



**Centro Universitário de Brasília – UniCEUB**  
**Faculdade de Ciências da Saúde e Educação – FACES**  
**Curso de Biomedicina – Matutino**

KAROLLINE SANT'ANA VIEIRA

Síndrome de Kabuki  
Características e Diagnóstico Molecular

Trabalho de conclusão de curso  
apresentado no formato de artigo científico  
ao UniCEUB como requisito parcial para a  
conclusão do Curso de Bacharelado  
Biomedicina.

Orientador: Prof. Paulo Roberto Queiroz

Brasília – DF  
2015

A Deus por ter me dado saúde e força e aos meus pais que me deram apoio em todos os momentos fundamentais de minha vida.

## **AGRADECIMENTOS**

A Deus por ser essencial em minha vida, por me dar força, saúde e conseguir concluir mais uma etapa de muitas que ainda virão.

Aos meus pais, pelo amor, carinho, incentivo, pois sem eles nada disso teria acontecido.

A meu namorado que esteve ao meu lado durando toda essa jornada.

A todos os professores, em especial ao meu orientador Paulo Roberto Queiroz, pela oportunidade, paciência, auxílio sobre o tema, por transmitir todos os seus conhecimentos e por ter dedicado parte do seu tempo a mim.

Aos meus amigos, minha família e também a do meu namorado que sempre me apoiaram.

E a todos que direta ou indiretamente fizeram parte da minha formação, o meu muito obrigado.

Síndrome de Kabuki: características e diagnóstico molecular.

KAROLINE SANT'ANA VIEIRA<sup>1</sup>  
PAULO ROBERTO QUEIROZ<sup>2</sup>

### **Resumo**

O objetivo desse artigo é descrever as características genéticas da síndrome de Kabuki e correlacionar com o diagnóstico molecular. Essa revisão de literatura aborda o início da descoberta da SK e suas manifestações nos pacientes, principalmente a pêntade de Niikawa (face dismórfica; anomalias esqueléticas; alterações dermatoglíficas; leve a moderado retardo mental; retardo do crescimento pós-natal). O diagnóstico clínico tem relacionado uma série de características físicas presentes em pacientes com SK, mas o que se espera, sobre essa síndrome, é um consenso a respeito da relação entre o diagnóstico molecular, e as mutações presentes na SK. Uma hipótese tem sido analisada, na qual relata que o gene *MLL2* (*KMT2D*), por codificar a histona metiltransferase e regular a transcrição de um conjunto diverso de genes envolvidos na embriogênese e desenvolvimento, sofre mutação, e assim influencia na metilação das histonas, resultando na Síndrome de Kabuki.

Palavras-chave: Síndrome de Kabuki, Diagnóstico Molecular, Pêntade de Niikawa, *MLL2*, *KMT2D*, *KDM6A*, Metilação das Histonas.

Kabuki Syndrome: characteristics and molecular diagnostics.

### **Abstract**

The aim of this article is to describe the genetic characteristics of Kabuki syndrome and correlate with the molecular diagnosis. This literature review deals with the early discovery of SK and its manifestations in patients, especially the pentad of Niikawa (dysmorphic face, skeletal anomalies, dermatoglyphic change; mild to moderate mental retardation, postnatal growth retardation). Clinical diagnosis has related a series of physical characteristics present in patients with KS, but what is expected on this syndrome, is a consensus on the relationship between the molecular diagnosis, and mutations present in SK. A hypothesis has been analyzed, which reports that *MLL2* gene encoding for histone methyltransferase and regulate the transcription of a diverse set of genes involved in embryogenesis and development, is mutated, and thus affects the methylation of histones resulting in Kabuki syndrome.

Keywords: Kabuki syndrome, Molecular Diagnostics, Pentad of Niikawa, *MLL2*, *KMT2D*, *KDM6A*, Methylation of histones.

<sup>1</sup>Graduando no curso de Biomedicina do Centro Universitário de Brasília – UniCEUB

<sup>2</sup>Pós-doutor em Genética Molecular pela Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, professor do Curso de Biomedicina do Centro Universitário de Brasília.

## 1 INTRODUÇÃO

A Síndrome de Kabuki é um distúrbio bastante raro com múltiplas anomalias congênitas que teve sua nomenclatura inicialmente proposta por Niikawa et al. (1891). É também conhecida como Síndrome da maquiagem de Kabuki, por possuir as sobrancelhas e pálpebras dos olhos como características semelhantes a maquiagem utilizada pelos atores do teatro Kabuki, no Japão (FERREIRA et al., 2009). Atualmente, por ser considerado ofensivo aos pacientes, evita-se o termo “maquiagem” (make-up) e os atores do teatro Kabuki também não gostam do nome dessa síndrome por acharem ofensivo (SCHSRANDER-STUMPEL et al., 1994). Apesar de ter sido descoberta no Japão, já foram descritos casos dessa síndrome em todos os grupos étnicos (SANTOS et al., 2013). Niikawa e colaboradores (1988) relataram que a prevalência no Japão era de 1:32.000 nascidos vivos.

Em 1967, Norio Niikawa, um pediatra japonês, avaliou uma criança recém-nascida com a face possuindo traços diferentes e que não parecida com os pais. Posteriormente, evoluiu para déficit de crescimento e outras características, ficando sem diagnóstico na época (1891). Após isso, foram avaliados outros pacientes que além da face, apresentaram características clínicas em comum e percebeu-se que teria descoberto uma nova desordem clínica. Seus resultados foram apresentados em uma conferência no Japão em 1979. Nesta conferência estava um geneticista japonês, Yoshikazu Kuroki, que teria avaliado pacientes semelhantes aos de Niikawa e que foram apresentados na conferência do ano seguinte (SILVA, 2009). No ano de 1981 ambos os médicos publicaram em trabalhos independentes, seus resultados no *Journal of Pediatrics*, propondo ter descoberto uma síndrome genética (NIKAWA et al., 1981; KUROKI et al., 1981).

