



RELATO DE CASO

Síndrome de Prader-Willi em lactentes hipotônicos

Hypotonic infants and the Prader-Willi Syndrome

Cintia Fridman¹, Fernando Kok², Célia P. Koiffmann³

Resumo

Objetivos: Descrever 6 pacientes com menos de 3 anos de idade que foram diagnosticados como afetados pela síndrome de Prader-Willi (PWS) devido a hipotonia, dificuldade de sucção, anomalias faciais e pequenas alterações de extremidades. A PWS é uma doença neurocomportamental caracterizada por duas fases distintas: na primeira, o recém-nascido apresenta hipotonia, dificuldade na alimentação com pouca ou nenhuma sucção, hipogonadismo, características faciais peculiares como olhos amendoados, diâmetro bifrontal diminuído, cantos da boca para baixo e atraso do desenvolvimento neuropsicomotor. A hipotonia não é progressiva e tende a melhorar entre 8 e 11 meses de idade. A seguir, tem início a segunda fase na qual hiperfagia, obesidade e outras características estão presentes. Infelizmente, a maioria dos pacientes com PWS é diagnosticada somente após o início da obesidade.

Métodos: Foram realizadas análises de padrão de metilação e microsatélites e estudos cariotípicos através de técnicas tradicionais e de hibridação *in situ*.

Resultados: Foram estudados 6 pacientes com suspeita clínica de PWS, 4 apresentaram deleção do segmento cromossômico 15q11q13 e 2 dissomia uniparental materna.

Conclusão: O diagnóstico de PWS é, em geral, estabelecido após o início da obesidade. Assim, sugerimos que o teste genético seja requisitado em neonatos e lactentes com hipotonia e dificuldade de sucção e algumas das características fenotípicas da síndrome (mãos e pés pequenos, sinais de hipogonadismo, hipopigmentação, olhos amendoados e fronte estreita). Isso poderá contribuir para o diagnóstico precoce, diminuindo a utilização de recursos diagnósticos mais invasivos e às vezes de difícil interpretação, como a eletroneuromiografia e a biópsia muscular.

J. pediatr. (Rio J.). 2000; 76(3): 246-250: síndrome de Prader-Willi, hipotonia, imprinting genômico, deleção 15q11q13, dissomia uniparental materna, hipogonadismo.

Abstract

Objective: To describe 6 patients with less than 3 years of age that were diagnosed with Prader-Willi syndrome (PWS) due to hypotonia, poor sucking, slight facial anomalies and minor abnormalities of hands and feet. PWS is a neurobehavioural disorder characterized by two distinct phases; in the first, the neonate presents variable degree of hypotonia, feeding problems with none or poor sucking; hypogonadism, characteristic facial features with almond shaped eyes, narrow bifrontal diameter and down-turned corners of the mouth. Neuropsychomotor development is delayed. Hypotonia is non progressive and tends to improve between 8 and 11 months of age. The second phase then starts and is characterized by increasing hyperphagia and obesity, among other features. Unfortunately, most PWS patients are diagnosed only after obesity is installed.

Methods: Methylation, microsatellites analysis and karyotypic studies by traditional and *in situ* hybridization techniques were done.

Results: A deletion of chromosome segment 15q11q13 was disclosed in 4 and maternal disomy in two patients.

Conclusion: The diagnosis of PWS is generally established after the onset of obesity. So, we suggest that the genetic analysis must be carried out in children with severe hypotonia of unknown cause, poor sucking and some facial features of PWS (small hands and feet, hypogonadism, hypopigmentation, almond eyes and narrow bifrontal diameter). This can allow the early diagnosis and avoid invasive exams necessary for neuromuscular disorder diagnosis like muscle biopsy and electroneuromiography, which frequently are associated with inconclusive results.

J. pediatr. (Rio J.). 2000; 76(3): 246-250: Prader-Willi syndrome, hypotonia, genomic imprinting, deletion 15q11q13, maternal UPD15, hypogonadism.

1. Mestre em Biologia/Genética. Unidade de Aconselhamento Genético (UAG), Depto. de Biologia - IBUSP, São Paulo.

2. Médico Assistente, Doutor. Serviço de Neurologia Infantil do Hospital das Clínicas - FMUSP, São Paulo.

3. Professor Doutor Chefe da Unidade de Aconselhamento Genético (UAG), Depto. de Biologia - IBUSP, São Paulo.

Projeto financiado pela FAPESP (C.F.) e PRONEX (C.P.K.).

