

Beckwith-Wiedemann sendromunun farklı moleküler tiplerinde doğum ağırlıklarının karşılaştırılması

Tuğba Nur Daşar^{1,*}, Pelin Özlem Şimşek Kiper², Gülen Eda Utine³

Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi ¹Pediyatri Uzmanı, ²Pediyatri Doçenti, ³Pediyatri Profesörü

*İletişim: tugbatorun@hotmail.com

SUMMARY: Daşar TN, Şimşek Kiper PÖ, Utine GE. (Department of Pediatrics, Hacettepe University Faculty of Medicine, Ankara, Turkey). Comparison of birth weights in different molecular types of Beckwith-Wiedemann syndrome. Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Dergisi 2019; 62: 56-60.

Beckwith-Wiedemann syndrome (BWS) is an overgrowth syndrome, characterized by macroglossia, macrosomia, hemihyperplasia, visceromegaly, embryonal tumors and abdominal wall defects and results from genetic and epigenetic disordered expression of imprinted genes at chromosome 11p15.5. Due to varying molecular defects, clinical presentation is heterogenous. Prematurity, macrosomia and high birth weight is common in patients with BWS. Herein, we investigated 25 patients with BWS and according to the underlying molecular etiology, patients were grouped into two as follows; Group 1: loss of methylation at IC2 (n:18); Group 2: gain of methylation at IC1 (n:2) and paternal uniparental disomy (UPD) (n:5). Groups were compared for birth weight, gestational week and presence of macrosomia. Differences between groups were not statistically significant. There are reports in the literature supporting that the genetic mechanism makes a difference in terms of these features. Our results are thought to support the view that the genetic mechanism is not the only determinant of these features.

Key words: Beckwith-Wiedemann syndrome, DNA methylation, macrosomia, genotype and phenotype correlation.

ÖZET: Beckwith-Wiedemann sendromu (BWS) makroglossi, makrozomi, hemihiperplazi, viseromegali, embriyonel tümörler ve karın duvarı defektleri ile karakterize bir aşırı büyüme sendromudur ve kromozom 11p15.5'te lokalize imprinted genlerin ekspresyonunu etkileyen genetik ve epigenetik bozukluklardan kaynaklanmaktadır. Moleküler defektin heterojenitesi nedeniyle klinik bulgular değişkendir. Prematürite, makrozomi ve iri doğum BWS'li hastalarda sık bildirilmektedir. Çalışmamıza alınan BWS tanılı 25 hasta iki gruba ayrıldı. Grup 1'e IC2 hipometilasyonu olan hastalar (n:18), Grup 2'ye IC1 hipermetilasyonu olan hastalar (n:2) ile paternal uniparental dizomili (UPD) hastalar (n:5) alındı. İki grup doğum ağırlığı, doğum haftası ve makrozomi varlığı açısından karşılaştırıldığında gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunamadı. Literatürde bu özellikler açısından genetik mekanizmanın fark oluşturduğu ve oluşturmadığı yönünde bildiriler bulunmaktadır. Sonuçlarımızın genetik mekanizmanın bu özellikler yönünden tek belirleyici olmadığını görüşünü desteklediği düşünülmüştür.

Anahtar kelimeler: Beckwith-Wiedemann sendromu, DNA metilasyonu, makrozomi, genotip-fenotip ilişkisi.

Beckwith-Wiedemann sendromu (BWS) (MIM #130650) en iyi bilinen ve en yaygın aşırı büyüme sendromlarından biridir.¹ Makrozomi, makroglossi, abdominal duvar defektleri, viseromegali, hemihiperplazi, embriyonel

tümörler ve diğer renal anomaliler ile karakterize genetik bir hastalıktır.² Klinik bulgular değişkenlik gösterebilir, bu durum moleküler mekanizmaların çeşitliliğine, somatik mozaizme ve henüz bilinmeyen nedenlere

bağlı olabilir.²

BWS'nin moleküler temeli, kromozom 11p15.5'de yerleşmiş büyüme düzenleyici *imprinted* genlerin ekspresyonunu etkileyen birçok genetik ve epigenetik değişikliğe dayanır.³ Bu kromozomal bölge *imprinting* merkezler tarafından kontrol edilen iki *imprinted* gen kümesi içerir. Bunlar IC1 tarafından kontrol edilen *IGF2/H19* ve IC2 tarafından kontrol edilen *CDKN1C/KCNQ1OT1/KCNQ1 domain*leridir.² Paternal ifade, IC1'de fetal büyüme faktörü *IGF2* ve IC2'de maternal ifadeyi düzenleyen *KCNQ1OT1* üzerinden büyümeyi teşvik ederken, maternal ifade ise IC1'de *H19* ile IC2'de *CDKN1C* ve *KCNQ1* genleri üzerinden hücre çoğalmasını baskılayıcı görev yapar.²

