

Alterações epigenéticas raras do espectro de Beckwith-Wiedemann

Rare epigenetic alterations of the spectrum Beckwith-Wiedemann

Karina Carraro **LOPES**¹, Henrique Lira **BORGES**¹, Felipe Bernardo Costa **RAMOS**¹, Liya Regina **MIKAMI**¹, Lilian Pereira **FERRARI**², Salmo **RASKIN**²

PALAVRAS-CHAVE: Síndrome de Beckwith-Wiedemann, Macroglossia, Impressão Genômica.

KEYWORDS: Beckwith-Wiedemann Syndrome, Macroglossia, Genomic Imprinting.

INTRODUÇÃO

A síndrome de Beckwith-Wiedemann (SBW) é condição genética rara, caracterizada pelo hipercrecimento congênito decorrente de alteração em 11p15.5. Foi primeiramente descrita por Beckwith em 1963, e em 1964, por Wiedemann, autores que originaram o nome da síndrome. A SBW possui transmissão hereditária em 10-15% dos casos, de padrão autossômico dominante e incidência de 1/10.340 nascidos vivos, com maior prevalência em pacientes nascidos por técnicas de reprodução assistida. A manifestação clínica clássica consiste em macroglossia, macrosomia, defeitos da parede abdominal e aumento da predisposição ao desenvolvimento de tumores embrionários.^{1,2,3} Contudo, devido à sua grande variabilidade fenotípica, em 2018, após consenso internacional ela foi renomeada para Espectro de Beckwith-Wiedemann (BWp), incluindo outros sinais clínicos sugestivos, como: hipoglicemia neonatal, polidrâmnio, onfalocele, hemihipertrofia, tumor de Wilms, nefroblastoma, hepatoblastoma, adrenal citomegalia, adenocarcinoma de pâncreas e displasia mesenquimatosa da placenta. Além disso, de acordo com a característica clínica apresentada, o BWp foi dividido em 3 grupos: BW clássico, hemihipertrofia isolada e BW atípico.³

O BWp é decorrente de alterações genéticas e/ou epigenéticas no cromossomo 11p15.5 por meio de imprinting genômico em 2 centros de imprinting (IC1 e IC2), que são regiões diferencialmente metiladas (DMR). A IC1 controla a expressão dos genes IGF2 (fator de crescimento insulín-like 2) e H19 com padrões de metilação no alelo paterno e o IC2 controla a expressão dos genes CDKN1C, KCNQ1 e KCNQ1OT1 com metilação no alelo materno. Aproximadamente 50% dos casos de BWp apresentam hipometilação de IC2 no alelo materno e 5-10% hipermetilação de IC1 no alelo paterno. Além disso, 20% dos casos possui dissomia uniparental em 11p15.5, 5% apresenta mutações heterozigotas no alelo CDKN1C materno e 3-6% dos casos são causados por

duplicações, deleções e translocações/inversões do cromossomo 11p15.¹

O diagnóstico é realizado por meio da análise clínica, sendo ela baseada na somatória de 4 pontos ou mais, na qual atribui 2 pontos para características clássicas e 1 para características sugestivas pertencentes ao BWp. Entre as características clássicas incluem-se a macroglossia (presente em 97% dos casos), onfalocele, hemihipertrofia, tumor de Wilms, hipoglicemia neonatal, polidrâmnio, adrenal citomegalia, adenocarcinoma de pâncreas e displasia mesenquimatosa da placenta. Pacientes que apresentam somatória maior ou igual a 2 pontos durante o diagnóstico clínico, é recomendado a realização de análise molecular confirmatória.^{2,3}

A técnica de análise molecular mais empregada na confirmação diagnóstica é por MLPA (Amplificação Multiplex de Sondas Dependente de Ligação), pois detecta simultaneamente as DMR e variações específicas do número de cópias (CNVs). Outra técnica indicada é a Reação em Cadeia da Polimerase (PCR), que devido à sua maior sensibilidade possibilita a identificação de casos de mosaïcismo celular. Contudo, aproximadamente 10-15% dos casos diagnosticados clinicamente não possuem alterações moleculares detectadas, apesar da evidência fenotípica de BWp.^{3,2}

