

# Utilidad de la técnica de MS-MLPA en el diagnóstico de los síndromes de Beckwith-Wiedemann y Silver-Russell

Elizabeth Acosta-Fernández,<sup>1</sup> Jorge R. Corona-Rivera,<sup>1</sup> Izabel M. Ríos-Flores,<sup>1</sup>

Elizabeth Torres-Anguiano,<sup>2</sup> Alfredo Corona-Rivera,<sup>3</sup> Christian Peña-Padilla<sup>1</sup> y Lucina Bobadilla-Morales<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>Hospital Civil de Guadalajara "Dr. Juan I. Menchaca", División de Pediatría, Servicio de Genética; <sup>2</sup>Hospital Civil de Guadalajara "Dr. Juan I. Menchaca", División de Auxiliares de Diagnóstico y Paramédicos, Unidad de Citogenética; <sup>3</sup>Universidad de Guadalajara, Instituto de Genética Humana "Dr. Enrique Corona-Rivera", Departamento de Biología Molecular y Genómica. Jalisco, México

## Resumen

**Introducción:** Las alteraciones epigenéticas y genómicas de la región improntada 11p15.5 producen crecimiento excesivo o deficiente, que se manifiesta como síndrome de Beckwith-Wiedemann o síndrome de Silver-Russell, respectivamente. **Objetivo:** Evaluar la técnica de análisis de metilación MLPA (MS-MLPA, methylation-specific multiplex ligation-dependent probe amplification) en el diagnóstico de los síndromes de Beckwith-Wiedemann y de Silver-Russell. **Métodos:** Se evaluó la metilación y las variantes de 11p15.5 en pacientes con diagnóstico clínico de síndrome de Beckwith-Wiedemann y síndrome de Silver-Russell mediante la técnica MS-MLPA en ADN de sangre periférica. **Resultados:** Se identificó disomía uniparental paterna y pérdida de metilación del IC2 materno en dos pacientes con síndrome de Beckwith-Wiedemann, quienes presentaron onfalocele y macroglosia, respectivamente. Se registró hipometilación paterna del IC1 en dos pacientes con síndrome de Silver-Russell de fenotipo clásico. **Conclusiones:** Se observó adecuada correlación genotipo-fenotipo con los defectos de metilación encontrados, lo que confirma la utilidad del MLPA como estudio de primera línea en pacientes con diagnóstico de síndrome de Beckwith-Wiedemann y síndrome de Silver-Russell.

**PALABRAS CLAVE:** Impronta. Defectos epigenéticos. Síndrome de Beckwith-Wiedemann. Síndrome de Silver-Russell. Región 11p15.5. MS-MLPA.

## Usefulness of the MS-MLPA technique in the diagnosis of Beckwith-Wiedemann syndrome and Silver-Russell syndrome

## Abstract

**Introduction:** Epigenetic and genomic imprinting alterations of the 11p15.5 region cause excessive or deficient growth, which result in Beckwith-Wiedemann syndrome (BWS) or Silver-Russell syndrome (SRS), respectively. **Objective:** To evaluate the methylation-specific multiplex ligation-dependent probe amplification (MS-MLPA) methylation analysis technique in the diagnosis of BWS and SRS. **Methods:** 11p15.5 methylation and variants were evaluated in patients with clinical diagnosis of BWS and SRS using the MS-MLPA technique in peripheral blood DNA. **Results:** Paternal uniparental disomy and loss of maternal IC2 methylation were identified in two patients with BWS who had omphalocele and macroglossia, respectively. Paternal IC1 hypomethylation was recorded in two patients with SRS of classic phenotype. **Conclusions:** Adequate genotype-phenotype correlation was observed with the methylation defects that were identified, which confirms the usefulness of MLPA as a first-line study in patients diagnosed with BWS and SRS.

**KEYWORDS:** Imprinting. Epigenetic defects. Beckwith-Wiedemann syndrome. Silver-Russell syndrome. 11p15.5 region. MS-MLPA.

## Correspondencia:

\*Lucina Bobadilla-Morales  
E-mail: lucinabo@gmail.com

Fecha de recepción: 27-01-2022

Fecha de aceptación: 31-03-2022

DOI: 10.24875/GMM.22000029

Gac Med Mex. 2022;158:210-218

Disponible en PubMed

www.gacetamedicademexico.com

0016-3813/© 2022 Academia Nacional de Medicina de México, A.C. Publicado por Permanyer. Este es un artículo open access bajo la licencia CC BY-NC-ND (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>).