BWS'den etkilenmiş hastalarda fetal yaşamın son yarısından başlayan ve yaşamlarının ilk yıllarını kapsayacak şekilde devam eden aşırı hızlı bir büyüme görülür. Etkilenmiş fetüslerin yaklaşık %50'sinde prematüre doğum ve %90 oranında fetal makrozomi görülebilmektedir.^{4,5} BWS'li hastaların çoğunda (%87) doğum ağırlığı gebelik yaşına göre yaklaşık 97. persentildedir.⁵ Anormal büyüme hemihiperplazi ve/veya makroglossi şeklinde de izlenebilir. Makrozomi ve makroglossi genellikle doğumda vardır, ancak postnatal başlangıçlı da olabilir.⁶ Hipoglisemi gibi sorunlar da kısmen bu perinatal sorunlarla ilişkilidir.

Makrozominin en önemli nedeninin fetal büyüme faktörü *IGF2*'nin artmış ekspresyonuyla giden IC1 metilasyon kazanımı olduğu düşünülmüştür.⁷ Hastalardaki moleküler etiyojoloji ve fenotipik yansımalarıyla ilgili çalışmalarda doğum ağırlığı persentilinin, IC1 metilasyon kazanımında IC2 metilasyon kaybından daha fazla olduğu gösteren çalışmalar olduğu gibi, bunu desteklemeyen çalışmalar da bulunmaktadır.⁸⁻¹¹ Bu çalışma IC1 hipermetilasyonu bulunan hastalarla (IC1 metilasyon kazanımı veya uniparental dizomi (UPD) grupları), bulunmayan hastaları (IC2 metilasyon kaybı grubu) prematüre doğum, ortalama doğum ağırlığı ve makrozomi varlığı yönünden karşılaştırmak amacıyla planlanmıştır.

Materyal ve Metot

Çalışmaya Hacettepe Üniversitesi İhsan Doğramacı Çocuk Hastanesi Çocuk Genetik Hastalıkları Polikliniği'nde BWS tanısı konarak, MLPA (Multiplex ligation-dependent probe

amplification) yöntemiyle moleküler olarak doğrulanan 25 hasta alındı. Bu çalışmamıza daha önce yayınlanmış olan grubumuzdaki 19 hastaya ek olarak altı hasta daha dahil edilmiştir.⁶

Hastalar sendroma yol açan mekanizmalar açısından sınıflanarak iki gruba ayrılmıştır; Grup 1'e IC2 hipometilasyonuna bağlı, Grup 2'ye IC1 hipermetilasyonuna ve paternal UPD'ye bağlı BWS hastaları alındı. Hastaların doğumdaki gebelik yaşları ve doğum ağırlıkları değerlendirildi. Normal dağılım göstermediği saptanan doğum haftaları arasındaki fark Kruskal-Wallis testi ile, normal dağılım gösterdiği saptanan doğum ağırlıkları arasındaki fark Student t-testi ile, makrozomik hasta sayıları arasındaki fark ki-kare ile karşılaştırıldı.

Bulgular

Maternal IC2'de metilasyon kaybına bağlı BWS bulunan Grup 1'de 18 hasta, diğer iki mekanizmayı içeren Grup 2'de toplam yedi hasta (maternal IC1 hipermetilasyonu saptanan iki ve paternal UPD saptanan beş hasta) bulunuyordu. Hastaların doğum haftaları Grup 1'de ortanca 38 hafta (dağılım 35-40 hafta) ve Grup 2'de ortanca 37 hafta (dağılım 36-40 hafta) olup, iki grup arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark olmadığı görüldü ($p>0.05$). Doğum ağırlığı ortalaması Grup 1'de 3679 ± 709 gr (dağılım 2300-4550 gr) ve Grup 2'de 3260 ± 698 gr (dağılım 2430-4500 gr) bulundu ($p>0.05$) (Tablo I). İki grupta makrozomik olan ve olmayan hasta sayıları karşılaştırıldığında da arada istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmadığı görüldü ($p>0.05$) (Tablo II).

