

ESTUDO RETROSPECTIVO DE FAMÍLIA COM SÍNDROME DE STICKLER

SÍNDROME DE STICKLER EM FAMÍLIA PARANAENSE

FAMILY WITH STICKLER SYNDROME: A CASE REPORT

Relato de caso

Christopher Pereira¹
Salmo Raskin²
Liya Mikami³
Lilian Pereira-Ferrari⁴

Recebido em 15 de fevereiro de 2016

Aceito em 25 de fevereiro de 2016

RESUMO

Objetivo: caracterização e análise da Síndrome de Stickler (SS) com base em revisão literária e análise retrospectiva de prontuário de portador de SS. **Métodos:** As pesquisas bibliográficas foram realizadas nas bases de dados eletrônicos Pubmed, Scielo e prontuário médico. A análise molecular foi realizada por meio de sequenciamento completo do gene *COL2A1*. **Resultados:** Foi detectada no paciente a mutação p.arg501X no gene *COL2A1*, herdada de forma autossômica dominante. É importante destacar que até então esta mutação não havia sido descrita na literatura, associada aos sinais clínicos característicos de pacientes com SS. **Conclusões:** No paciente avaliado foi possível a confirmação por meio de avaliação molecular que se destaca como um fator importante, pois a partir do diagnóstico comprovado o tratamento precoce pode ser introduzido e contribuir uma melhor qualidade de vida para o paciente com SS, bem como para o aconselhamento genético dos familiares deste.

Descritores: Síndrome de Stickler, mutação, gene *COL2A1*.

ABSTRACT

Objective: characterization and analysis of the Stickler syndrome (SS) based on literature review and retrospective analysis of medical records of carrier SS. **Methods:** The literature searches were carried out in electronic databases Pubmed, Scielo and medical records. Molecular analysis was performed by sequencing of the complete *COL2A1* gene. **Results:** Was detected in the patient p.arg501X mutation in the *COL2A1* gene, inherited in an autosomal dominant manner. It is important to note that so far this mutation had not been described in the literature, associated characteristics clinical signs of patients with SS. **Conclusions:** In the evaluated patient was possible confirmation by molecular assessment that stands out as an important factor, as from early treatment proven diagnosis can be introduced and contribute a better quality of life for the patient with SS, and to genetic counseling of his family.

Key-Words: Sickler's Syndrome, mutations, *COL2A1* gene

¹Graduado em Biomedicina; e-mail: christopher_biomedico@hotmail.com; lates: <http://lattes.cnpq.br/4334107068117267>. ²Dr. em Genética; e-mail: genetika@genetika.com.br; Lates: <http://lattes.cnpq.br/3144868954650115>. ³Dra. em Genética; e-mail: liyamikami@unibrasil.com.br; Lates: <http://lattes.cnpq.br/9789313051688657>. ⁴Dra. em Genética; e-mail: lilian@unibrasil.com.br; Lates: <http://lattes.cnpq.br/3707333276685938>. Rua Konrad Adenauer, 442 – Tarumã – 82821-020 – Curitiba – PR Fone 55(41)3361-4298 ou 3361-4229 FAX : 55(41) 3361-4200.

INTRODUÇÃO

A Síndrome de Stickler (SS) é uma doença cujo sinal predominante é o descolamento de retina, com frequência de cerca de 1 em 7.500 a 9.000 nascidos vivos, de ambos os gêneros^(1,2). É uma doença de caráter autossômico dominante, em que um alelo alterado é suficiente para causar a síndrome^(1,2), a doença se caracteriza por anormalidades esqueléticas, anomalias orofaciais, perda auditiva, miopia grave e cegueira devido ao descolamento da retina^(2,4).

É uma doença do tecido conjuntivo, gerada devido a mutações que acometem os genes que codificam o colágeno: *COL2A1*; *COL11A1*; *COL11A2*^(2,4), cujo tecido é encontrado, nas cartilagens articulares, estruturas oculares e auditivas, dentre diversas outras áreas do corpo^(3,5).

A família do colágeno é constituída por mais de 20 tipos diferentes, sendo a proteína em maior abundância no organismo, representa cerca de 30% do peso seco no corpo humano e possui como principal função o favorecimento de força tênsil^(3,5).