## Introducción

La región cromosómica 11p15.5 contiene dos grupos de genes improntados de expresión monoalélica uniparental, regulados por dos regiones *cis* diferencialmente metiladas, denominadas centros de control de impronta 1 (IC1 o *H19/IGF2* o *H19-DMR*) y 2 (IC2 o *KCNQ1OT1*).<sup>1,2</sup> El IC1 (paterno metilado inactivo/materno no metilado activo) regula la expresión de *H19* (tumor supresor de expresión materna) e *IGF2* (factor de crecimiento tipo insulina 2 de expresión paterna),<sup>3,4</sup> con efectos antagónicos sobre el crecimiento. El IC2 (materno metilado y paterno no metilado), de expresión monoalélica paterna, bloquea la transcripción de expresión materna de *CDKN1C* (inhibidor del ciclo celular) y *KCNQ1* (canal de potasio dependiente de voltaje), como se observa en la Figura 1, los cuales regulan negativamente el crecimiento celular (Figura 1).<sup>5</sup> Los defectos epigenéticos y genómicos de 11p15.5 involucran un crecimiento excesivo, como sucede en el síndrome de Beckwith-Wiedemann (SBW), sobrecrecimiento lateralizado aislado y tumor de Wilms no sindrómico; o bien, un crecimiento deficiente como en el síndrome Silver-Russell (SSR) o hemihipoplasia aislada.<sup>6-11</sup> El ensayo de amplificación de sondas dependientes de ligación múltiple sensible a metilación (MS-MLPA) para la región 11p15.5 evalúa el estado de metilación y variaciones en el número de copias,<sup>3,5,7,12-14</sup> sin estudios en México.

El SBW (OMIM #130650), o síndrome de exonfalos, macroglosia, gigantismo, es un síndrome de sobrecrecimiento con predisposición a tumores (1:10 340 recién nacidos), que incluye (según el BWS Consensus Statements, BWSCS)<sup>6</sup> macroglosia, onfalocele, sobrecrecimiento lateralizado, tumor de Wilms multifocal o bilateral, hiperinsulinismo severo persistente y hallazgos histopatológicos, cada uno con valor diagnóstico de dos puntos. Los siguientes factores son sugestivos (un punto): peso al nacimiento > 2 desviaciones estándar, *nevus flammeus*, polihidramnios o placentomegalia, foseas o crestas auriculares, hipoglucemia transitoria, tumores típicos del SBW (neuroblastoma, rhabdomyosarcoma, tumor de Wilms unilateral, hepatoblastoma, carcinoma adrenocortical o feocromocitoma), nefromegalia o hepatomegalia y hernia umbilical o *diastasis recti*. Su diagnóstico clínico requiere  $\geq 4$  puntos.<sup>6</sup> Su espectro en 11p15.5 incluye casos de sobrecrecimiento lateralizado y atípicos.<sup>15</sup> El SBW es un trastorno de impronta genómica

por metilación de la región 11p15.5 que incluye (en 80 % de los casos) lo siguiente:<sup>3,5,6,8</sup>

- Pérdida de metilación (PDM) materna del IC2 (50 %).
- Disomía uniparental (DUP) paterna del cromosoma 11p15.5 (DUP(11)Pat) (20 %), con PDM del IC2 y ganancia de metilación del IC1.
- Ganancia de metilación materna en el IC1 (5-10 %).

La frecuencia de sus manifestaciones varía por defecto molecular (Tabla 1) y excluye etiologías detectadas por otros métodos como la secuenciación para mutaciones intragénicas de *CDKN1C* (5 %), cariotipo (< 1 %) o microarreglos (9 %); en 20 % de los casos no es posible identificar defectos.<sup>4-6</sup>

El SSR (OMIM #180860), a considerar en recién nacidos pequeños para su edad gestacional (1:30 000-1:100 000),<sup>7</sup> se caracteriza por (según los criterios revisados del Netchine-Harison-Clinical Scoring System, NH-CSS)<sup>16-18</sup> retraso del crecimiento pre y posnatal, macrocefalia, frente prominente, asimetría corporal, dificultades para la alimentación o índice de masa corporal  $\leq 2$  desviaciones estándar (Tabla 1). Clínicamente se tratará de SSR si se presentan cuatro o más de estas manifestaciones, distinguiéndose de los recién nacidos pequeños para su edad gestacional.<sup>17</sup> La mayoría de los casos de SSR se produce por alteraciones en la región 11p15.5, principalmente hipometilación del IC1 (aproximadamente entre 35 y 50 %), detectable por MS-MLPA (Tabla 1) o disomía uniparental materna mosaico del cromosoma 11, duplicaciones maternas de 11p15.5 o disomía uniparental materna del cromosoma 7 (aproximadamente entre 7 y 10 %).<sup>7,18,19</sup>

Se presenta la experiencia con el uso de MS-MLPA para la región 11p15.5 en el diagnóstico y correlación genotipo-fenotipo de pacientes con diagnóstico clínico de SBW y SSR, nacidos en el Hospital Civil de Guadalajara "Dr. Juan I. Menchaca", en Guadalajara, Jalisco, México.