Essa malformação se caracteriza pela apresentação da pêntade de Niikawa, que consiste em cinco características fundamentais da doença: face dismórfica; anomalias esqueléticas; alterações dermatoglíficas; leve a moderado retardo mental; retardo do crescimento pós-natal. Também incluem como alterações: cardiopatias congênitas, anomalias gênito-urinárias, fenda lábio-alvéolo-palatina, anomalias gastrointestinais, oculares e dentárias, suscetibilidade aumentada para infecções e doenças autoimunes, convulsões, problemas endócrinos, surdez, entre outras

desordens (SANTOS et al., 2013).

Os pacientes possuem uma boa sobrevida por não apresentarem manifestações clínicas fatais, exceto se houver doenças como, por exemplo, renais, infecciosas, cardiovasculares graves ou hepáticas (MATSUMOTO; NIIKAWA, 2003).

Silva (2009) a partir de uma revisão dos casos descritos na literatura sugeriu um protocolo de acompanhamento em todo paciente com Síndrome de Kabuki: avaliação periódica do crescimento, pesquisa precoce de malformações cardíacas e renais, avaliação periódica da visão e audição, avaliação ortopédica e pesquisa da presença de luxação de quadril, avaliação da imunidade, monitoramento do desenvolvimento e da fala, avaliação odontológica precoce e suporte familiar durante todas as etapas do desenvolvimento.

No início da descoberta, as alterações genéticas ainda não eram descritas, pois as alterações cromossômicas eram incertas, mas em 1989 os autores descobriram que a síndrome tem herança autossômica dominante, com expressão variável e, também, é esporádica sem diferença entre os sexos. Também foi descoberta uma associação da síndrome com uma mutação no gene *MLL2* (*Mized Lineage Leukemia*) também conhecido como *KMT2D* e com menor porcentagem uma deleção no gene *KDM6A* (GRABRIELI et al., 2002; SANTOS et al., 2013).

A síndrome de Kabuki é causada por mutações no gene localizado no cromossomo 12q12 *MLL2*-q14 (braço longo do cromossomo 12, região 1, banda de 2 a 4). O gene *MLL2*, constituído por 45 éxons, codifica uma histona metiltransferase que regula a transcrição de um conjunto diverso de genes envolvidos na embriogênese e no desenvolvimento do indivíduo, ou seja, esse gene regula a transcrição de genes e na modelagem da estrutura da cromatina durante o desenvolvimento precoce, como também, na adesão celular, crescimento e na motilidade celular. Recentemente, um grupo de pesquisa descobriu o envolvimento do gene *KDM6A* em um pequeno grupo sem mutação no *MLL2*. Esse gene regula a atividade genética de *MLL2* nos processos de controle epigenéticos, modificando a sequência de bases do DNA com o processo da metilação, e pode ser responsável por casos de SK mesmo na ausência de mutações no *MLL2* (SANTOS et al., 2013).

O diagnóstico molecular é importante para a detecção da síndrome o mais precocemente, pois a abordagem clínica adequada resulta no melhor estabelecimento

da qualidade de vida do paciente. Ainda, o diagnóstico molecular é importante para o aconselhamento genético, podendo detectar as características genéticas da síndrome e, assim, otimizar os tratamentos adequados (BARRA et al., 2011).

O diagnóstico primeiramente é baseado em alterações clínicas, mas também é possível confirmar pelo estudo molecular do gene *MLL2* com a PCR (reação em cadeia da polimerase), verificando o diagnóstico pré-natal (com o líquido amniótico) e, também, pré-implantacional, sendo visível uma grande heterogeneidade alélica (SANTOS et al., 2013).

Desse modo, o objetivo do trabalho foi descrever as características genéticas da síndrome de Kabuki e correlacionar com o diagnóstico molecular.

## **2 METODOLOGIA**

Trata-se de uma revisão da literatura no formato narrativo, que segundo Cordeiro e colaboradores (2007) apresenta uma temática mais aberta quando comparada à revisão sistemática, dificilmente parte de uma questão específica bem definida e não exige um protocolo rígido para sua confecção.

Para isso foram pesquisados artigos científicos nas bases de dados Scielo, Lilacs, Pubmed, Ebsco, publicados entre 1981 (primeira publicação da SK) a 2014, por meio da utilização das palavras chave Síndrome de Kabuki, Diagnóstico Molecular, Pêntade de Niikawa, *MLL2*, *KMT2D*, *KDM6A*, Metilação das Histonas, bem como, as mesmas no idioma inglês e espanhol, além de materiais disponíveis em endereços eletrônicos específicos sobre a síndrome.