Introdução

A síndrome de Prader-Willi (PWS) é uma doença neurocomportamental que foi descrita em 1956¹ e hoje é uma das mais frequentes síndromes com microdeleções cromossômicas, além de ser a forma mais comum de obesidade com causa genética². Além disso, as síndromes de Prader-

Willi e Angelman (AS) (atraso de desenvolvimento neuropsicomotor, retardamento mental, ausência de fala, convulsões e aparência feliz) foram as primeiras doenças humanas reconhecidas como determinadas pelo mecanismo de *imprinting* genômico³. A incidência da PWS é de aproximadamente 1/10.000 - 1/30.000 nascimentos^{4,5} e é geralmente esporádica, tendo sido relatados poucos casos familiares⁶.

Embora muitas das manifestações clínicas na PWS resultem de deficiências hipotalâmicas, nenhum defeito estrutural do hipotálamo foi encontrado em exames pós-morte. Portanto, a deficiência parece ser funcional, mas a sua natureza ainda permanece desconhecida². Nos últimos anos as bases genéticas da PWS têm sido intensamente investigadas, sendo o diagnóstico clínico complexo, uma vez que algumas características mudam com a idade e podem estar presentes em outras síndromes.

A síndrome pode ser definida por apresentar duas fases de evolução distintas^{4,7,8}. A primeira caracteriza-se por diferentes graus de hipotonia durante o período neonatal e a primeira infância (94%). A hipotonia não é progressiva e começa a melhorar, em média, entre 8 e 11 meses. Caracteriza-se também por hipotermia ou hipertermia sem causa aparente, hipogenitalismo (95%), dificuldade de sucção (93%), mãos e pés pequenos e pequenas anomalias faciais. Observa-se também que essas crianças raramente vomitam.

Na época em que a hipotonia melhora, e a criança começa a ficar mais alerta, ocorre aumento de apetite e ganho de peso. O início da obesidade pode ocorrer entre 1 e 6 anos de idade, com uma média de 2 anos^{8,9}, podendo ser um marco para o reconhecimento do início da segunda fase. Esta é caracterizada por atraso do desenvolvimento neuropsicomotor (ADNPM) (98%), em que a criança apresenta atraso para sentar e andar e também na aquisição da fala. Outras características presentes nesta fase são a hiperfagia acompanhada de obesidade (94%), baixa estatura (76%), mãos e pés pequenos (83%), diminuição da atividade física, diminuição da sensibilidade à dor^{8,10}, hipopigmentação de cabelo, pele e retina, problemas de aprendizagem e algumas características faciais como frente estreita (75%), olhos amendoados (75%) e estrabismo (52%). Algumas crianças entre 3 e 5 anos de idade podem desenvolver problemas de personalidade como depressão, irritação, episódios de violência, mudanças repentinas de humor, pouca interação com outras pessoas, imaturidade e comportamento social inapropriado¹¹.

A PWS é resultante da ausência de genes paternos que normalmente estão ativos no segmento cromossômico 15q11q13; os alelos maternos herdados estão normalmente inativos, em decorrência de mecanismo de *imprinting* genômico. Esses genes paternos podem estar ausentes como resultado de diferentes mecanismos: 75% dos casos de PWS apresentam deleção paterna do segmento 15q11-q13; 20-25% apresentam dissomia uniparental materna (UPD) (herança de dois cromossomos 15 maternos)^{12,13}; aproximadamente 5% dos casos de PWS apresentam translocação ou outra anomalia cromossômica estrutural envolvendo o

cromossomo 15; ao redor de 1% dos pacientes, incluindo todas as famílias estudadas com recorrência de PWS, não apresentam deleção ou UPD, mas uma microdeleção no centro controlador do *imprinting*, denominado centro de *imprinting* (IC), localizado no segmento 15q11q13^{6,14-17}.

Neste trabalho, relatamos as características clínicas e o diagnóstico genético realizado em 6 pacientes com menos de 3 anos de idade, ressaltando a importância do diagnóstico precoce na PWS.

Casística e Métodos

Pacientes

Os pacientes foram encaminhados para o Serviço de Aconselhamento Genético do IB-USP por apresentarem quadro de hipotonia, dificuldade de sucção e pequenas anomalias de fâcies e extremidades (Figura 1). Todas as fotos foram tiradas com o consentimento dos pais para publicação.