## Métodos

Se estudiaron dos mujeres con diagnóstico clínico de SBW y dos con SSR, detectadas en un periodo de tres años en el Centro de Registro e Investigación sobre Anomalías Congénitas, programa hospitalario de vigilancia de defectos congénitos de nuestro hospital. Se realizó historia clínica, evaluación antropométrica, exámenes de laboratorio (glucosa, insulina, alfa-fetoproteína, antígeno carcinoembrionario, entre otras) y de gabinete

**Tabla 1. Características clínicas y defectos epigenéticos en los síndromes Beckwith-Wiedemann y Silver-Russell**

	Síndrome Beckwith-Wiedemann			Síndrome Silver-Russell	
	Pérdida de metilación del IC2	DUP paterna	Ganancia de metilación del IC1		
Características clínicas <sup>†</sup>	%	%	%	Características clínicas <sup>‡</sup>	%
Macroglosia	91	75	83	Pequeño para edad gestacional	92
Macrosomía	54	61	67	Falla crecimiento posnatal	95
Sobrecrecimiento lateralizado	24	76	35	Macrocefalia relativa	82
Anomalías de orejas	60	39	31	Frente prominente	95
<i>Nevus flammeus</i>	47	31	17	Asimetría corporal	73
Hipoglucemia	39	46	38	Dificultad alimentación/IMC bajo	98
Onfalocele	43	8	6	<i>Facies</i> triangular	94
Hernia umbilical	20	28	23	Clinodactilia de quintos dedos	75
<i>Diastasis recti</i>	12	15	32	Sudoración excesiva	54
Anomalías renales	9	26	32	Voz aguda o chirriadora	45
Organomegalia	26	41	56	Anomalías genitales en varones	40
Anomalías cardíacas	11	7	11	Retardo del lenguaje/motor	37-40
Tumores embrionarios	2	15	25	Hipoglucemia	22
<b>MS-MLPA<sup>§</sup> ensayo de metilación</b>	<b>HipoMet de IC2</b>	<b>DUP paterna</b>	<b>HiperMet del IC1</b>	<b>HipoMet del IC1</b>	
Origen parental región 11p15.5	(P/M)	(P/P)	(P/M)	PM	
Metilación del IC1	50 % (normal)	GDM	GDM	PDM	
Metilación del IC2	PDM	PDM	50 % (normal)	50 % (normal)	
Relación posdigestión de IC1	0.5 (normal)	GDM	GDM	PDM	
Relación posdigestión de IC2	PDM	PDM	0.5 (normal)	0.5 (normal)	
Frecuencia	50 %	20 %	5-10 %	35-50 %	
Correlación genotipo-fenotipo <sup>†, ‡</sup>	Onfalocele TW raro	Sobrecrecimiento localizado, onfalocele raro, TW y HB frecuentes	Onfalocele raro, TW frecuente	Hipometilación de IC1: asimetría corporal Duplicación 11p15/DUP materna: retardo psicomotor y del lenguaje	

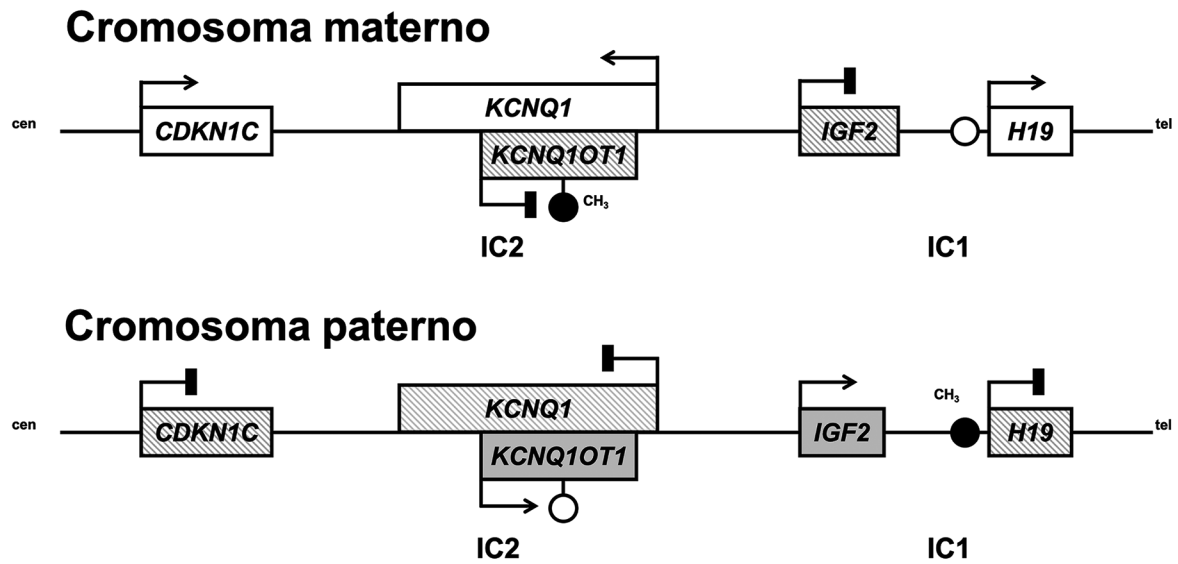
Del: delección; DUP: disomía uniparental; GDM: ganancia de metilación; HB: hepatoblastoma; HiperMet: hipermetilación; HipoMet: hipometilación; IC1: centro de impronta 1; IC2: centro de impronta 2; M: materno; MS-MLPA: amplificación de sondas dependiente de ligación múltiple sensible a metilación; P: paterno; PDM: pérdida de metilación; TW: tumor de Wilms.