Tartışma

BWS'de makrozominin en önemli nedeninin fetal büyüme faktörü *IGF2*'nin artmış ekspresyonuyla giden IC1 metilasyon kazanımı olup olmadığını inceleyen bu çalışmada, IC1'de metilasyon kazanımı görülen ve görülmeyen BWS hastaları doğum ağırlıkları yönünden karşılaştırılmış ve iki grup arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark olmadığı görülmüştür.

BWS en sık olarak, kromozom 11p15.5'de lokalize büyüme düzenleyici *imprinted* genlerin ekspresyonunu etkileyen epigenetik değişikliklerle ortaya çıkar.³ Bu kromozomal bölge *imprinting* merkezler tarafından kontrol

Tablo I. Grup 1 ve Grup 2'nin doğum haftası ve doğum ağırlığı açısından karşılaştırılması.

	Grup 1 (n:18)	Grup 2 (n:7)	p
Gebelik yaşı (hafta)	38 (35-40)	37 (36-40)	>0.05
Doğum ağırlığı (gr)	3679 ± 709 (2300-4550)	3260 ± 698 (2430-4500)	>0.05

Ortanca (dağılım).

edilen iki *imprinted* gen kümesi içerir. Bunlar IC1 tarafından kontrol edilen *IGF2/H19* ve IC2 tarafından kontrol edilen *CDKN1C/KCNQ1OT1/KCNQ1 domain*leridir.³ IC1 tarafından kontrol edilen *imprinted* genlerden *IGF2* sadece paternal ekspresyonu olan bir fetal büyüme faktörünü kodlar. Fetal ve erken çocukluk dönemindeki fazla ekspresyonu ile aşırı büyümeye neden olur.¹² *H19* sadece maternal ekspresyonu olan ve protein kodlamayan bir RNA'dır; normal koşullarda büyümenin sınırlandırılmasıyla ilişkilidir.¹³ Sentromerik yerleşimli IC2 tarafından kontrol edilen *domain* 2'de ise *imprinted* genler *KCNQ1OT1*, *KCNQ1* ve *CDKN1C* bulunur. *KCNQ1OT1* paternal eksprese edilir ve IC2 fonksiyonuyla maternal eksprese edilen *imprinted* genler olan *CDKN1C* ve *KCNQ1* genlerinin ekspresyonlarını önler.³ Normal durumda, ikinci *domain*de maternal allel metiledir ve *KCNQ1OT1* sessizdir. Bu sayede hücre çoğalması üzerine negatif etkisi olan ve tümör baskılayıcı görevi olan *CDKN1C* ve *KCNQ1* eksprese olabilir. Paternal allel ise metile değildir ve *KCNQ1OT1* ekspresyonu nedeniyle *CDKN1C* ve *KCNQ1* sessizdir.³

BWS'de en sık görülen moleküler değişiklikte, IC2'de maternal kopyanın metilasyon kaybı nedeniyle normalde maternal allelde sessiz olan *KCNQ1OT1* eksprese olur ve *CDKN1C* ve *KCNQ1*'in maternal ekspresyonunun kaybı gerçekleşir (%50-60). Hastaların %20'sinde ise 11p15.5 bölgesindeki *imprinted* gen kümelerinde paternal uniparental dizomi (UPD) bulunur. Bu

hastalarda kromozom 11p15.5 için iki kopya paternal allel bulunurken bu bölge için maternal allelin katkısı yoktur. Diğer bir deyişle paternal UPD nedeniyle her iki *domain*de biallelik paternal ekspresyon profili oluşur. Dolayısıyla paternal eksprese olan büyüme düzenleyici *IGF2* geninin ekspresyonu artarken, maternal eksprese olan büyüme baskılayıcı *H19* geninin ekspresyon kaybı olur. UPD postzigotik bir olaydır, UPD'li BWS hastalarının hepsi somatik mozaizm gösterir. Normalde sadece maternal allelden eksprese olduğu için, maternal *CDKN1C* mutasyonunda, ekspresyonda biallelik kayıp meydana gelir (%5-10). Bir diğer mekanizmada BWS'li hastalarda maternal IC1'de kopyadaki artmış metilasyon nedeniyle, maternal allelden de *IGF2* eksprese olmasına ve *H19* geninin susturulmasına bağlı BWS görülür (%2-7). Paternal 11p15 duplikasyonu ve maternal sitogenetik anomaliler de ayrı ayrı hastaların %1 kadarında ekspresyonun BWS yönünde değişmesine neden olur. Hastaların yaklaşık %13-15'inde BWS'nin moleküler etiyojisi belirlenememiştir.³