A SS é classificada de acordo com o gene no qual ocorre a mutação: Tipo I (mutação no gene *COL2A1*)⁽⁶⁾ caracterizada pelo descolamento de retina, cegueira, glaucoma, alta-miopia⁽⁷⁾, perda auditiva neurosensorial leve⁽⁸⁾, tipo II (mutação no gene *COL11A1*) se caracteriza também por descolamento de retina, catarata e glaucoma, além de miopia antes dos seis anos de idade, alterações auditivas e visuais. Já a tipo III (mutação no gene *COL11A2*) ou “não-ocular”⁽⁹⁾ não está relacionada com problemas oculares⁽⁷⁾.

O gene *COL2A1* que codifica colágeno tipo II é composto por 54 exons e está localizado no cromossomo 12 locus q13. Alterações neste gene estão relacionadas com o fenótipo vítreo membranoso ou tipo I da SS, possuindo característica congênitas de anormalidade vítreo, que consiste em um gel vestigial no espaço retrolental, delimitado por uma dobra membranosa⁽⁷⁾. Mutação causada por uma transição no sítio doador 5' do intron 25, causando códons de terminação prematuros que resultam em haploinsuficiência de colágeno tipo II^(10,11,12).

O gene *COL11A1* codifica a cadeia alfa-1 do colágeno é composto por 68 exons e está localizado no cromossomo 1 locus p21. Mutações neste gene são relacionados com o fenótipo vítreo frisado ou tipo II da SS, relacionado a surdez⁽¹³⁾. Richards e colaboradores⁽¹³⁾ descreveram uma mutação resultante da mudança de um único par de bases de guanina por timina levando a substituição de glicina para valina na posição 97 e ruptura da sequência de aminoácidos, causando uma subprodução na cadeia alfa-1e causando uma subprodução do

colágeno⁽¹²⁾. O gene *COL11A1* está intimamente relacionado com a síndrome de Marshall, uma doença caracterizada por miopia, catarata, anomalias craniofaciais, perda auditiva, devido a uma alteração no local do processamento do RNA (splicing)^(13,14). O início e o grau da perda auditiva são características clínicas utilizadas para se diferenciar Síndrome de Stickler e Síndrome de Marshall⁽¹⁴⁾.

O gene *COL11A2* que codifica a cadeia alfa-2 do colágeno é composto por 66 exons e está localizado no cromossomo 6 locus p21.3, e não está associado a nenhum fenótipo típico de SS. Neste gene foi descrita uma mutação do tipo sem sentido, causada pela deleção de 27 pares de bases (pb) no exon 39⁽¹⁵⁾.

A literatura descreve também Síndrome de Stickler de caráter autossômico recessivo^(2,16), causada por mutação de perda de função em um dos genes (*COL9A1*, *COL9A2*, *COL9A3*) da família que codifica o colágeno tipo IX, associado a características clínicas como alta miopia e degeneração vítreo-retiniana⁽¹⁶⁾.

O gene *COL9A1* está localizado no cromossomo 6 locus q13 é composto por 38 exons, neste gene a literatura descreve mutação que altera o processamento do RNA, resultante de uma deleção de enquadramento do exon oito e / ou exon 10, gerando um fenótipo caracterizado por displasia epifisária múltipla^(17,18).

O gene *COL9A2* está localizado no cromossomo 1 locus p37 é composto por 32 exons que codifica a subunidade alfa-2 de colágeno do tipo IX, a literatura descreve uma única mutação causada por deleção de oito pb no gene *COL9A2*⁽¹⁶⁾.

Estudos Brasileiros sobre a SS são raros. O primeiro estudo baseou-se na investigação da sequência de Robin⁽¹⁹⁾ (descrita na literatura como uma tríade de anormalidades, que caracterizam-se por micrognatia, glossoptose e fissura de palato que são caracterizadas clinicamente pela obstrução das vias aéreas e dificuldades alimentares)⁽²⁰⁾ em crianças, através da identificação da tríade^(19,20).

Dias, Salem e Filho em 2006 realizaram um estudo com 25 pessoas de uma família formada por 33 indivíduos. Em sua pesquisa utilizaram exames oftalmológicos, baseados em: acuidade visual, ectoscopia, exame de motilidade ocular, tonometria, biomicroscopia do segmento anterior e mapeamento de retina, radiografias e avaliação clínica para diagnóstico da SS tipo II⁽⁷⁾.