<sup>†</sup>Mussa et al.<sup>3</sup> y Brioude et al.<sup>6</sup> <sup>‡</sup>Saal et al.<sup>7</sup> y Azzi et al.<sup>17</sup> <sup>§</sup>Modificada de MRC Holland.<sup>20</sup>

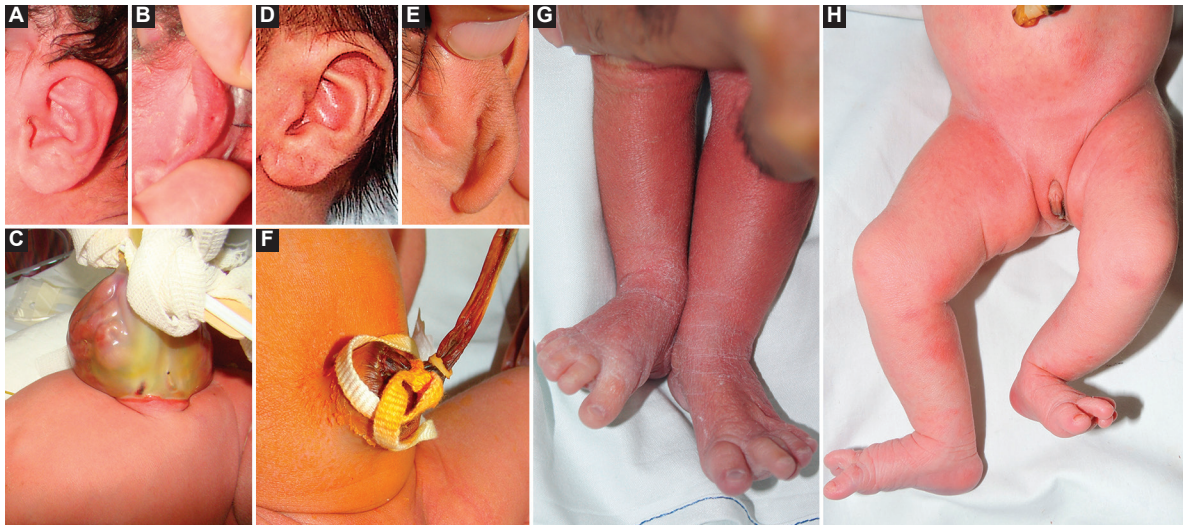
(ultrasonografías abdominal, renal y cardíaca). Las pacientes cumplieron con los criterios para el diagnóstico de SBW (BWSCS)<sup>6</sup> y SSR ( $\geq 4$ , NH-CSS).<sup>7</sup> Se obtuvo aprobación de la Junta de Ética en Investigación de la Secretaría de Salud de Jalisco con el registro #0200/18 HCJIM/2017.

Se realizó extracción de ADN de sangre periférica (ADN Blood Mini Kit, Qiagen). La búsqueda de variaciones en el número de copias y la evaluación del

estado de metilación de la región 11p15.5 se realizó utilizando SALSA MS-MLPA<sup>®</sup> Probemix ME030-C3 BWS/RSS (MRC-Holland, Ámsterdam, Países Bajos) de 27 sondas específicas de SBWS y SSR, 13 de ellas con un sitio de reconocimiento para *HhaI*, específico de las regiones diferencialmente metiladas H19/IGF2 y *KCNQ1*. Una alícuota se sometió a ligación y otra a ligación más digestión con *HhaI*. Fueron