BWS'de klinik bulgular oldukça değişken olabilmekte ve bu değişkenliğin altta yatan heterojen moleküler bozukluklar ile ilişkili olduğu düşünülmektedir. Bu nedenle epigenetik-fenotip ilişkisini araştıran birçok çalışma vardır ve bu çalışmalarda gruplar arasında klinik olarak farklılıklar gösterilmiştir.^{3,10,14-18} Çalışmamızda IC1 hipermetilasyon durumu ile doğum ağırlığı, makrozomi ve doğum

Tablo II. Grup 1 ve Grup 2'nin makrozomi açısından karşılaştırılması.

		Grup 1 n (%)	Grup 2 n (%)	p
Makrozomi	Var	7 (58.3)	5 (41.7)	>0.05
	Yok	11 (84.6)	2 (15.4)	

haftaları arasındaki ilişki araştırılmış ve anlamlı bir fark olmadığı bulunmuştur. Literatüre bakıldığında Duffy ve arkadaşlarının⁸ 344 hastayı kapsayan çalışmasında çalışmamıza benzer şekilde doğum haftası ve doğum ağırlığı ile BWS'nin moleküler tipi arasındaki ilişki değerlendirildiğinde anlamlı fark olmadığı saptanmıştır. İbrahim ve arkadaşlarının⁹ çalışmasında da 507 hasta değerlendirilmiş ve makrozomi açısından gruplar arasında anlamlı fark saptanmamıştır. Buna karşın, Cooper ve arkadaşlarının¹⁰ 200 hastalık çalışmalarında IC1 hipermetilasyonu olan grupta ortalama doğum ağırlıklarının *CDKN1C* ve IC2 hipometilasyonu olan gruplardan daha fazla olduğu gösterilmiştir. Benzer şekilde Mussa ve arkadaşlarının¹¹ 247 hastayı içeren çalışmalarında da doğum ağırlıkları değerlendirildiğinde gebelik yaşına göre büyük olma oranının IC1 hipermetilasyonu olan grupta %95.2 (n: 20), UPD grubunda %69.1 (n: 47), IC2 hipometilasyonu olan grupta %65.3 (n: 96), *CDKN1C* mutasyonu olan grupta %63.3 (n: 7) olduğu görülmüş ve bu farkın anlamlı olduğu bildirilmiştir. Ayrıca doğum haftaları değerlendirilerek, IC1 hipermetilasyonu ve *CDKN1C* mutasyonu saptanan grubun doğum haftalarının en düşük, UPD'li grubun en yüksek, IC2 hipometilasyonu olan grubun ise bu iki grubun arasında olduğu görülmüş; gruplar arasındaki bu fark anlamlı bulunmuştur. Bu çalışmada korelasyon analizi de yapılmış ve UPD ve IC1 hipometilasyon gruplarında gestasyonel hafta ile ağırlığın negatif korelasyon gösterdiği bildirilmiştir.¹¹ Mussa ve arkadaşlarının¹⁹ 318 hasta içeren başka bir çalışmasında benzer şekilde IC1 hipermetilasyonlu hastaların diğer gruplarla karşılaştırıldığında doğum ağırlığının daha fazla olduğu, IC2 hipometilasyonlu hastalarda ise prematür doğum oranının daha fazla olduğu, ayrıca bu grupta neonatal makrozomi daha az olduğu halde postnatal aşırı büyüme oranının yüksek olduğu gözlemlenmiştir.

BWS hem klinik hem de genetik olarak oldukça heterojen bir sendrom olup, genotip-fenotip ilişkisini araştırılan pek çok çalışma vardır. Çalışmamızda hastalar doğum ağırlığı ve doğum haftası açısından karşılaştırılmış olup gruplar arasında anlamlı bir fark saptanmamıştır. Literatürdeki yayınlar arasında IC1 metilasyon kazanımı ile doğum ağırlığı ortalamasının ve makrozomik doğum sayısının ilişkili olduğunu gösteren çalışmalar olması, buna karşın bizim

çalışmamızda böyle bir ilişkinin bulunmaması, çalışmamızdaki hasta sayısının azlığına bağlı olabilir. Ancak bu ilişkinin yokluğunu gösteren çalışmaların yeterli sayıda hasta içermesi nedeniyle, *IGF2* ekspresyon fazlalığının makrozomi için tek önemli faktör olmadığı anlaşılmaktadır. Bu konu ile ilgili daha geniş hasta kohortları ile yapılmış daha çok sayıda çalışmaya ihtiyaç duyulmaktadır.