Já o grupo de Zechi-ceide⁽²²⁾ descrevem 21 famílias brasileiras não relacionadas (78 pacientes) com avaliação clínica e molecular, com os diagnósticos baseados na presença de fissura de palato associada a anormalidades faciais e oculares. Os autores confirmam que a presença de fissura de palato com associação as anormalidades faciais e oculares são

eficientes para a identificação da Síndrome de Stickler, assim como a inclusão do subdesenvolvimento da epífise distal da tíbia lateral⁽²¹⁾.

Antunes, Alonso e Paula em 2012, descrevem uma possível correlação entre características clínicas e oftalmológicas, idade e sequência de Robin em pacientes com SS. Em sua pesquisa envolvendo 98 pacientes com SS, os autores visaram identificar alterações oculares e associação com sequência de Robin. Para a inclusão no estudo o indivíduo deveria apresentar a seguinte tríade: fenda palatina, anormalidades faciais e anormalidades oculares. Os autores afirmam que cinquenta por cento dos indivíduos diagnosticados com Síndrome de Stickler, apresentavam sequência de Robin⁽²²⁾.

Devido à incidência da síndrome, e quão importantes são as suas consequências, a detecção desta torna-se um “fator crucial” para o acompanhamento do paciente SS, dessa maneira o presente trabalho consiste em uma análise retrospectiva de prontuários de um paciente paranaense com confirmação molecular do diagnóstico de Síndrome de Stickler.

METODOLOGIA

Esta pesquisa foi aprovada pelo Comitê de Ética em Pesquisa do Centro Universitário Autônomo do Brasil – UniBrasil, sob o parecer 309.434. Foi incluído neste estudo de caso, uma família com pelo menos um paciente com Síndrome Stickler, avaliado em um laboratório de genética de Curitiba, sob supervisão de geneticista.

Foi realizada uma avaliação criteriosa do prontuário médico do paciente, sendo que o paciente e o responsável foram informados sobre o projeto e assinaram um termo de consentimento livre e esclarecido (TCLE), autorizando a participação na pesquisa.

Foi coletado 5 mL sangue venoso periférico, do paciente, em tubo com EDTA e a amostra foi submetida à extração de DNA pelo método de Lahiri e Nunberger⁽²⁴⁾. Uma alíquota do DNA do paciente foi submetida à Reação em Cadeia da Polimerase (PCR) de 54 exons do gene *COL2A1* e de 67 exons do gene *COL11A1*. Para triagem do produto de PCR foi utilizada técnica de Eletroforese em Gel Sensível a Desnaturação (SGDE) e sequenciamento dos fragmentos alterados⁽²⁵⁾.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Paciente do gênero masculino, 29 anos, natural da região rural do interior do Paraná, cujo heredograma está expresso na figura 1. Em relação aos sinais clínicos, o paciente

apresenta descolamento do vítreo ocular, sinal descrito na literatura como característico da SS tipo I, corroborando os trabalhos de Dias ⁽⁷⁾, Richards ⁽¹³⁾, Richards ⁽⁴⁾ e GHR ⁽²⁾.

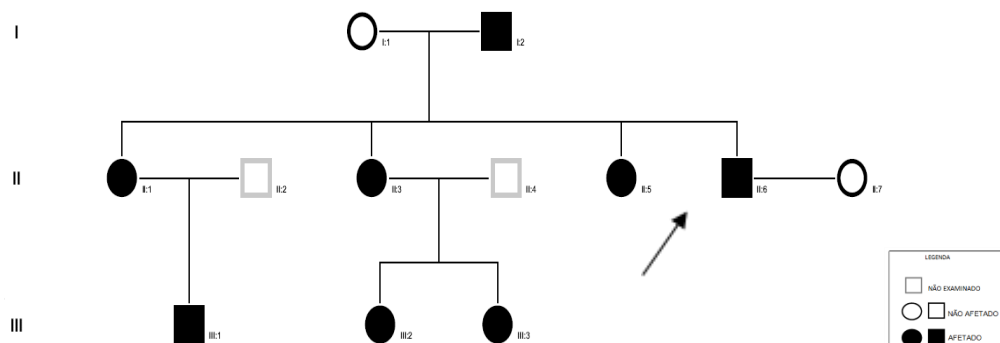


Figura 1: Heredograma do paciente (II-R6).

FONTE: o autor.

Por meio de análise do heredograma, baseado em dados do prontuário pode-se ainda inferir o modo de herança, tendo em vista que indivíduos nas três gerações são afetados, corroborando a literatura ^(4,26) que descreve herança autossômica dominante.