**Figura 1.** Representación de la región cromosómica 11p15.5. Los cuadros blancos representan los genes de expresión materna (→); los grises, los de expresión paterna (→); y los genes con líneas oblicuas verticales, los transcripcionalmente inactivos (←). El promotor para KCNQOT1 (IC2) se encuentra en el intrón 10 del gen KCNQ1 y está normalmente metilado (●) en el alelo materno y desmetilado en el paterno (○), lo que hace que se transcriban solo de los genes KCNQ1 y CDKN1C de origen materno. El centro de impronta intergénico H19/IGF2 (IC1) está metilado en el alelo paterno (●) y desmetilado en el materno (○), por lo que H19 tiene de forma exclusiva solo expresión materna e IGF2, solo expresión paterna. Modificada de Baskin et al.<sup>4</sup> y Shuman et al.<sup>5</sup>



**Figura 2.** Características fenotípicas de los pacientes con síndrome de Beckwith-Wiedeman (SBW) y Silver-Russell (SSR). El paciente 1 (A-C) y el paciente 2 (D-F) con SBW mostraron crestas lobulares (A-D) y fosetas retroauriculares (B,E), además de un onfalocele pequeño (C) y grande (F), respectivamente. El paciente 3 (G) y el paciente 4 (H) con SSR presentaron hemihipoplasia de miembro pélvico inferior derecho (G) e izquierdo (H), respectivamente.

amplificadas por PCR, separadas por electroforesis capilar (ABI-3100 genetic analyzer) y analizadas con el programa Coffalyser® (MRC-Holland, Ámsterdam, Países Bajos), con el que se interpretaron las variaciones en el número de copias y patrones de metilación.<sup>20</sup>

## Resultados

### Paciente 1 (SBW)

Paciente femenina con diagnóstico prenatal (a las 28 semanas de gestación) de onfalocele y





**Tabla 2. Hallazgos fenotípicos y resultados del ensayo de MS-MLPA en las pacientes estudiadas con los síndromes Beckwith-Wiedemann y Silver Russell**

Pacientes con síndrome de Beckwith- Wiedemann		
Características clínicas	Paciente 1	Paciente 2
Sexo	Femenino	Femenino
Edad gestacional (semanas)	37	38
Manifestaciones cardinales <sup>†</sup>		
Macroglosia	+	+
Onfalocele	+	+
Sobrecrecimiento lateralizado	-	-
Características sugestivas		
Macrosomía	+	+
<i>Nevus flammeus</i>	+	+
Polihidramnios o placenta grande	+/Se ignora	-/Se ignora
Fosetas o crestas en auriculares	+	+
Hipoglucemia transitoria	-	+
Nefromegalia o hepatomegalia	+	-
Ensayo de MS-MLPA		
Sin digestión con Hhal	rsa 11p15.5(MLPA ME030) x2	rsa 11p15.5(MLPA ME030) x2
Número de copias (NC)	2 (MM)	2 (MM)
Relación de NC	1.09	1.11
Porcentaje de metilación	100 %	100 %
Relación NC posdigestión Hhal	KCNQ1OT1 (0.15)/H19 (1.36)	KCNQ1OT1 (0.07)/H19 (0.55)
Mecanismo causal	DUP paterna	Hipometilación del IC2
Pacientes con síndrome de Silver-Russell		
	Paciente 3	Paciente 4
Sexo	Femenino	Femenino
Edad gestacional (semanas)	36	38
Criterios NH-CSS <sup>‡</sup>		
Retraso del crecimiento prenatal	+	+
Retraso del crecimiento posnatal	+	+
Macrocefalia relativa	+	+
Frente prominente	+	+
Asimetría corporal	+	+
Problemas para alimentación	+	+
Ensayo de MS-MLPA		
Sin digestión con Hhal	rsa 11p15.5(MLPA ME030) x2	rsa 11p15.5(MLPA ME030) x2
Número de copias (NC)	2 (MM)	2 (MM)
Relación de NC	1.03	1.16
Porcentaje de metilación	100 %	100 %
Relación NC posdigestión Hhal	H19 (0.15)	H19 (0.19)
Mecanismo causal	Hipometilación del IC1	Hipometilación del IC1

<sup>†</sup>Criterios del BWS Consensus Statements (BWSCS).<sup>6</sup><sup>‡</sup>Puntuación clínica de Netchine-Harbison y Clinical Scoring System (NH-CSS).<sup>17</sup>

polihidramnios. Hija de de padres sanos no consanguíneos, sin productos previos alterados, con peso de 3710 g (> p90) y talla de 50 cm (p75-90). Como hallazgos clínicos (Figura 2 y Tabla 2) se encontró

puntuación de 9 con los criterios BWSCS,<sup>6</sup> comunicación interauricular tipo *ostium secundum* por ultrasonografía cardiaca y nefromegalia por ultrasonografía renal. Los resultados de laboratorio fueron normales.

Falleció al mes de edad por sepsis relacionada con el onfalocele. Con el ensayo de MS-MLPA no se detectaron variaciones en el número de copias y su análisis de metilación mostró ganancia de metilación del IC1 y PDM del IC2 (Tabla 2 y Figura 3), indicativas de DUP(11)Pat.