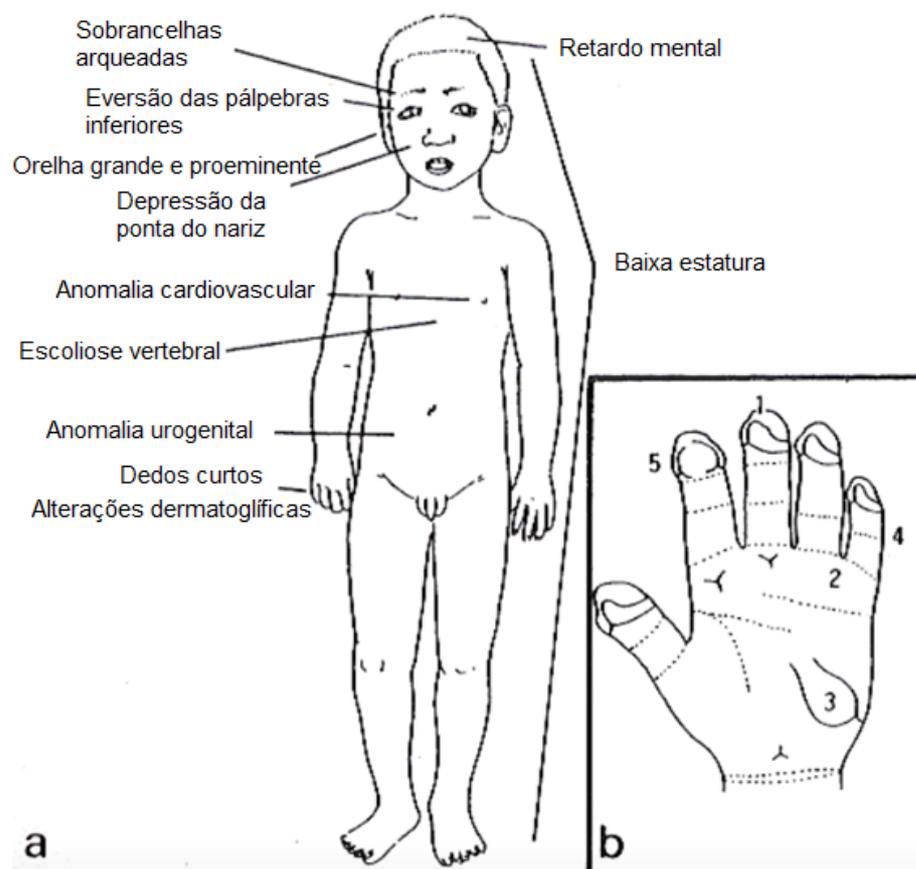
## **3 DESENVOLVIMENTO**

### **3.1 Características Clínicas**

Inicialmente os geneticistas buscam diagnosticar a doença com base na análise clínica, reconhecendo as cinco características mais comuns (face dismórfica 100%; anomalias esqueléticas 92%; alterações dermatoglíficas 93%; leve a moderado retardo mental 92%; retardo do crescimento pós-natal 83%), principalmente as faciais (KABUKI, 2011). Outras manifestações incluem: alterações gastrointestinais,

esqueléticas, odontológicas, oftalmológicas, neurológicas, dermatológicas, cardiológicas, hepáticas, orais, renais e do trato urinário, má formação cardíaca, problemas auditivos, flexibilidade das articulações, apnéia obstrutiva do sono, déficit cognitivo, além de susceptibilidade a infecções. Outras mais raras também foram encontradas como anemia, diarreia crônica, doença celíaca, vitiligo, diabetes e paralisia do diafragma (SANTOS, 2013).

Figura 1: a. Manifestações cardinais e achados clínicos mais frequentes da Síndrome de Kabuki. b. Alterações dos dermatóglifos.



Fonte: Adaptado de (NIKAWA, 1988).

Dentre as características faciais pode-se destacar palato alto ou fendido em mais de 80% dos pacientes, com menos frequência inclui epicanato, orelhas malformadas, lábios leporinos, micrognatia, baixa implantação de cabelo, microcefalia (SILVA, 2009). Também tem como características: sobrancelhas arqueadas interrompidas, pestanas longas e fendas palpebrais longas com eversão da parte lateral da pálpebra inferior, orelhas grandes, ponta nasal deprimida, cílios longos e

espessos, estrabismo, olhos grandes, septo nasal curto e covinha pré-auricular (SANTOS, 2006).

Desde as primeiras publicações a respeito da SK foram descritas anomalias de dentes (SILVA, 2009). Matsune e colaboradores (2001) identificaram alterações bucais em mais de 60% dos pacientes com Síndrome de Kabuki nas quais o palato profundo e ogival, maloclusão, arco dental curto, microdontia e hipodontia foram os mais encontrados, sendo que a maloclusão mais observada foi a mordida cruzada posterior causada pelo desenvolvimento deficiente da maxila. Outras manifestações bucais encontradas nos pacientes foram fissura labial e/ou palatina, ausência de incisivos e pré-molares, dentes coróides e incisivos com formato de chave de fenda.

Sobral (2010) a partir de um estudo realizado na Universidade de Brasília (UnB) a partir de 47 pacientes identificou várias alterações odontológicas, entre elas: presença de fissura labial (quando os processos maxilares não se fundem e podem ser uni ou bilaterais) e/ou palatina (falha na sincronização dos movimentos e cristas palatinas, língua, mandíbula e cabeça), presença de diastema (espaçamento entre os dentes, mais comum entre os incisivos centrais superiores), presença de apinhamento dentário (mau alinhamento dentário causado por desequilíbrio esquelético, tamanhos desiguais dos dentes, falta de espaço disponível), anegesia dentária (quando um dente é considerado congenitamente ausente), presença de incisivos em chave de fenda (formato de uma chave de fenda), microdontia (dente pequeno em comparado com adjacentes e opostos), presença de raiz supranumerária (número aumentado de raízes em um dente em comparação com um clássico), presença de formação incompleta da raiz, presença de defeitos do desenvolvimento do esmalte e cáries.

Quanto ao desenvolvimento fonoaudiológico, há pacientes com habilidades morfossintáticas restritas, dificuldades lexicais e pragmáticas. Há casos com alteração na voz, disartria, dispraxia de fala e alterações do som. Com o auxílio de um profissional da área, fazendo terapia de linguagem, o paciente obtém uma melhora na expansão do vocabulário, gestos, expressões faciais e, também, com um fonoaudiólogo, há avanços na emissão oral (BRITO, 2010).

Dentre as características oftalmológicas, além das pálpebras alongadas, as mais presentes são o estrabismo 49% e esclera azulada em 27% (NIIKAWA, 1988). Existem três formas de estrabismo, o mais comum é o convergente com desvio de um

dos olhos para dentro, mas pode ser também divergente, ou seja, com desvio para fora ou vertical, um olho fica mais alto ou mais baixo do que o outro (SOUSA et al., 2004).

Além da forma das orelhas, característica importante no diagnóstico, foram encontradas alterações otorrinolaringológicas, dentre elas, a otite média é a mais observada nos estudos feitos (82% dos casos) o que pode resultar em perda auditiva na maioria dos casos. Também foi encontrada a displasia de Mondidi, que é a anomalia mais comum do ouvido médio (IGAWAM et al., 2000).

Existem diversas características clínicas relacionadas à SK, sendo as principais relatadas na maioria das literaturas escritas, até a atualidade. A expressão das características da SK se desenvolve em cada paciente de forma individual, podendo ou não aparecer determinada característica clínica (tabela 1).