Os resultados obtidos por meio da análise genética do DNA do paciente confirmaram a hipótese diagnóstica da Síndrome de Stickler, sendo detectada a mutação p.arg501X do gene *COL2A1*. Mutação esta que até então ainda não havia sido descrita na literatura segundo The Universal Mutation Database ⁽²⁷⁾.

A mutação detectada no paciente está localizada na posição 501 da proteína, gerando um códon de parada prematuro, de forma que a tradução é interrompida muito antes do final da codificação da proteína, resultando em células com haploinsuficiência do colágeno tipo II ^(10,11,12).

O grupo de Ahmad foi o pioneiro em descreveram mutações com alteração do aminoácido arginina por um códon de parada prematura, no gene *COL2A1* (arg732stop ⁽²⁸⁾ e arg9stop ⁽¹¹⁾), semelhantes à mutação identificada no paciente (figura 2). Os pesquisadores descrevem que mutação que gera um códon de parada prematuro no gene *COL2A1* altera a biossíntese de pró-colágeno, impedindo a conformação necessária entre as cadeias para formar a tripla hélice do colágeno tipo II e, por conseguinte, a mutação diminui a síntese de pró-colágeno de tipo II ^(11, 28). Várias pesquisas sequencialmente identificaram este tipo de mutação associados a SS e também associados à Osteogênese Imperfeita e ainda discutem porque deste tipo de mutação gerar alterações acentuadas nos olhos (retinas), que contém

apenas pequenas quantidades de colágeno do tipo II, mas efeitos relativamente leves sobre as muitas estruturas cartilaginosas do corpo que são ricas na mesma proteína^(11, 28, 29, 30).

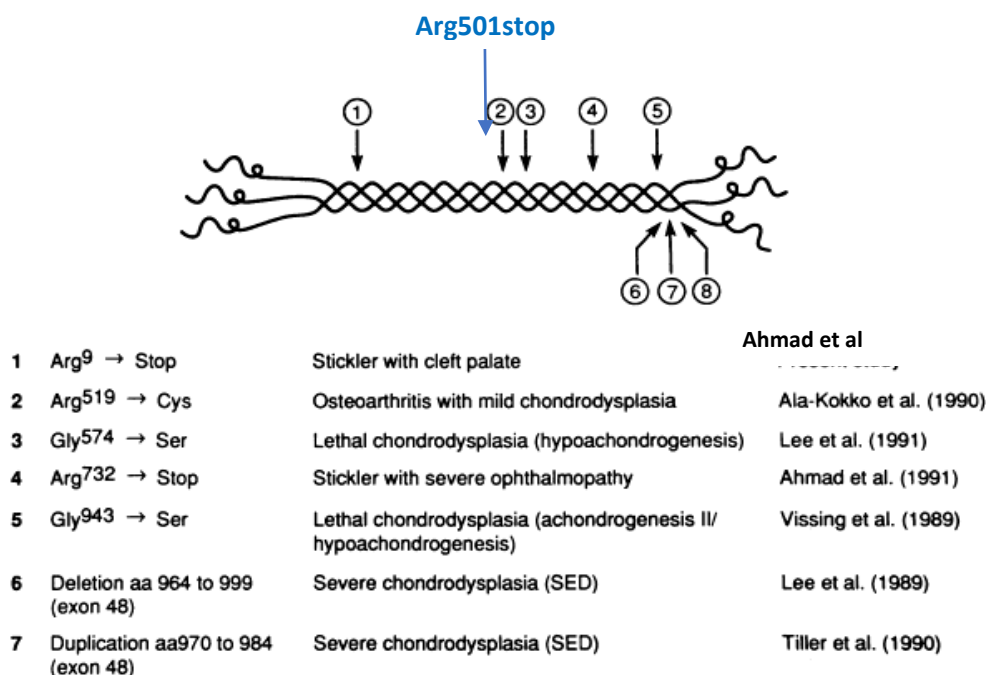


Figura 2: Resumo das mutações descritas no gene COL2A1 e fenótipos clínicos associados. (Adaptado de Ahmad et al 1993). Com indicação da mutação descrita no presente trabalho p.arg501X.