### Paciente 2 (SBW)

Paciente femenina producto de padres sanos no consanguíneos, sin antecedentes heredofamiliares relevantes, con peso de 4020 g (> p90) y talla de 59 cm (> p90). Como hallazgos clínicos (Figuras 2 y Tabla 2), con puntuación de 9 conforme a los criterios del BWSCS.<sup>6</sup> Presentó lóbulo auricular izquierdo bífido y comunicación interauricular tipo *ostium secundum*. La tomografía axial computarizada de cráneo y la ultrasonografía abdominal fueron normales. Sin desarrollo de tumores en ocho años. El ensayo de MS-MLPA no detectó variaciones en el número de copias en 11p15.5 ni en la metilación, pero identificó un patrón de PDM del IC2 del cromosoma materno (Tabla 2 y Figura 3).

### Paciente 3 (SSR)

Paciente femenina hija de padres sanos no consanguíneos, producto de embarazo normoevolutivo, con retardo del crecimiento intrauterino identificado por ultrasonografía prenatal. Nació a las 36 semanas de gestación, con peso de 1680 g (< p10), talla de 41 cm (< p10) y perímetro cefálico de 33 cm (p50-75). Los hallazgos clínicos se describen en la Tabla 2, con seis manifestaciones según los criterios NH-CSS.<sup>17</sup> Se observó *facies* triangular, labios delgados, clinodactilia y pliegue único de flexión en quintos dedos, pliegue palmar transversal único en mano derecha y zigodactilia de artejos, así como franca hemihipoplasia del miembro pélvico derecho (Figura 2). La tomografía axial computarizada y los estudios de laboratorio fueron normales. El ensayo de MS-MLPA no detectó variaciones en el número de copias en 11p15.5 y en su análisis de metilación se identificó un patrón de PDM del IC1 paterno (Figura 3).

### Paciente 4 (SSR)

Paciente femenina valorada por asimetría de miembro pélvico izquierdo, hija de padres sanos no consanguíneos. Cursó con retraso del crecimiento

intrauterino y oligohidramnios. El peso al nacimiento fue de 1935 g (< p10), talla de 39.5 cm (< p10) y perímetro cefálico de 32.9 cm (p50). Los hallazgos clínicos relevantes se describen en la Tabla 2 y Figura 3. Se identificaron las seis manifestaciones de los criterios NH-CSS.<sup>17</sup> Además, presentó hipertriosis frontal y auricular, *nevus flammeus* frontal, clinodactilia de quintos dedos y pliegue palmar transversal único bilateral. La resonancia magnética nuclear de cráneo, las ultrasonografías renal y cardíaca, así como los estudios de laboratorio fueron normales. El ensayo de MS-MLPA no detectó variaciones en el número de copias en 11p15.5 y el análisis de metilación mostró un patrón de PDM del IC1 paterno (Figura 3).

## Discusión

El análisis de MS-MLPA permitió identificar defectos moleculares en la región improntada 11p15.5 en las cuatro pacientes, y usarlos para diagnóstico, manejo, asesoramiento genético y riesgos de recurrencia de los SBW y SSR,<sup>3,6,7,14</sup> a un costo relativamente bajo. La cohorte fue pequeña, pero representativa del periodo evaluado.

En el SBW, la metilación de 11p15.5 por MS-MLPA resulta anormal, independientemente de si el mecanismo implicado es una PDM del IC2, ganancia de metilación del IC1, variaciones en el número de copias o por DUP(11)Pat (PDM del IC2, con ganancia de metilación simultánea del IC1), excepto mosaicismos de baja proporción.<sup>6,21</sup> El MS-MLPA de la paciente 1 indicó claramente una DUP(11)Pat (Tabla 2 y Figura 3), resultado que recomendaríamos confirmar mediante análisis de microsatélites. Contrario a lo observado en esta paciente, la PDM del IC2 en los casos de DUP(11)Pat se ha asociado previamente a una mayor frecuencia de sobrecrecimiento lateralizado (76 %) y menor frecuencia de onfalocelo (8 %),<sup>3,6</sup> mientras que la ganancia de metilación del IC1 parece implicar un riesgo aumentado de tumores (de 15 a 25 %), por pérdida de la función supresora de *H19*, como ocurre en los tumores con alteración epigenética aislada.<sup>22</sup> Otras manifestaciones asociadas a la DUP(11)Pat son anomalías renales, nefrocalcinosis y trastorno de espectro autista.<sup>3</sup>

El onfalocelo pequeño que presentó la paciente 2 se correlaciona con la ganancia de metilación del IC2 identificada mediante MS-MLPA (Tabla 2 y Figura 3), acorde con este subgrupo molecular (Tabla 1) y con riesgo bajo de tumor de Wilms (2.6 %),<sup>3,6</sup> no observado en esta paciente.