Tabela 1: Anomalias por órgãos totais e sistema oftalmológico descrito na literatura.

<b><u>Oftalmológicas (62%)</u></b>	<b><u>Anomalias do SNC (33%)</u></b>
Estrabismo	Hidrocefalia
Erros de refração	Ventriculomegália
Ptose palpebral	Colpocefalia
Microftalmia	Atrofia cortical
Coloboma	Quistos dos <i>plexus coroideus</i>
Microcórnea	
Nistagmo	<b><u>Anomalias Urogenitais (40%)</u></b>
Anomalias da pigmentação da retina	Refluxo vesico-ureteral
	Criptorquidia
<b><u>Anomalias Cardiovasculares (37%)</u></b>	Rim em ferradura
Coartação da aorta	Útero bicórneo
Defeito do septo interventricular	
Displasia da válvula aórtica	<b><u>Anomalias esqueléticas (81%)</u></b>
Miocardiopatia hipertrófica	Escoliose
	Vértebras anormais
<b><u>Anomalias gastrointestinais (25%)</u></b>	Displasia congénita da anca
Refluxo gastro-esofágico	Luxação da rótula
Lobo hepático supranumerário	Braquidactilia V dedo

Fonte: (DUPONT et al., 2010)

### 3.2 Diagnóstico

O diagnóstico da síndrome de Kabuki pode ser feito inicialmente pelo diagnóstico clínico. O diagnóstico molecular funciona como uma ferramenta de

comprovação genética, identificando mutações a serem consideradas na doença. O estudo molecular e a identificação de uma determinada mutação patogênica proporcionam não só o diagnóstico da SK propriamente dito, mas auxilia no diagnóstico pré-natal e, também, na pré-implantação (SANTOS et al., 2013).

A busca pelo diagnóstico precoce da SK proporciona ao indivíduo diversos benefícios, não sendo restrito apenas ao acompanhamento genético específico à família, mas também, a uma abordagem multidisciplinar, tanto na detecção como na orientação dos problemas que a doença origina, além de contribuir para a melhora no prognóstico e na qualidade de vida do paciente (SANTOS et al., 2013).

O sequenciamento do DNA permite a identificação de alterações específicas na sequência do DNA, de forma que seja possível se realizar a associação com diferentes doenças genéticas. A fim de ampliar o desenvolvimento das técnicas de diagnóstico molecular, utiliza-se das vantagens da técnica da reação em cadeia da polimerase (PCR), por meio da obtenção de iniciadores específicos para as regiões do gene nas quais há intenção de se estudar e/ou detectar (MOLINA; TOBO, 2004).

O diagnóstico médico tem sido feito por meio do auxílio do PCR, e por meio dessa ferramenta foi possível que os cientistas estudassem melhor o material genético. A PCR tem por característica fundamental, produzir de forma rápida, grandes quantidades de material genético e, assim, ser realizada a investigação genômica (ROQUE, 2015). A PCR é uma técnica molecular usada com a intenção de se obter um diagnóstico preciso, e atua com grande sensibilidade e especificidade para diagnosticar e monitorar a progressão de doenças visando auxiliar na resposta à terapêutica (ROQUE, 2015).

Além do aumento da quantidade de amostras a serem analisadas, a PCR permite a ampliação de uma sequência de interesse, presente em uma determinada amostra de DNA e tornou possível a adoção de métodos automatizados, no intuito de analisar de forma complexa, o genoma (MOLINA; TOBO, 2004).

### **3.2.1 Diagnóstico Molecular**

A proteína MLL2 está diretamente envolvida com o processo de embriogênese e desenvolvimento e se enquadra como membro da família de genes denominada

*Mixed Lineage Leukemia* (MLL). Além disso, a proteína MLL2 está relacionada à expressão dos genes *XOX* além de oferecer suporte para a proteína *XOX* interagir com receptores nucleares. A mutação do gene *MLL2* está intimamente relacionada a SK, estando presente em 56 a 76% dos indivíduos com a doença (SANTOS et al., 2013).

Um estudo feito por Ng e colaboradores (2010) realizou uma análise com relação às mutações ocorrentes no gene *MLL2*. O estudo relacionou 10 indivíduos que possuíam a síndrome de Kabuki, aos quais foram submetidos a um sequenciamento do *MLL2*. Dos 10 indivíduos com o gene sequenciado, 7 desses pacientes apresentaram mutação no gene *MLL2*. O estudo seguiu com os 3 pacientes restantes, sendo feito o sequenciamento de Sanger, no qual foram detectadas mutações no gene *MLL2* de 2 dos 3 pacientes. O método de sanger consiste na síntese de cadeias a partir do fragmento de DNA a ser sequenciado, cadeias essas que são marcadas radioativamente numa extremidade e diferem entre si por um nucleotídeo. Por separação das cadeias truncadas através de eletroforese, pode estabelecer-se a sequência de nucleotídeos do fragmento de DNA original. Outro estudo seguiu acompanhado desses, tendo como resultado, a ocorrência de mutações no *MLL2* em 26 dos 43 casos extras. As mutações no gene *MLL2* também foram avaliadas na esfera familiar, sendo analisadas 53 famílias. Dessas, foram encontradas 33 mutações distintas no gene *MLL2*, estando essas presentes em 35 famílias (66%), com histórico da SK.

Na Síndrome de Kabuki, a mutação do gene *MLL2* pode ou não estar associada às mutações no gene *KDM6A*, sendo esse responsável por regular a atividade genética do *MLL2* nas atividades de controle epigenéticos (por exemplo, as histonas podem sofrer algumas modificações como metilação, fosforilação e acetilação. Já na molécula de DNA, ocorre apenas a metilação). O aparecimento da SK pode também estar somente relacionado às mutações no gene *KDM6A*, sem que ocorra mutação no gene *MLL2*. Outra mutação relacionada a SK é a que ocorre no *locus* no cromossomo Xp11.3 (braço curto do cromossomo X, região 1, banda 1, sub-banda 1) (SANTOS et al., 2013; OLIVEIRA et al., 2010).