Esta pesquisa ressalta a importância da confirmação da hipótese diagnóstica pela análise molecular, pois devido a observação de distintas características na síndrome o diagnóstico um fator relevante para o portador, e para o tratamento precoce, controlando os sintomas e propiciando uma melhor qualidade de vida. Dentre os fatores relevantes no diagnóstico molecular além do tratamento precoce, destaca-se a detecção de outros afetados na família, o aconselhamento Genético, com a possibilidade de usar o conhecimento da mutação para futuro diagnóstico pré-implantacional e pré-natal em gestação de membros desta família.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. THOMPSON E THOMPSON. **Genética Médica**; editora guanabara, 6^o edição, 2002.
2. GHR (Genetic homes reference) Disponível em <http://ghr.nlm.nih.gov/condition/stickler-syndrome>. Acessado em 26 de Dezembro 2012 – EUA Departamento de Saúde, 2008.
3. JUNQUEIRA C L, CARNEIRO J. **Histologia Básica**; editora guanabara, 1^o edição, 2004.

4. RICHARDS A, MCNINCH U, MARTIN H, OAKHILL K R H, WALLER S, TREACY B, et al. **Stickler syndrome and the vitreous phenotype: mutations in COL2A1 and COL11A1.** *Mutat Hum* 2010, 2010; 31 (6): E1461-71.
5. YOUNG B, HEATH J W, STEVENS A, LOWE J S, DEAKIN P J. **Wheater's functional histology**; editor guanabara; 4º edição, 2001.
6. SPRANGER J, WINTERPACHT A, ZABEI B. **The type II collagenopathies: a spectrum of chondrodysplasias.** *Eur J Pediatr.* 1994; 153 (2):56-65.
7. DIAS V G, SALEM C M, FILHO C C B. **Avaliação genética e oftalmológica de pacientes com síndrome de Stickler tipo II.** *Arq Bras Oftalmol.* 2006,2006;69(6):881-7.
8. HOORNAERT K P, VEREECKE I, DEWINTER C, ROSENBERG T, BEEMER F A, LEROY J G, et al. **Stickler syndrome caused by COL2A1 mutations: genotype–phenotype correlation in a series of 100 patients.** *Eur J Hum Genet* 2010; 18(8): 872–880.
9. PALHETA-NETO F X, SILVA D L, ALMEIDA H G, D'OLIVEIRA M S, NEIVA M M, PEZZIN-PALHETA A C. **Síndrome de Stickler, Aspectos gerais.** Disponível em http://www.moreirajr.com.br/revistas.asp?fase=r003&id_materia=3937. Acessado em 09 de Fevereiro, 2013, Lilacs n°S0031-39202008002000004.
10. RICHARDS A J, BAGULEY D M, YATES J R W, PISTA C, NICOL M, HARPER P S, et al. **Variation in the Vitreous Phenotype of Stickler Syndrome Can Be Caused by Different Amino Acid Substitutions in the X Position of the Type II Collagen Gly-X-Y Triple Helix.** *American Journal of Human Genetics*, 2000; Volume 67, Issue 5 , 1083-1094.
11. AHMAD N N, MCDONALD-MCGINN M S, ZACKAI E H, KNOWLTON R G, LAROSSA D, DIMASCIO J, et al. **A second mutation in the type II procollagen gene (COL2A1) causing stickler syndrome (arthro-ophthalmopathy) is also a premature termination codon.** *Am. Hum J.. Genet* 1993;52:. 39-45.
12. FREDDI S, SAVARIRAYAN R, BATEMAN J F. **Molecular diagnosis of Stickler syndrome: A COL2A1 stop codon mutation screening strategy that is not compromised by mutant mRNA instability.** *Am J Med Genet*, 2000 Feb 28; 90(5):398-406.
13. RICHARDS A J, YATES J R W, WILLIAMS R, PAYNE S J, POPE F M, SCOTT J D, SNEAD M P. **A Family with Stickler Syndrome Type 2 Has a Mutation in**