La cardiopatía congénita en ambas pacientes concuerda con PDM del IC2.<sup>3</sup> Los defectos de metilación encontrados mediante MS-MLPA en la paciente 1, con DUP(11)Pat, y en la paciente 2 (con PDM del IC2) indican riesgo de recurrencia bajo, como se observó en 85 a 90 % de los casos con SBW sin presentación familiar.<sup>23</sup> Solo las mutaciones puntuales de *CDKN1C* (40 % de casos familiares) y las microdeleciones de IC1 o microduplicaciones del IC2 suponen riesgo de recurrencia alto (en 50 % de los casos).<sup>3,5</sup>

Las dos pacientes con SSR presentaron las seis características diagnósticas indicadas en los criterios NH-CSS<sup>17</sup> e hipometilación del IC1 paterno en 11p15.5, una expresión paterna reducida de *IGF2* y una expresión materna incrementada de *H19*, que resulta en una severa restricción del crecimiento fetal (Figura 1), por lo que la MS-MLPA puede ser un estudio de primera línea en esta entidad.<sup>7,10,12-14,18</sup> La hipometilación del IC1 paterno ocurre en 60 % de los casos de SSR y correlaciona con la presencia de manifestaciones más clásicas y severas, incluida afectación del peso y talla al nacimiento, asimetría corporal, macrocefalia relativa y rasgos faciales característicos (Tabla 1), no observados en los casos que no involucran el IC1 de 11p15.5;<sup>7,17</sup> como en la disomía uniparental materna del cromosoma 7 de fenotipo leve; solo se registra 20 % con manifestaciones completas de SSR.<sup>18</sup> La marcada asimetría de extremidades observada (Figura 2) puede atribuirse a una variación tisular en el grado de hipometilación de IC1.<sup>10</sup> Finalmente, en 40 % de los pacientes con diagnóstico clínico de SSR no se logra identificar el defecto molecular o la causa.<sup>7,18</sup>

## Conclusiones

El análisis de MS-MLPA detectó defectos epigenéticos en la región 11p15.5 en las pacientes estudiadas. En las pacientes con SBW identificó DUP(11)Pat y PDM del IC2 materna, respectivamente. En las pacientes con SSR identificó hipometilación paterna del IC1. En ambas entidades, observamos una adecuada correlación genotipo-fenotipo con los defectos de metilación encontrados. Se confirmó la utilidad de la técnica como estudio de primera línea en pacientes con el diagnóstico clínico de SBW y SSR.

## Agradecimientos

Agradecemos a los pacientes y a sus padres, así como a todo el equipo del Centro de Registro e

Investigación sobre Anomalías Congénitas del Servicio de Genética correspondiente al Hospital Civil de Guadalajara “Dr. Juan I. Menchaca”.

## Financiamiento

Se recibió financiamiento de la Universidad de Guadalajara a través del fondo 243061 del Programa PROINPEP 2018.

## Conflicto de intereses

Los autores declaran no tener conflicto de intereses alguno.

## Responsabilidades éticas

**Protección de personas y animales.** Los autores declaran que para esta investigación no se han realizado experimentos en seres humanos ni en animales.

**Confidencialidad de los datos.** Los autores declaran que han seguido los protocolos de su centro de trabajo sobre la publicación de datos de pacientes.

**Derecho a la privacidad y consentimiento informado.** Los autores declaran que en este artículo no aparecen datos de pacientes.