As mutações ocorridas no gene *MLL2* representam a causa mais comum do surgimento da Síndrome de Kabuki e existem mais de 100 mutações pontuais

presentes no referido gene. As mutações encontradas no gene *MLL2*, podem ou não estar relacionadas à síndrome de Kabuki (PINTO, 2014).

A presença de características faciais clássicas encontradas na Síndrome de Kabuki tem estado relacionada às mutações no gene *MLL2*. O mesmo gene é relacionado à SK com expressão variável e, em virtude desse fato, existem mutações encontradas no gene *MLL2* que não dizem respeito a Síndrome de Kabuki (SANTOS et al., 2013).

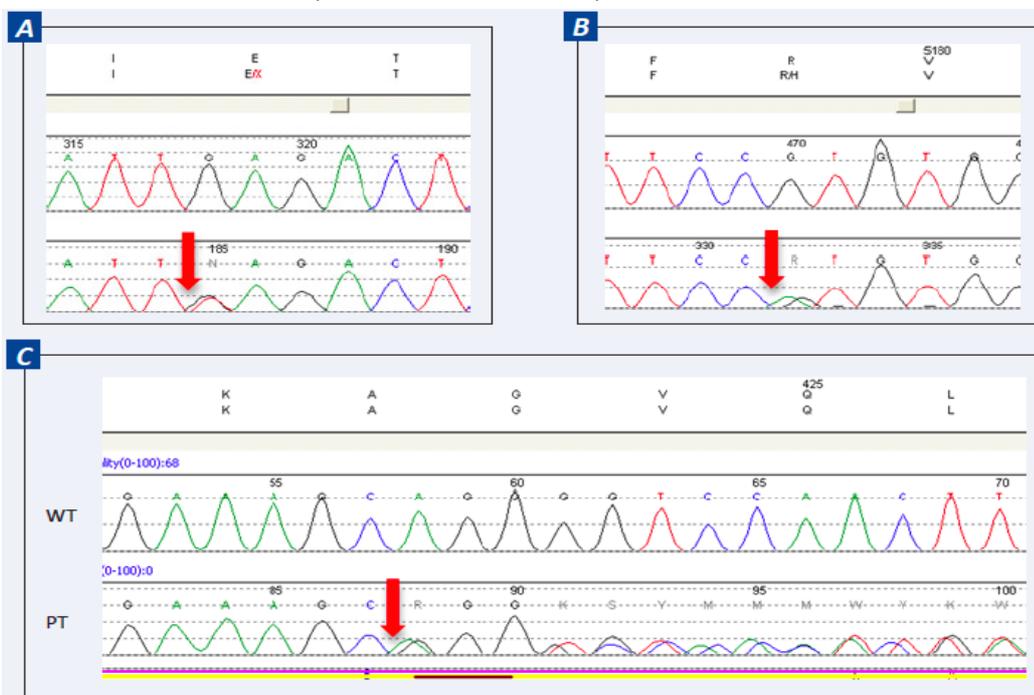
As variações na expressão do gene *MLL2* podem ser explicadas por meio de testes realizados em diversos portadores da síndrome. Um estudo descrito por Pinto (2014) relatou que 110 famílias que possuíam a SK participaram de uma análise quanto aos tipos de mutações encontradas no gene *MLL2*, as quais levam ao surgimento da SK. Como resultado, foram identificados 70 tipos de mutações no gene *MLL2* em 81 famílias (74%). As mutações encontradas restringiram-se, em sua maioria, aos éxons 39 e 48.

Outro estudo citado por Pinto (2014) relatou, após realizar o sequenciamento de todos os 54 éxons codificantes do gene *MLL2*, que a partir de 34 pacientes com SK foram identificadas 18 mutações distintas em 19 desses pacientes. Ainda segundo esse estudo, os portadores de SK que possuem mutações no gene *MLL2* apresentaram, de forma mais frequente, baixa estatura e anomalias renais, comparado a pacientes com outros tipos de mutações.

No mesmo estudo relatado por Pinto (2014) foram mencionadas mutações nos genes de *KMT2D* e *KDM6A* como sendo causas possíveis da SK. As mutações ocorridas nesses dois genes foram vistas em 55,8 a 80% dos indivíduos portadores da SK. Um estudo feito com 12 indivíduos com suspeita clínica de SK pôde verificar que dentre esses, 11 foram identificados com mutações nos genes *KMT2D* e *KDM6A*, o equivalente a 91,7%.

Uma análise detalhada de mutações que ocorrem não só no gene *MLL2*, mas também, nos genes *KMT2D* e *KDM6A* tem sido vista como de grande valia para se ter um diagnóstico precoce da doença, além de proporcionar o aconselhamento genético dos indivíduos com SK (PINTO, 2014).

Figura 2: Exemplos de mutações detectadas no gene MLL2. O sequenciamento genético completo do gene MLL2 foi realizado em 3 indivíduos relatados com características clínicas da Síndrome de Kabuki. O laboratório detectou uma cópia de A) uma mutação no éxon 12 (c.4009G>T (p.E1337X); B) uma recorrente mutação de sentido trocado no éxon 48 (c.15536G>A (p.R5179H)) e C) um erro de enquadramento no éxon 10 (c.1266\_1267delAG).



Fonte: (EMORY 2014).

### 3.2.1.1 Genética

Várias mutações estão presentes em cromossomos e levam ao diagnóstico da SK. Vários estudos relacionam as mutações em cromossomos como causa de anormalidades significativas presentes em indivíduos com SK.

Um estudo realizado por Li e colaboradores (1996), identificaram em 5 pacientes, uma microdeleção no *locus* 22q11.2, sendo essa caracterizada como relevante para o surgimento da síndrome. Como parâmetro para este estudo, foram identificados pacientes com anomalias cardíacas congênitas e que possuíam a síndrome de Kabuki.