Embora a maioria dos casos seja diagnosticada no período pós-natal, durante o acompanhamento pré-natal, o uso de exames de imagem de rotina podem mostrar sinais sugestivos de BWp, como: onfalocele, macroglossia, visceromegalia, polidrâmnio, placentomegalia e displasia mesenquimatosa da placenta. Além disso, sinais clínicos maternos de pré-eclâmpsia e hipertensão também são associados ao possível diagnóstico. Rastreamento pré-natal é principalmente indicado para famílias com casos de alteração genética conhecida ou que apresentem risco de recorrência para BWp. A análise molecular pode ser realizada por meio de biópsia de vilosidades coriônicas, líquido amniótico ou sangue fetal. A realização destes

testes é essencial para assegurar o bom prognóstico do feto, direcionar o planejamento do parto, monitorar permeabilidade de vias áreas e níveis de glicose pós-natal, assim como, identificar a necessidade de rastreamento pós-natal para neoplasias.^{4,3}

A conduta terapêutica para os casos de BWp depende do espectro de características clínicas presentes e necessita de avaliação individualizada. No manejo da macroglossia, por exemplo, recomenda-se correção cirúrgica em 40% dos casos. Além disso, é indicado que seja realizado acompanhamento por equipe multidisciplinar para avaliação de hipoglicemia neonatal persistente, presença de lesões cardiológicas, neurológicas ou renais. Ainda, que seja realizado rastreamento para detecção de neoplasias, por meio da análise dos níveis de alfa-fetoproteína e de ultrassonografia abdominal/renal, são o tumor de Wilms (52% dos casos) e hepatoblastoma (14% dos casos) os mais frequentes.³

O objetivo deste trabalho foi relatar 2 casos de pacientes com BWp portadores de alterações genéticas raras, correlacionando-se com os aspectos clínicos e moleculares da síndrome e fornecer contribuição científica da área, visto que trata-se de condição genética rara com pouca divulgação na literatura.

RELATO DOS CASOS

Este projeto foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa com Seres Humanos do Centro Universitário Autônomo do Brasil - UNIBRASIL, Curitiba, PR, Brasil, sob parecer nº 248.031.

CASO 1

Paciente 1, sexo masculino, filho de pais não consanguíneos, com histórico de icterícia neonatal, macrossomia ao nascimento (5,14 kg) e portador de diabetes melito tipo 2, foi encaminhado ao médico geneticista com sinais sugestivos de BWp por possuir macroglossia e excesso de peso desde o período neonatal. Foi relatado que não existiam casos semelhantes na família (Figura 1). Foram realizadas dosagens de Beta-HCG (Gonadotrofina Coriônica, Fração Beta) e Alfa-1 Fetoproteína por quimioluminescência que mostraram valores <1,20 mUI/mL e 2,34 ng/mL, respectivamente. Aos 2 anos de idade, foi submetido à análise molecular dos genes H19 nas regiões KvDMR1 e DMR, e análise de deleção e duplicação de 11p15 por MLPA. Os resultados foram negativos para deleção ou duplicação no cromossomo 11p15 e não houve indicação de alteração na intensidade do sinal na região KvDMR1. No entanto, foi detectado aumento da intensidade do sinal na região H19-DMR, correspondendo à hipermetilação.

CASO 2

Paciente 2, do sexo feminino, filha de pais não consanguíneos, sem história familiar de BWp (Figura 2), com peso normal ao nascimento (3.20 kg), apresentou - assim como o paciente 1 - macroglossia, ganho de peso pós-natal excessivo e hipotonia. Aos 2 meses de idade, foi submetida à análise molecular dos genes da região

H19 nas regiões KvDMR1 e DMR, e análise de deleção e duplicação do cromossomo 11p15 por MLPA, sendo detectada também a hipermetilação em H19-DMR na região 11p15 com baixo grau de mosaicism; além disso, não foram detectadas deleções ou duplicações dessa região.

