac1 GTPase Pathway to the Fragile X Protein the postsynaptic site of most excitatory synapses in mammalian brains (for review see Luo, 2002). Fragile X syndrome, the most frequent cause of hereditary mental retardation, is caused by the absence of the RNA binding protein FMRP (for review see Bardoni. In *Neuron* (Vol. 38).

Schenck, A., Bardoni, B., Moro, A., Bagni, C., & Mandel, J.-L. (2001). A highly conserved protein family interacting with the fragile X mental retardation protein (FMRP) and displaying selective interactions with FMRP-related proteins FXR1P and FXR2P. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA*, 15(98), 8844–8849. [www.pnas.org/cgi/doi/10.1073/pnas.151231598](http://www.pnas.org/cgi/doi/10.1073/pnas.151231598)

Sharma, S., & Tripathi, M. (2013). Ketogenic Diet in Epileptic Encephalopathies. *Epilepsy Research and Treatment*, 2013, 1–5. <https://doi.org/10.1155/2013/652052>

Soto-Insuga, V., Conejo Moreno, D., González-Alguacil, E., Aledo Serrano, A., Navarro Abia, V., Gretel Pinzón-Acevedo, A., Lamagrande Casanova, N., Duat Rodríguez, A., Cantarín Extremera, V., & García Peñas, J. J. (2025). Fenfluramine: an effective treatment for developmental epileptic encephalopathies beyond Dravet and Lennox–Gastaut Syndromes. *Journal of Neurology*, 272(6), 397. <https://doi.org/10.1007/s00415-025-13135-8>

Stone, A., Burré, J., Wayland, N., & Grinspan, Z. M. (2025). Phenylbutyrate for monogenetic epilepsy: Literature review. *Epilepsy Research*, 217, 107621. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.eplepsyres.2025.107621>

Symonds, J. D., Elliott, K. S., Shetty, J., Armstrong, M., Brunklaus, A., Cutcutache, I., Diver, L. A., Dorris, L., Gardiner, S., Jollands, A., Joss, S., Kirkpatrick, M., McLellan, A., MacLeod, S., O'Regan, M., Page, M., Pilley, E., Pilz, D. T., Stephen, E., ... Zuberi, S. M. (2021). Early childhood epilepsies: Epidemiology, classification, aetiology, and socio-economic determinants. *Brain*, 144(9), 2879–2891. <https://doi.org/10.1093/brain/awab162>

Tecott, L. H., Sun, L. M., Akana, S. F., Strack, A. M., Lowenstein, D. H., Dallman, M. F., & Julius, D. (1995). Eating disorder and epilepsy in mice lacking 5-HT<sub>2C</sub> serotonin receptors. *Nature*, 374(6522), 542–546. <https://doi.org/10.1038/374542a0>

Venturi Biembengut, Í., de Castro Andreassa, E., & de Souza, T. A. C. B. (2024). Identification of CYFIP2 Arg87Cys Ligands via In Silico and In Vitro Approaches. *Biomedicines*, 12(3). <https://doi.org/10.3390/biomedicines12030479>

Zhang, Y., Kang, H., Lee, Y., Kim, Y., Lee, B., Kim, J. Y., Jin, C., Kim, S., Kim, H., & Han, K. (2019). Smaller body size, early postnatal lethality, and cortical extracellular matrix-related gene expression changes of Cyfip2-null embryonic mice. *Frontiers in Molecular Neuroscience*, 11. <https://doi.org/10.3389/fnmol.2018.00482>

Zhang, Y., Kang Hyae, R., Lee, S. H., Kim, Y., Ma, R., Jin, C., Lim, J. E., Kim, S., Kang, Y., Kang, H., Kim, S. Y., Kwon, S. K., Choi, S. Y., & Han, K. (2020). Enhanced Prefrontal Neuronal Activity and Social Dominance Behavior in Postnatal Forebrain Excitatory Neuron-Specific Cyfip2 Knock-Out Mice. *Frontiers in Molecular Neuroscience*, 13. <https://doi.org/10.3389/fnmol.2020.574947>

Zhong, M., Liao, S., Li, T., Wu, P., Wang, Y., Wu, F., Li, X., Hong, S., Yan, L., & Jiang, L. (2019). Early diagnosis improving the outcome of an infant with epileptic encephalopathy with cytoplasmic FMRP interacting protein 2 mutation: Case report and literature review. *Medicine*, 98(44), e17749. <https://doi.org/10.1097/MD.00000000000017749>

Zweier, M., Begemann, A., McWalter, K., Cho, M. T., Abela, L., Banka, S., Behring, B., Berger, A., Brown, C. W., Carneiro, M., Chen, J., Cooper, G. M., Finnila, C. R., Guillen Sacoto, M. J., Henderson, A., Hüffmeier, U., Joset, P., Kerr, B., Lesca, G., ... Rauch, A. (2019). Spatially clustering de novo variants in CYFIP2, encoding the cytoplasmic FMRP interacting protein 2, cause intellectual disability and seizures. *European Journal of Human Genetics*, 27(5), 747–759. <https://doi.org/10.1038/s41431-018-0331-z>