Estudo Genético

O diagnóstico de PWS foi estabelecido através da análise do padrão de metilação do exon 1 do gene SNRPN, localizado na região crítica para as síndromes de Prader-Willi e Angelman, pela técnica de *Southern blot*¹⁸. O mecanismo genético foi determinado pela análise do padrão de segregação de microssatélites do cromossomo 15, usando a técnica de PCR¹⁹, cariótipo com bandamento G e hibridação *in situ* fluorescente (FISH).

Resultados

As características clínicas presentes nos pacientes estão sumarizadas na Tabela 1. A análise cariotípica foi realizada em 5 dos 6 pacientes, revelando resultado normal em todos eles. Quanto aos resultados moleculares, os 6 pacientes apresentaram padrão de metilação típico para a síndrome de Prader-Willi, confirmando a suspeita clínica. A análise dos microssatélites, juntamente com os resultados de FISH, revelou que dos 6 pacientes com PWS, 4 apresentavam deleção do segmento 15q11q13 e 2, dissomia uniparental (UPD) materna.

Discussão

O diagnóstico diferencial da hipotonia em lactentes inclui doenças neuromusculares como amiotrofia espinal infantil e miopatias congênitas. Para o diagnóstico dessas doenças é indicada a realização de eletroneuromiografia e biópsia muscular. Esses exames são invasivos e algumas vezes de execução e interpretação difícil, podendo levar a diagnósticos errôneos. Na PWS, a biópsia muscular pode mostrar atrofia de fibras tipo II, mas este achado não é específico.