KAYNAKLAR

1. Cohen MM Jr. Overgrowth syndromes: an update. *Adv Pediatr* 1999; 46: 441-491.
2. Choufani S, Shuman C, Weksberg R. Beckwith-Wiedemann syndrome. *Am J Med Genet C Semin Med Genet* 2010; 154C: 343-354.
3. Weksberg R, Shuman C, Smith AC. Beckwith-Wiedemann syndrome. *Am J Med Genet C Semin Med Genet* 2005; 137C: 12-23.
4. Elliott M, Bayly R, Cole T, Temple IK, Maher ER. Clinical features and natural history of Beckwith-Wiedemann syndrome: presentation of 74 new cases. *Clin Genet* 1994; 46: 168-174.
5. Weng EY, Moeschler JB, Graham Jr JM. Longitudinal observations on 15 children with Wiedemann-Beckwith syndrome. *Am J Med Genet* 1995; 56: 366-373.
6. Bilgin B, Kabaçam S, Taşkıran E, et al. Epigenotype and phenotype correlations in patients with Beckwith-Wiedemann syndrome. *Turk J Pediatr* 2018; 60: 506-513.
7. Wang KH, Kupa J, Duffy KA, Kalish JM. Diagnosis and management of Beckwith-Wiedemann syndrome. *Front Pediatr* 2020; 7: 562.
8. Duffy KA, Cielo CM, Cohen JL, et al. Characterization of the Beckwith-Wiedemann spectrum: diagnosis and management. *Am J Med Genet C Semin Med Genet* 2019; 181C: 693-708.
9. İbrahim A, Kirby G, Hardy C, et al. Methylation analysis and diagnostics of Beckwith-Wiedemann syndrome in 1,000 subjects. *Clin Epigenetics* 2014; 6: 11.
10. Cooper WN, Luharia A, Evans GA, et al. Molecular subtypes and phenotypic expression of Beckwith-Wiedemann syndrome. *Eur J Hum Genet* 2005; 13: 1025-1032.
11. Mussa A, Russo S, de Crescenzo A, et al. Fetal growth patterns in Beckwith-Wiedemann syndrome. *Clin Genet* 2016; 90: 21-27.
12. Maher ER, Reik W. Beckwith-Wiedemann syndrome: imprinting in clusters revisited. *J Clin Invest* 2000; 105: 247-252.
13. Guo L, Choufani S, Ferreira J, et al. Altered gene expression and methylation of the human chromosome 11 imprinted region in small for gestational age (SGA) placentae. *Dev Biol* 2008; 320: 79-91.
14. Lam WW, Hatada I, Ohishi S, et al. Analysis of germline *CDKN1C* (p57KIP2) mutations in familial and sporadic Beckwith-Wiedemann syndrome (BWS) provides a novel genotype-phenotype correlation. *J Med Genet* 1999; 36: 518-523.

15. Weksberg R, Nishikawa J, Caluseriu O, et al. Tumor development in the Beckwith Wiedemann syndrome is associated with a variety of constitutional molecular 11p15 alterations including imprinting defects of KCNQ1OT1. *Hum Mol Genet* 2001; 10: 2989-3000.
16. Bliet J, Gicquel C, Maas S, Gaston V, Le Bouc Y, Mannens M. Epigenotyping as a tool for the prediction of tumor risk and tumor type in patients with Beckwith-Wiedemann syndrome (BWS). *J Pediatr* 2004; 145: 796-799.
17. Engel JR, Smallwood A, Harper A, et al. Epigenotype-phenotype correlations in Beckwith-Wiedemann syndrome. *J Med Genet* 2000; 37: 921-926.
18. Brioude F, Lacoste A, Netchine I, et al. Beckwith-Wiedemann syndrome: growth pattern and tumor risk according to molecular mechanism, and guidelines for tumor surveillance. *Horm Res Paediatr* 2013; 80: 457-465.
19. Mussa A, Russo S, de Crescenzo A, et al. (Epi)genotype-phenotype correlations in Beckwith-Wiedemann syndrome. *Eur J Hum Genet* 2016; 24: 183-190.