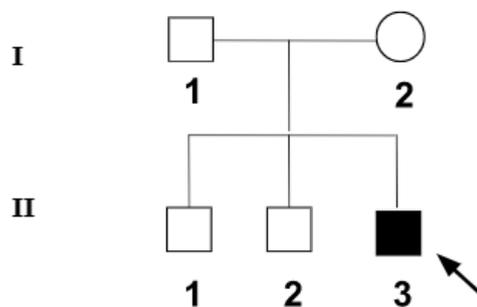


FIGURA 1 - Hereditograma Caso 1

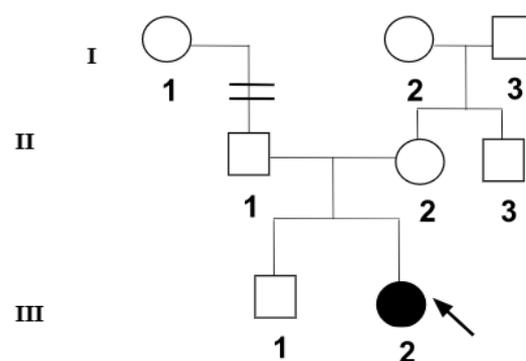


FIGURA 2 - Hereditograma Caso 2

DISCUSSÃO

Ambos pacientes apresentaram alterações epigenéticas no centro de imprinting 1 (IC1) ou também chamado de Região Diferencialmente Metilada H19 (DMRH19) da região cromossômica 11p15.5. Esta é alteração epigenética rara que ocorre em apenas cerca de 5-10% dos casos de BWp. É caracterizada pela adição do radical metil ao alelo materno, que, em condições normais, em busca de impedir essa reação, é protegido pela proteína dedo de zinco CTCF. Dessa forma, resulta-se no fenômeno da hipermetilação, tendo em vista a metilação bialélica materna e paterna, a qual culmina na supressão de H19 e consequente aumento da expressão do fator de crescimento fetal IGF2.^{3,5}

A hipermetilação em IC1, apresentada por ambos os pacientes, também foi encontrada em outros estudos, sendo relatada como incomuns, confirmando ser alteração epigenética rara de BWp. Lin et al.⁶ analisaram 47 casos de BWp e apenas um paciente (2%) possuía hipermetilação em IC1. Frequência semelhante foi encontrada por Tüysüz et al.¹ que ao analisarem 55 casos de BWp na Turquia, apenas 9% dos casos (5/55) apresentavam o mesmo padrão de hipermetilação encontrado nos pacientes do presente estudo. Na França, Le Vaillant et al.⁷ analisaram 14 casos de BWp, dos quais apenas 2 possuíam hipermetilação em IC1. Outro estudo,

publicado por Mussa et al.⁸ na Itália, analisou 318 casos diagnosticados com BWp e encontrou 10% (31/318) de casos de hipermetilação de IC1.

A heterogeneidade fenotípica dos casos está relacionada aos mecanismos moleculares predisponentes do espectro de BW, sendo que Mussa et al.⁸ relacionaram os achados clínicos com a alteração molecular predisponente em seu estudo, no qual a macroglossia esteve associada à maioria dos casos (90%) de hipermetilação de IC1, confirmando os achados deste estudo. Os padrões de hipermetilação apresentaram divergência entre os padrões moleculares de BWp, nos casos de hipermetilação de IC1 e a macrossomia foi o achado clínico de maior constância e prevalência, característica apresentada pelo paciente 1. Porém, o hipermetilamento pós-natal esteve mais presente nos casos de hipometilação de IC2, divergindo do achado clínico apresentado pelo paciente 2. Contudo, ressalta-se que este paciente apresentou baixo grau de mosaicism na alteração genética, o que pode explicar um fenótipo clínico moderado para BWp, visto que o crescimento tecidual é afetado em diferentes proporções.³

As 2 crianças apresentavam macroglossia e excesso de peso desde o período neonatal; essas características somam 3 pontos dos critérios necessários para indicação a partir de teste genético para o Espectro de BW. A macroglossia, que é característica clínica clássica, atribuindo 2 pontos no sistema de diagnóstico clínico da síndrome, está presente em 80-99% dos casos. Já o excesso de peso ao nascer é característica secundária, atribuindo 1 ponto no diagnóstico clínico, mas que também apresenta prevalência expressiva em neonatos com a síndrome, de aproximadamente 75%, esse dado é evidenciado em coorte realizada na china com 26.082 neonatos, dos quais 16 possuíam BWp.^{3,9,10}