## Bibliografía

- Butler MG. Genomic imprinting disorders in humans: a mini-review. *J Assist Reprod Genet.* 2009;26:477-486.
- Smith ZD, Chan MM, Mikkelsen TS, Gu H, Nike A, Regev A, et al. A unique regulatory phase of DNA methylation in the early mammalian embryo. *Nature.* 2012;484:339-344.
- Mussa A, Russo S, Larissa L, Rico A, Ferrero GB. (Epi)genotype-phenotype correlations in Beckwith-Wiedemann syndrome: a paradigm for genomic medicine. *Clin Genet.* 2016;89:403-415.
- Baskin B, Chouan S, Chen YA, Shuman C, Parkinson N, Lemire E, et al. High frequency of copy number variations (CNVs) in the chromosome 11p15 region in patients with Beckwith-Wiedemann syndrome. *Hum Genet.* 2014;133:321-330.
- Shuman C, Beckwith JB, Weksberg R. Beckwith-Wiedemann syndrome. En: Adam MP, Mirza GM, Pagon RA, Wallace SE, editores. *Gene Reviews®*. EE. UU.: University of Washington; 2021.
- Brigued F, Kalish JM, Moussa A, Foster AC, Blake J, Ferrero GB, et al. Expert consensus document: Clinical and molecular diagnosis, screening and management of Beckwith-Wiedemann syndrome: an international consensus statement. *Nat Rev Endocrinol.* 2018;14:229-249.
- Saai HM, Harbison MD, Net chine I. Silver-Russell syndrome. En: Adam MP, Mirza GM, Pagon RA, Wallace SE, editores. *Gene Reviews®*. EE. UU.: University of Washington; 2021.
- Blake J, Maas S, Alders M, Merks JH, Maneens M. Epigenotype, phenotype, and tumors in patients with isolated hemihyperplasia. *J Pediatr.* 2008;153:95-100.
- Tan TY, Amor DJ. Tumour surveillance in Beckwith-Wiedemann syndrome and hemihyperplasia: a critical review of the evidence and suggested guidelines for local practice. *J Paediatr Child Health.* 2006;42:486-490.
- Zeschnigk M, Albrecht B, Buiting K, Kanber D, Eggermann T, Binder G, et al. IGF2/H19 hypomethylation in Silver-Russell syndrome and isolated hemihypoplasia. *Eur J Hum Genet.* 2008;16:328-334.
- Scott RH, Douglas J, Baskcomb L, Huxter N, Barker K, Hanks S, et al. Constitutional 11p15 abnormalities, including heritable imprinting center mutations, cause nonsyndromic Wilms tumor. *Nat Genet.* 2008;40:1329-1334.



12. Dikow N, Nygren AO, Schouten JP, Hartmann C, Krämer N, Janssen B, et al. Quantification of the methylation status of the PWS/AS imprinted region: comparison of two approaches based on bisulfite sequencing and methylation-sensitive MLPA. *Mol Cell Probes*. 2007;21:208-215.
13. Scott RH, Douglas J, Baskcomb L, Nygren AO, Birch JM, Cole TR, et al. Methylation-specific multiplex ligation-dependent probe amplification (MS-MLPA) robustly detects and distinguishes 11p15 abnormalities associated with overgrowth and growth retardation. *J Med Genet*. 2008;45:106-113.
14. Priolo M, Sparago A, Mammi C, Cerrato F, Laganà C, Riccio A. MS-MLPA is a specific and sensitive technique for detecting all chromosome 11p15.5 imprinting defects of BWS and SRS in a single-tube experiment. *Eur J Hum Genet*. 2008;16:565-571.
15. Duffy KA, Cielo CM, Cohen JL, González-Gandolfi CX, Griff JR, Hathaway ER, et al. Characterization of the Beckwith-Wiedemann spectrum: Diagnosis and management. *Am J Med Genet C Semin Med Genet*. 2019;18:693-708.
16. Netchine I, Rossignol S, Dufourg MN, Azzi S, Rousseau A, Perin L, et al. 11p15 imprinting center region 1 loss of methylation is a common and specific cause of typical Russell-Silver syndrome: clinical scoring system and epigenetic-phenotypic correlations. *J Clin Endocrinol Metab*. 2007;92:3148-3154.
17. Azzi S, Salem J, Thibaud N, Chantot-Bastaraud S, Lieber E, Netchine I, et al. A prospective study validating a clinical scoring system and demonstrating phenotypical-genotypical correlations in Silver-Russell syndrome. *J Med Genet*. 2015;52:446-453.
18. Wakeling EL, Brioude F, Lokulo-Sodipe O, O'Connell SM, Salem J, Blik J, et al. Diagnosis and management of Silver-Russell syndrome: first international consensus statement. *Nat Rev Endocrinol*. 2017;13:105-124.
19. Spiteri BS, Stafrace Y, Calleja-Agius J. Silver-Russell syndrome: a review. *Neonatal Netw*. 2017;36:206-212.
20. MRC Holland [internet]. Países Bajos: SALSA MLPA Probemix ME030 BWS/RSS; 2021.
21. Eggermann T, Algar E, Lapunzina P, Mackay D, Maher ER, Mannens M, et al. Clinical utility gene card for: Beckwith-Wiedemann syndrome. *Eur J Hum Genet*. 2014;22(3).
22. Blik J, Maas SM, Ruijter JM, Hennekam RC, Alders M, Westerveld A, et al. Increased tumour risk for BWS patients correlates with aberrant H19 and not KCNQ1OT1 methylation: occurrence of KCNQ1OT1 hypomethylation in familial cases of BWS. *Hum Mol Genet*. 2001;10:467-476.
23. Niemitz EL, DeBaun MR, Fallon J, Murakami K, Kugoh H, Oshimura M, et al. Microdeletion of LIT1 in familial Beckwith-Wiedemann syndrome. *Am J Hum Genet*. 2004;75:844-849.