Outros estudos, além do Li e colaboradores (1996) também identificam mutações que levam ao surgimento da síndrome de Kabuki como, por exemplo, a mutação que ocorre por meio da duplicação intersticial do braço curto do cromossomo 1, especificamente nos pontos de interrupção no 1p13.1 e no 1p22.1. O paciente que

apresentou essa mutação desenvolveu também características clínicas como retardo mental, cabeça pequena, eversão da parte lateral e inferior das pálpebras, dobras epicânticas, brilho lateral das sobrancelhas, columela curta e persistente na ponta dos dedos fetais (LO et al., 1998).

Segundo Schaefer; Thompsom (2015) um estudo feito com o objetivo de analisar os genes *MLL2* e o *KDM6A*, teve como resultado apontar a localização exata na qual ocorre a mutação responsável pela SK. No gene *MLL2*, as mutações que apontam para a causa da SK ocorreram nos cromossomos 12q12 a 12q14, e as mutações relacionadas ao gene *KDM6A* identificaram como responsáveis pela SK, o cromossomo Xp11.3.

Diversas alterações cromossômicas como a duplicação do 1p [dup (1)(p13.1p22.1) ], a translocação de origem hereditária nos cromossomos 3 e 10 [t(3;10)(p25;p15)], a inversão paracêntrica hereditária encontrada no braço curto do cromossomo 4 [inv(4)(p12pter)], a monossomia parcial 6q juntamente com a trissomia parcial do 12q [der(6)t(6;12)(q25.3;q24.31)], foram descritas como alterações citogenéticas relacionadas a SK, mas mesmo com esses achados, a causa da doença ainda permanece desconhecida (NUNES, 2011).

### **3.2.1.2 Consequências das mutações na SK**

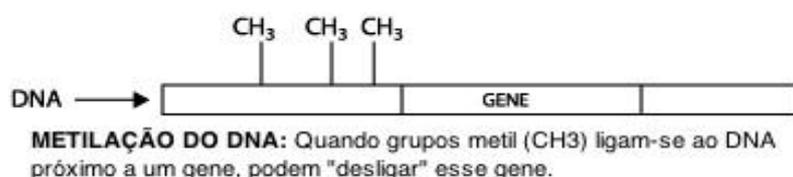
A epigenética é um ramo dentro da genética que estuda os fatores bioquímicos responsáveis por ativar ou inativar os genes. Essa ativação e/ou desativação está intimamente relacionada à ação de enzimas, proteínas, hormônios e outros mediadores. A diferença entre mutação e epigenética está no fato da mutação promover a alteração na sequência de nucleotídeos dos genes, por meio de fatores externos como agentes químicos ou físicos, no decorrer do processo de reduplicação do genoma, ou por uma falha bioquímica (CONSOLARO, 2009).

Já a epigenética é o estudo das modificações que ocorrem no material genético sem envolver alterações na sequência de bases do DNA. Por exemplo, as histonas podem sofrer algumas modificações como metilação, fosforilação e acetilação. Já na molécula de DNA, ocorre apenas a metilação. Sabendo-se dessas possíveis formas de alterações associadas ao material genético é possível relacionar

as consequências das mutações com a expressão das características epigenéticas na SK (OLIVEIRA *et al.*, 2010).

Os mecanismos epigenéticos estão intimamente relacionados às diferenças na expressão gênica, às quais não dependem das alterações na sequência do DNA. As alterações oriundas da metilação, fosforilação e da acetilação são mantidas herdáveis, por meio de mecanismos epigenéticos (FERREIRA; FRANCO, 2011).

Figura 3: Processo de metilação na região promotora do DNA.



Fonte: WORDPRESS (2012).

As modificações que ocorrem nas histonas são importantes para o mecanismo de regulação epigenético e este processo é responsável por um complexo conjunto de informações que promovem a expressão combinada de vários genes. Esse processo é chamado de hipótese do código de histona e sugere que alterações específicas em determinados resíduos de aminoácidos em uma histona, sendo determinante por promover modificações no funcionamento da referida histona ou no conjunto das histonas (nucleossomo). Outro fator ligado às modificações da histona, dizem respeito ao fato de uma única alteração ter o potencial de ser um fator desencadeante, para as demais modificações e, dessa forma, surgem níveis diferentes de organização da cromatina e de expressão dos genes (MENDINI; KANG, 2007).

As histonas são proteínas estruturais do material genético e, quando modificadas pelos processos de acetilação e fosforilação, promovem o controle da expressão gênica. As histonas estão diretamente relacionadas ao processo de silenciamento da cromatina e desempenham uma função importante com relação a ativação do genoma e a metilação do DNA (FERREIRA; FRANCO, 2011). Ainda, o suporte ao DNA e a regulação de toda a versatilidade do mesmo está vinculado diretamente à função atribuída às histonas. Diante disso, as histonas são

responsáveis por trabalharem na dinâmica relacionada aos estados conformacionais da cromatina (FULLGRABE *et al.*, 2011).

As histonas possuem semelhanças em sua estrutura, tendo como composição uma região interna hidrofóbica e uma região terminal, na qual possui um grupo amina (-NH<sub>2</sub>). A região terminal é responsável por duas funções, sendo essas: a de proporcionar as modificações em relação à estrutura da cromatina e, por meio disso, influenciar diretamente nos processos de regulação celular que ocorrem (KOOISTRA; HELIN, 2012).

Rea e colaboradores (2000) demonstraram a importância do código das histonas na dinâmica do funcionamento da cromatina. Na tentativa de defender essa hipótese, o modelo proposto pelos pesquisadores relata o impedimento da metilação da lisina na posição 9 na histona H3 por meio da fosforilação da serina 10 na H3 em virtude do impedimento estérico. Outros estudos mostraram que a fosforilação da serina 10 na H3, atua como facilitador da acetilação da lisina 9 e da 14 na H3, bloqueando a metilação da lisina 9 na histona H3 (MENDINI; KANG, 2007).