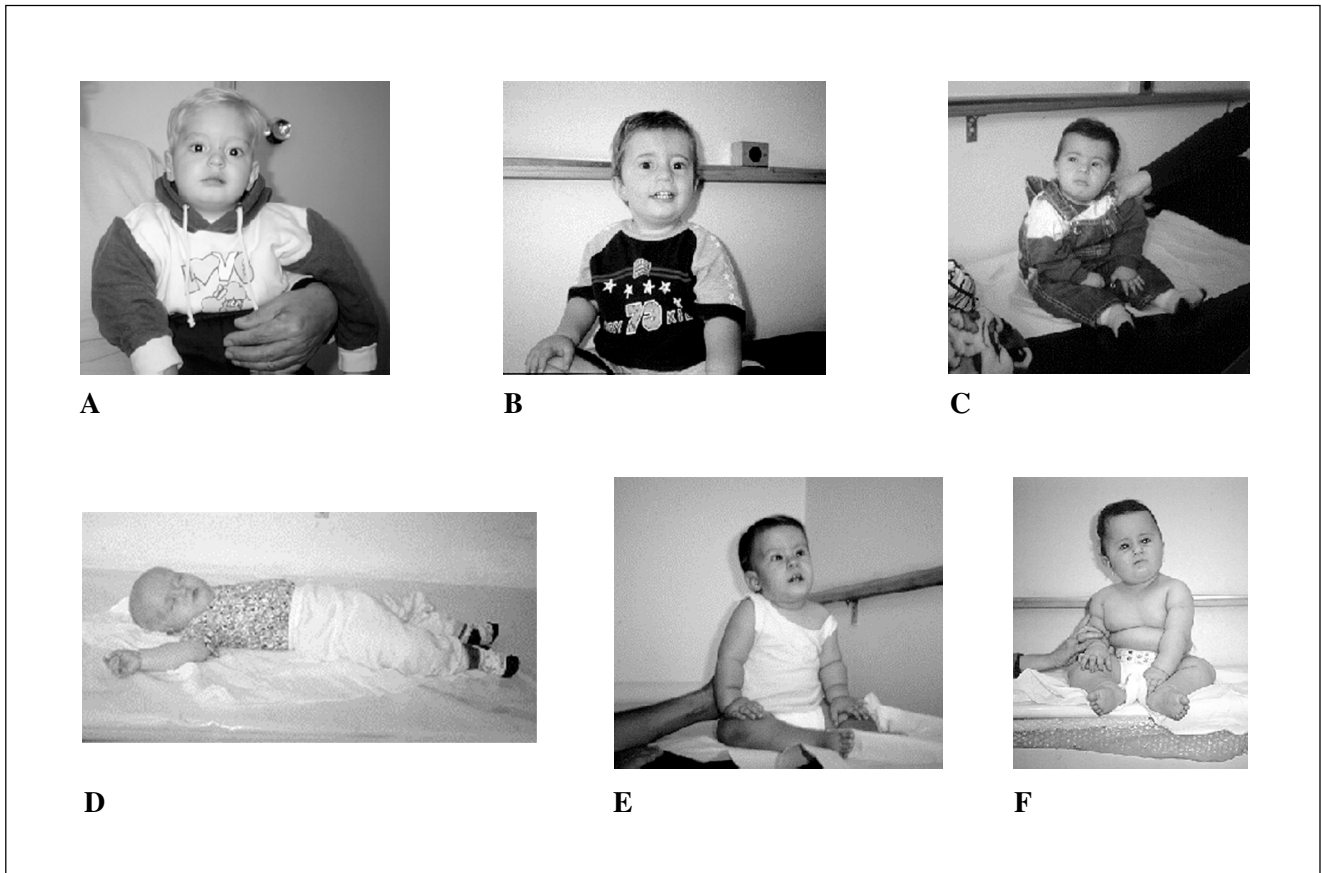


Figura 1 - Pacientes portadores de síndrome de Prader-Willi. **a)** Paciente 6 com 2 anos e 4 meses; **b)** Paciente 3 com a idade de 1 ano e 8 meses; **c)** Paciente 2 aos 10 meses; **d)** Paciente 4 aos 9 meses; **e)** Paciente 1 aos 9 meses; **f)** Paciente 5 aos 10 meses. Notar dedos afilados em *b,c,e e f*; estrabismo em *a, b, e, e f*; boca voltada para baixo em *a,c e e*

O cariótipo raramente define o diagnóstico de PWS e AS e, atualmente, o modo mais eficiente de diagnosticar essas doenças é por meio de um mesmo teste molecular, que determina o padrão de metilação, que é progenitor-específico, dentro da região PWS/AS, utilizando-se *Southern blot* e hibridação com sondas sensíveis à metilação dos locos SNRPN e PW71^{6,20-23}. Nos pacientes com suspeita diagnóstica de PWS, o achado do padrão normal de metilação afasta o diagnóstico com 95% de certeza.

Embora não se conheça a prevalência da PWS nas crianças com hipotonia, o teste de metilação deve ser considerado para o diagnóstico diferencial, principalmente entre os lactentes com hipotonia grave de causa desconhecida. Gillessen-Kaesbach *et al.* (1995)¹¹ testaram 65 crianças de 0 a 12 meses com hipotonia de causa desconhecida e detectaram 29 com PWS (45%). Os autores salientam que, apesar dessa alta frequência estar superestimada, provavelmente devido a um viés de averiguação, o teste de metilação deve ser realizado nesse grupo de pacientes, pois não é invasivo e é extremamente eficaz para diagnóstico da PWS.

O diagnóstico pré-natal pelo estudo do padrão de metilação pode ser oferecido em situações de famílias com portadores de rearranjos envolvendo o cromossomo 15, de mulheres ansiosas por já terem tido uma criança com a síndrome e de casos em que se detectam três cromossomos 15 no cariótipo do vilo coriônico e contagem normal de cromossomos em amniocentese²⁴, pois sabe-se que a idade materna avançada está associada a casos de UPD15 devido à associação com erros meióticos²⁵. Também na nossa amostra observa-se idade materna aumentada nos casos com UPD.

A pesquisa do mecanismo genético que originou a PWS é importante para o aconselhamento genético dos pais e familiares, sendo o risco para os casos de deleção e disomia baixo, cerca de 1%; só há risco alto (50%) quando associado aos raros casos de mutações no mecanismo de *imprinting* e translocações;

O diagnóstico precoce da PWS é importante na medida em que dá aos pais a oportunidade de administrar dietas apropriadas e desde logo estimular hábitos de alimentação

Tabela 1 - Características clínicas e exames complementares dos pacientes portadores de PWS

Paciente	1	2	3	4	5	6
Sexo	F	M	M	F	F	M
Idade (meses)	9	10	20	9	10	28
Idade da mãe (anos)	45	22	28	30	20	48
Idade do pai (anos)	41	24	25	34	29	52
Movimentos fetais	0	Normais	Diminuídos	Normais	Normais	Diminuídos
Peso ao nascimento (g)	2110	2390	2680	3025	2440	1780
Comprimento (cm)	42	47	48	51	45	36
Hipotonia	+	+	+	+	0	+
Dificuldade na alimentação	+	+	+	+	+	-
ADNPM	+	+	+	+	+	+
Peso	10<p<25%	10%	25<x<50%	50%	90<x<97%	<2,5%
Estatura	10<p<25%	0	2,5%	75%	75%	<2,5%
Perímetro cefálico	50%	25<p<50%	50<x<75%	75%	0	<2,5%
Hipertelorismo	-	+	+	+	-	-
Olhos amendoados	+	+	+	0	+	0
Estrabismo	+	+	-	+	+	+
Fronte estreita	+	+	+	-	+	+
Mãos e pés pequenos	+	+	0	+	+	+
Biópsia muscular	NR	AF tipo II	AF tipo II	NR	NR	AF tipo II
Eletroneuromiografia	NR	normal	miopática	NR	NR	miopática
Mecanismo genético	UPD*	deleção	deleção	deleção	deleção	UPD