- the COL11A1 Gene Resulting in the Substitution of Glycine 97 by Valine in $\alpha 1(XI)$ Collagen.** *Human Molecular Genetics*, American Journal of Human Genetics, 1996, Volume 5, Issue 9; Pp. 1339-1343.
14. GRIFFITH A J, GEBARSKI S S, SHEPARD N T, KILENY P R. **Audiovestibular phenotype associated with a COL11A1 mutation in Marshall syndrome.** *Arch Chefe Otolaryngol Neck Surg*, 2000.
 15. SZYMKO-BENNETT Y M, MASTROIANNI M A, SHOTLAND L I, DAVIS J, ONDREY F G, BALOG J Z, et al. **Auditory dysfunction in Stickler syndrome.** *Arch Chefe Otolaryngol Neck Surg* 2001; 127(9):1061-8.
 16. SIRKO-OSADSA D A, MURRAY M A, SCOTT J A, LAVERY M A, WARMAN M L, ROBIN N H. **Stickler syndrome without eye involvement is caused by mutations in COL11A2, the gene encoding the $\alpha 2(XI)$ chain of type XI collagen.** *The Journal of Pediatrics*, 1998, Volume 132, Issue 2, P. 368–371.
 17. BAKER S, BOOTH C, FILLMAN C, SHAPIRO M, BLAIR M P, HYLAND J C, ALA-KORKKO. **A loss of function mutation in the COL9A2 gene causes autosomal recessive Stickler syndrome.** *Am J Med Genet A* 2011; 55A(7):1668-72.
 18. CAMP G V, SNOECKX R L, HILGERT N, ENDE J V D, FUKUOKA H, WAGATSUMA, et al. **A New Autosomal Recessive Form of Stickler Syndrome Is Caused by a Mutation in the COL9A1 Gene.** *Am J Hum Genet*, 2006; 79(3): 449–457.
 19. CZARNY-RATAJCZAK M C, LOHINIVA J, ROGALA P, KOZLOWSKI K, PERALA M, CARTER L, et al. **A Mutation in COL9A1 Causes Multiple Epiphyseal Dysplasia: Further Evidence for Locus Heterogeneity.** *Am J Hum Genet*, 2001; 69(5): 969–980.
 20. MARQUES I L, BARBIERI M A, BETTIOL H. **Etiopathogenesis of isolated Robin sequence.** *Cleft Palate Craniofac J*, 1998; 35(6):517-25.
 21. MARQUES I L, SOUZA T V, CARNEIRO F C, PERES S B A, BARBIERI M A, BETTIOL H. **Seqüência de Robin – protocoloúnico de tratamento.** *Jornal de Pediatria*, 2005.
 22. ZECHI-CEIDE R M, JESUS-OLIVEIRA N A, GUION-ALMEIDA M L, ANTUNES L F, RICHIERI-COSTA A, PASSOS-BUENO M R. **Clinical evaluation and COL2A1 gene analysis in 21 Brazilian families with Stickler syndrome: identification of novel**

- mutations, further genotype/phenotype correlation, and its implications for the diagnosis.** Eur J Med Gene,2008; 51(3):183-96.
23. ANTUNES R B, ALONSO N, PAULA R G. **Importance of early diagnosis of Stickler syndrome in newborns.**J PlastReconstrAesthetSurg , 2012; 65(8):1029-34.
24. LAHIRI DK, NURNBERGER JR JI. **A rapid non-enzymatic method for the preparation of HMW DNA from blood for RFLP studies.** Nucleic Acids Research 1991; 19(19): 5444
25. KORKKO J, ANUUNEN S, PIHLAJAMAA T, PROCKOP D, KORKKO A L. **Conformation sensitive gel electrophoresis for simple and accurate detection of mutations: Comparison with denaturing gradient gel electrophoresis and nucleotide sequencing.** ProcNatlAcadSci U S A; 1998; 95(4): 1681–1685.
26. ROBIN N H, MORAN M T, WARMAN M, ALA-KOKKO L. **Stickler Syndrome.;** Disponível em <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK1302/>. Acessado em 25 de Março 2013 - GeneReviews®, 2000.
27. The Universal Mutation Database, disponível em <http://www.umd.be/COL2A1/>. Acessado em 12/08/2015
28. AHMAD N N, KOKKO L A, KNOWLTON R G, JIMENEZ S A, WEAVER E J, MAGUIRE J I, TASMAN W, PROCKOP D J. **Stop codon in the procollagen II gene (COL2A1) in a family with the Stickler syndrome (arthro-ophthalmopathy).** Proc. Nati. Acad. Sci; 1991; 88:6624-6627.
29. SUEMORI S1, SAWADA A, SHIRAKI I, MOCHIZUKI K. **Stickler syndrome type 1 accompanied by membranous vitreous anomaly in two Japanese sisters.** Semin Ophthalmol. 2014 Jan;29(1):45-7
30. VILAPLANA F, MUIÑOS SJ, NADAL J, ELIZALDE J, MOJAL S. **Stickler syndrome. Epidemiology of retinal detachment.** Arch Soc Esp Oftalmol. 2015 Jun;90(6):264-8.