As enzimas modificadoras das histonas são mencionadas como quinases, histonas metiltransferases (HMT) e histonas acetiltransferases (HAT). Essas enzimas são transcritas por meio de fatores que estão associados às histonas modificadas e o mecanismo que as inibem está intimamente ligado aos fatores que fazem a reversão das modificações como as fosfatases, histonas desacetilases (HDAC) e as histonas demetilases (HDM), às quais permitem a entrada de novos radicais. Cada uma dessas enzimas é responsável por traduzirem o código em um estado cromatínico, sendo esse ativo ou reprimido (MENDINI; KANG, 2007).

A metilação das histonas ocorre em diferentes locais de metilação, pois ela ocorre em diversas terminações amina, no aminoácido lisina e arginina, por meio de múltiplas adições de grupos metil no mesmo aminoácido. O processo de acetilação se distingue da metilação em virtude do fato da metilação alterar a basicidade e a hidrofobicidade da molécula. Ambas tem o potencial de alterar a carga das terminações dos aminoácidos (VERBRUGGE *et al.*, 2011).

O processo de metilação das histonas atua a partir de dois tipos de enzimas, sendo a primeira enzima chamada de histonas metiltransferases (HMT), na qual promove a transferência do grupo metil, oriundo da S-adenosilmetionina (SAM) até os

aminoácidos arginina e lisina. O segundo tipo de enzima são as histonas desmetilases (HDM), sendo essa constituída por duas famílias, a desmetilase específica de lisina 1A (LSD1) e a *Jumonji*. Ambas as famílias atuam na retirada dos grupos metil dos aminoácidos (VERBRUGGE *et al.*, 2011).

A metilação das histonas adquire diversas modificações em virtude da diversidade atribuída aos diferentes aminoácidos que a terminação amina possui. Esse fato fornece uma infinidade de opções para a regulação celular. Diante desse fato têm-se alguns exemplos: a lisina 4 da histona 3 que após metilada pela histona metiltransferase (HMT), que contém um grupo protéico denominado *Trithorax* (SET), vai ligar-se a determinados genes e ativá-los; diante do exemplo da metilação da histona da lisina 4 da histona 3, ao se ligar a determinados genes ocorre sua ativação. O exemplo oposto pode ocorrer quando a metilação da histona ocorre na lisina 9 e 27 da histona 3, fazendo com que ocorra o silenciamento de genes (HAKE *et al.*, 2004).

Os locais de metilação realizados pela HMT são lidos por centros proteicos chamados de proteína heterocromatina 1 (HP1) e pela *Polycomb* (Pc). Esses centros protéicos também são responsáveis por realizar a manutenção das modificações feitas na metilação das histonas, juntamente com enzimas que atuam também no mesmo processo. A heterocromatina (HP1 e PC) atuam no silenciamento do gene, quando a cromatina é silenciada. Em contrapartida, a cromatina ativa ou a eucromatina (SET) atuam no processo de ativação dos genes (HAKE *et al.*, 2004).

Diante dessa hipótese, o surgimento das alterações moleculares e genéticas ligadas à SK pode estar intimamente ligado às modificações da metilação das histonas, embora estudos relacionados a SK ainda não identifiquem qual(is) mutação(ões) presentes no gene estejam associadas aos eventos de interação com o código das histonas. Acredita-se que o mecanismo de metilação das histonas possa estar relacionado ao silenciamento de determinados genes, levando ao surgimento das mutações que causam a SK.

### **3.3 Avanços no diagnóstico molecular**

A SK é potencialmente causada por mutações no gene *KMT2D* (*MLL2*), sendo esse gene responsável por codificar uma histona metiltransferase a qual metila o

quarto resíduo de lisina de histona H3. O gene *KMT2D* tem por função estar relacionado à regulação da adesão celular, atraso de crescimento, motilidade celular durante a embriogênese e desenvolvimento (GENE DX, 2014).

A maior parte das mutações que ocorrem no gene *KMT2D* são causadas por mutações: sem sentido e de mudança na matriz de leitura (72%); sentido trocado (16%); local de união (9%); enquadramento de deleções e inserções (3%), sendo rara a ocorrência de deleções parciais e inteiras do gene (GENE DX, 2014).

A SK está relacionada também a mutações no gene *KDM6A*, sendo esse responsável por codificar uma desmetilase H3K27, podendo estar envolvida com a ativação da cromatina. A relação da SK com a *KDM6A* está em menor escala que as mutações dos genes *KMT2D* e o *MLL2*, pois o número de pacientes com a mutação no *KDM6A* esteve menor na maioria dos estudos (GENE DX, 2014)

Os genes *KMT2D* e o *KDM6A* estão envolvidos com a regulação epigenética da cromatina, sendo a cromatina definida como uma estrutura proteica na qual mantém o DNA compactado e, por meio desse processo, se faz a ativação de genes no genoma (MUOTRI, 2014). As mutações que estão relacionadas ao surgimento da SK estão intimamente relacionadas a um desequilíbrio crônico na regulação gênica nuclear, voltado para o controle da acessibilidade à cromatina (MUOTRI, 2014).

#### **4 CONSIDERAÇÕES FINAIS**

A síndrome de Kabuki tem sido diagnosticada pelo quadro clínico e genético, embora se tenham poucos estudos que a relatem, com detalhes, a respeito do diagnóstico molecular. Isso se deve a fatos inconclusivos que estão relacionados às causas genéticas da SK.

Embora tenha sido registrada a relação da SK aos genes mencionados, os dados ainda se encontram insuficientes para se ter como causa da SK, as mutações ocorrentes. O mecanismo relacionado às mutações nos genes *MLL2* (*KMT2D*) e o *KDM6A* ligadas à ocorrência da SK é pouco descrito na literatura até o presente momento.

A mutação que ocorre no gene *MLL2*, na qual influencia na metilação das histonas, foi identificada como apenas uma hipótese, em virtude dos estudos terem

sido escassos. Nos casos em que não foi visto mutação no gene MLL2, em decorrência da falta de estudos a respeito, o estudo se restringiu a apenas aos casos em que a mutação no MLL2 está presente.