+ = presença da característica

- = ausência da característica

0 = dado não disponível

NR = não realizado

AF tipo II = atrofia de fibra tipo II

UPD = dissomia uniparental

* - exame pré-natal realizado, mostrando trissomia do cromossomo 15 em vilosidade coriônica e complemento normal em amniocentese

e de atividade física adequados, a fim de diminuir os problemas relacionados com a obesidade, como diabetes, hipertensão e problemas respiratórios, que são as principais causas de morte desses indivíduos na adolescência. Além disso, crianças e adolescentes com PWS apresentam atraso de desenvolvimento em diversas áreas e o diagnóstico precoce alerta os pais para a procura de ajuda profissional (professores, pedagogos, fisioterapeutas e fonoaudiólogos).

Na adolescência o cuidado com a alimentação pode fugir ao controle dos pais e da família, pois os adolescentes parecem usar sua inteligência e perspicácia para conseguir comida, tornando-se agressivos quando o alimento é negado. Esses indivíduos podem ingerir restos de alimentos, comida de animais domésticos e alguns chegam, até, a comer terra; algumas crianças podem desenvolver comportamentos "psicóticos"¹¹. A experiência mostra que o su-

porte psicológico ao paciente, pais e irmãos deveria começar na infância e continuar até a vida adulta, momento no qual o maior problema é o controle de peso e de comportamento, com ocorrência de períodos de irritabilidade e até surtos psicóticos.

Uma vez que em nosso meio o diagnóstico de PWS é em geral estabelecido após o início da obesidade, sugerimos que o teste genético para esta doença seja requisitado em neonatos e lactentes com hipotonia e dificuldade de sucção e algumas das características fenotípicas da síndrome (mãos e pés pequenos, sinais de hipogonadismo, hipopigmentação em relação aos familiares, olhos amendoados e frente estreita). Isso poderá contribuir para o diagnóstico precoce, diminuindo a utilização de recursos diagnósticos mais invasivos e às vezes de difícil interpretação, como a eletroneuromiografia e a biópsia muscular.