O heredograma das famílias dos 2 pacientes se encaixa na grande taxa da afirmação da ocorrência da doença de forma esporádica, que representa 85% dos casos, enquanto 15% exibem herança familiar. Entretanto, aproximadamente 20% dos pacientes portadores de hipermetilação em IC1 podem apresentar pequenas variações do número de cópias (CNVs) do conteúdo genômico, fator associado ao maior risco de recorrência da alteração molecular associada ao BWp, aumentando o risco para 50% se houver herança do alelo materno.^{3,11}

Este estudo evidencia a importância de que exames moleculares para o diagnóstico de BWp sejam realizados para a análise completa da região 11p15.5 e não apenas para as alterações genéticas mais frequentes, pois eventos

epigenéticos raros de hipermetilação podem ocorrer em alguns casos. O diagnóstico genético exato e a consequente compreensão da doença permitem oferecer ao paciente e seus familiares informação prognóstica mais precisa e definir programação de monitoramento periódico que permita ao médico se antecipar às complicações mais frequentes do distúrbio, melhorando a qualidade de vida e sobrevivência do paciente.

Trabalho realizado na

¹Faculdade Evangélica Mackenzie do Paraná, Curitiba, PR, Brasil;

²Genetika, Centro de Aconselhamento e Laboratório de Genética, Curitiba, PR, Brasil.

Conflito de interesses: Nenhum

Financeiro: Nenhum

Correspondência

Karina Carraro Lopes

Email: carraro.ka@gmail.com

Contribuição dos autores

Conceituação: Liya Regina Mikami

Curadoria de Dados: Lillian Pereira Ferrari e Salmo Raskin

Investigação: Henrique Lira Borges

Metodologia: Felipe Bernardo Costa Ramos

Redação (esboço original): Karina Carraro Lopes

Redação (revisão e edição): Liya Regina Mikami

REFERÊNCIAS

1. Tüysüz B, Güneş N, Geyik F, Yeşil G, et al. Investigation of (epi)genotype causes and follow-up manifestations in the patients with classical and atypical phenotype of Beckwith-Wiedemann spec-trum. *Am J Med Genet A*. 2021; 185(6):1721-1731.
2. Cammarata-Scalisi F, Avendaño A, Stock F, et al. Beckwith-Wiedemann syndrome: clinical and etiopathogenic aspects of a model genomic imprinting entity. *Arch Argent Pediatr*. 2018; 116(5):368-373.
3. Brioude F, Kalish JM, Mussa A, et al. Expert consensus document: Clinical and molecular diagnosis, screening and management of Beckwith-Wiedemann syndrome: an international consensus state-ment. *Nat Rev Endocrinol*. 2018; 14(4):229-249.
4. Baker SW, Ryan E, Kalish JM, et al. Prenatal molecular testing and diagnosis of Beckwith-Wiedemann syndrome. *Prenat Diagn*. 2021; 41(7):817-822.
5. Eggermann T, Maher ER, Kratz CP, Prawitt D. Molecular Basis of Beckwith-Wiedemann Syndrome Spectrum with Associated Tumors and Consequences for Clinical Practice. *Cancers*. 2022; 14:3083.
6. Lin HY, Chuang CK, Tu RY, et al. Epigenotype, genotype, and phenotype analysis of patients in Tai-wan with Beckwith-Wiedemann syndrome. *Mol Genet Metab*. 2016; 119(1-2):8-13.
7. Le Vaillant C, Beneteau C, Chan-Leconte N, David A, Riteau AS. Le syndrome de Beckwith-Wiedemann : que faut-il rechercher en anténatal? À propos d'une série de 14 cas. *Gynecol Obstet Fertil*. 2015; 43(11):705-711.
8. Mussa A, Russo S, Larizza L, Riccio A, Ferrero GB. (Epi)genotype-phenotype correlations in Beck-with-Wiedemann syndrome: a paradigm for genomic medicine. *Clin Genet*. 2016; 89(4):403-415.
9. Ainuz BY, Geisler EL, Hallac RR, et al. Anterior "W" Tongue Reduction for Macroglossia in Beckwith-Wiedemann Syndrome. *Cleft Palate Craniofac J*. 2022; 59(9):1145-1154.
10. Wang H, Cao Y, Chen C, et al. Análise clínica de 16 casos de síndrome neonatal de Beckwith-Wiedemann [J]. *Chinese Journal of Neonatology*, 2022, 37(2): 104-108.