Referências bibliográficas

1. Prader A, Labhart A, Willi H. Ein syndrom von Adipositas, kleinwuchs, kryptochismus und oligophrenie nach myotonieartigem zustand in neugeborenenalter. *Schweiz Med Wochenschr* 1956; 86: 1260-61.
2. Cassidy SB. Prader-Willi syndrome. *J Med Genet* 1997; 34: 917-23.
3. Nicholls RD, Knoll JHM, Butler MG, Karam S, Lalonde M. Genetic imprinting suggested by maternal heterodisomy in non-deletion Prader-Willi syndrome. *Nature* 1989; 342: 281-85.
4. Cassidy SB. Prader-Willi syndrome. *Curr Prob Pediatr* 1984; 14: 1-55.
5. Mascari MJ, Gottlieb W, Rogan PK, Butler MG, Waller DA, Armour JAL et al. The frequency of uniparental disomy in Prader-Willi syndrome. *N Engl J Med* 1992; 326: 1599-607.
6. Saitoh S, Buiting K, Cassidy SB, Conroy JM, Driscoll DJ, Gabriel JM et al. Clinical spectrum and molecular diagnosis of Angelman and Prader-Willi syndrome imprinting mutation patients. *Am J Med Genet* 1997; 68:195-206.
7. Butler MG, Meaney FJ, Palmer CG. Clinical and cytogenetic survey of 39 individuals with Prader-Labhart-Willi syndrome. *Am J Med Genet* 1986; 23: 793-809.
8. Butler MG. Prader-Willi syndrome: current understanding of cause and diagnosis. *Am J Hum Genet* 1990; 35: 319-32.
9. Holm VA, Cassidy SB, Butler MG, Hanchett JM, Greenswag LR, Whitman BY et al. Prader-Willi syndrome: consensus diagnostic criteria. *Pediatrics* 1993; 91: 398-402.
10. Ledbetter DH, Riccardi VM, Airhart SD, Strobel RJ, Keenan BS, Crawford JD. Deletions of chromosome 15 as a cause of the Prader-Willi syndrome. *N Engl J Med* 1981; 304: 325-29.
11. Einfeld SL, Smith A, Durvasula S, Florio T, Tonge BJ. Behavior and emotional disturbance in Prader-Willi syndrome. *Am J Med Genet* 1999; 123-27.
12. Robinson WP, Bottani A, Yagang X, Balakrishnan J, Binkert F, Machler M et al. Molecular cytogenetic, and clinical investigations of Prader-Willi syndrome patients. *Am J Hum Genet* 1991; 49: 1219-34.
13. Mascari MJ, Gottlieb W, Rogan PK, Butler MG, Waller DA, Armour JAL et al. The frequency of uniparental disomy in Prader-Willi syndrome. *N Engl J Med* 1992; 326: 1599-607.
14. Reis A, Dittrich B, Greger V, Buiting K, Lalonde M, Gillessen-Kaesbach G et al. Imprinting mutations suggested by abnormal DNA methylation patterns in familial Angelman and Prader-Willi syndromes. *Am J Hum Genet* 1994; 54: 741-47.
15. Sutcliffe JS, Nakao M, Christian S, Örstavik KH, Tommerup N, Ledbetter DH et al. Deletions of a differentially methylated CpG island at the SNRPN gene define a putative imprinting control region. *Nature Genet* 1994; 8: 52-8.
16. Buiting K, Saitoh S, Gross S, Dittrich B, Schwartz S, Nicholls RD et al. Inherited microdeletions in the Angelman and Prader-Willi syndromes define an imprinting center on human chromosome 15. *Nature Genet* 1995; 9: 395-400.
17. Saitoh S, Buiting K, Rogan PK, Buxton JL, Driscoll DJ, Arne-mann J et al. Minimal definition of the imprinting center and fixation of a chromosome 15q11-q13 epigenotype by imprinting mutations. *Proc Natl Acad Sci USA* 1996; 93: 7811-15.
18. Southern EM. Detection of specific sequences among DNA fragments separated by gel eletroforesis. *J Mol Biol* 1975; 98: 503-17.
19. Mutirangura A, Greenberg F, Butler MG, Malcolm S, Nicholls RD, Chakravarti A et al. Multiplex PCR of three dinucleotide repeats in the Prader-Willi/Angelman critical region (15q11-13): molecular diagnosis and mechanism of uniparental disomy. *Hum Molec Genet* 1993; 2: 143-51.
20. Gillessen-Kaesbach G, Gross S, Kaya-Westerloh S, Passarge E, Horsthemke B. DNA methylation based testing of 450 patients suspected of having Prader-Willi syndrome. *J Med Genet* 1995; 32: 88-92.
21. Butler MG. Molecular dignosis of Prader-Willi syndrome: comparison of cytogenetic and molecular genetic data including parent of origin dependent methylation DNA patterns. *Am J Hum Genet* 1996; 61: 188-90.
22. Glenn CC, Saitoh S, Jong MTC, Filbrandt MM, Surti U, Driscoll DJ et al. Gene structure, DNA methylation, and imprinted expression of the human SNRPN gene. *Am J Hum Genet* 1996; 58: 335-46.
23. Kubota T, Sutcliffe JS, Aradhya S, Gillessen-Kaesbach G, Christian SL, Horsthemke B et al. Validation studies of SNRPN methylation as a diagnostic test for Prader-Willi syndrome. *Am J Med Genet* 1996; 66: 77-80.
24. Clayton-Smith J, Driscoll DJ, Waters MF, Webb T, Andrews T, Malcolm S et al. Difference in methylation patterns within the D15S9 region of chromosome 15q11-13 in first cousins with Angelman syndrome and Prader-Willi syndrome. *Am J Med Genet* 1993; 47: 683-86.
25. Robinson WP, Langlois S, Schuffenhauer S, Horsthemke B, Michaelis RC, Christian S et al. Cytogenetic and age-depend risk factors associated with uniparental disomy 15. *Prenatal Diagnosis* 1996; 16: 837-44.

Endereço para correspondência:

Dra. Cintia Fridman

Unidade de Aconselhamento Genético, IBUSP

Caixa Postal 11461- CEP 05422-970 - São Paulo - SP

E-mail: cfridman@ib.usp.br