Os estudos que falam a respeito da SK, apenas detectou a presença de mutações nos genes MLL2 (KMT2D) e no KDM6A, mas nenhum estudo pode informar a relação entre as mutações e o processo de metilação das histonas como presente no surgimento da SK.

## 5 REFERÊNCIAS

BARRA, G. B. et al. Diagnóstico molecular – passado, presente e futuro. **Revista Brasileira de Análises Clínicas**, Brasília, v. 43, n. 3, p. 254-260, jul/set. 2011.

BRITO, M., MISQUIATTI, A. Intervenção fonoaudiológica na síndrome de kabuki: relato de caso, **Revista CEFAC**, São Paulo, v. 12, n. 4, p. 693-699. jul/ago. 2010.

CONSOLARO A. O gene e a epigenética: as características dentárias e maxilares estão relacionadas com fatores ambientais, ou os genes não comandam tudo! Ou o determinismo genético acabou? **Revista Dental Press de Ortodontia e Ortopedia Facial**. Maringá, v. 14, n. 6, p. 14-18, nov./dez. 2009.

CORDEIRO, A. M. et al. Revisão sistemática: uma revisão narrativa. **Revista do Colégio Brasileiro de Cirurgões**, Rio de Janeiro, v. 34, n. 6, p. 428-431, nov./dec. 2007.

DUPONT, J. et al. Síndrome de Kabuki: Caracterização de 16 doentes portugueses. **Acta Pediátrica Portuguesa**, Lisboa, v. 41, n. 2, p. 86-91, fev. 2010.

EMORY Genetics Laboratory. **Kabuki Syndrome: KMT2D Gene Sequencing**. 2014. Disponível em: <<http://geneticslab.emory.edu/tests/SMLL2>>. Acesso em: 3 setembro 2014.

FERREIRA, T. et al. Síndrome de Kabuki: estudo de caso a respeito das características comportamentais, cognitivas, sociais e fonoaudiológicas. **Aletheia**, Canoas, v. 32, p.70-79, maio/ago. 2012.

FRANCO F. F.; FERREIRA A. R. Inativação do cromossomo x em mamíferos. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**. Belo Horizonte, v.35, n.3, p.341-346, jul./set. 2011.

FULLGRABE, F., KAVANIGH, E. e JOSEPH, B. Histone onco-modifications. **Oncogene**, Nova York. .v.4, n.30, p.3391-3403. Aug. 2011.

GENE DX. **KMT2D (MLL2) Gene Analysis in Kabuki Syndrome (KS)**. Test

Information Sheet. 2014. Disponível em: [http://www.genedx.com/wp-content/uploads/2015/01/info\\_sheet\\_KMT2D.pdf](http://www.genedx.com/wp-content/uploads/2015/01/info_sheet_KMT2D.pdf). Acesso em: 30 abril 2015.

GRABRIELI, A. P. et al. Síndrome da maquiagem de kabuki. **Acta Ortopédica Brasileira**, Rio Grande do Sul, v.10, n. 3, p.57-61, jul/set. 2002.

HAKE, S. B., XIÃO, A. e ALLIS, C.D. Linking the epigenetic "language" of covalent histone modifications to cancer. **Journal of Cancer**, British. v.90, n.4. p.761-769. fev. 2004

IGAWAM, HH. et al. Inner ear abnormalities in Kabuki make-up syndrome: report of three cases. **American Journal of Medical Genetics**, NJ, v.92, n.2, p.87-89, may. 2000.

KABUKI Syndrome Network. **Diagnosing Kabuki**. 2011. Disponível em: <http://kabukisyndrome.com/content/diagnosis>>. Acesso em: 19 março 2015.

KOOISTRA, S.M. e HELIN, K. Molecular mechanisms and potential functions of histone demethylases. **Nature Reviews Molecular Cell Biology**, Nova York. v.13, n.5, p.297-311. may. 2012.

KUROKI, Y. et al. A new malformation syndrome of long palpebral fissures, large ears, depressed nasal tip, and skeletal anomalies associated with postnatal dwarfism and mental retardation. **Journal of Pediatrics**, St. Louis, v.99, n.4, p.570-573, oct. 1981.

LI, M., ZACKAI E. H, NIIKAWA N., KAPLAN P., DRISCOLL D. A. Kabuki syndrome is not caused by a microdeletion in the DiGeorge/velocardiofacial chromosomal region within 22q 11.2..2. **American Journal of Medical Genetics**, NJ, v.65, n.2, p.101-103, oct. 1996.

LO, I. F. M, et al. Interstitial dup (1p) com os achados de Kabuki make-up síndrome. **American Journal of Medical Genetics**. NJ, v.78, n.1, p. 55-57, jun. 1998.

MATSUMOTO, N., NIIKAWA N. Kabuki make-up syndrome: A review. **American Journal of Medical Genetics**, Hoboken, NJ, v. 117, n. 1, p. 57-65, feb. 2003.

MATSUNE, K. et al. Craniofacial and Dental Characteristics of Kabuki Syndrome, **American Journal of Medical Genetics**, NJ. v. 98, n. 2, p. 185-190. jan. 2001.

MENDINI, C. B. K; KANG C. H. O papel das proteínas histonas nas neoplasias hematológicas. **Revista Brasileira de Cancerologia**, Rio de Janeiro. v.53, n.4, p. 453-46. out-dez. 2007.

MOLINAL. A.; TOBO R. P. Uso das técnicas de Biologia Molecular para diagnóstico. Série Biologia Molecular. **Einstein**, São Paulo. v.2, n.2, p.139-142, jun. 2004

MUOTRI, A. **Revertendo a síndrome de Kabuki**. 2014. Disponível em: <<http://g1.globo.com/ciencia-e-saude/blog/espiral/post/revertendo-sindrome-de-kabuki.html>>. Acesso em: 30 abril 2015.

NG, S. B., et al. Seqüenciamento Exome identifica mutações MLL2 como uma causa da síndrome de Kabuki. **Nature Genetics**, Nova York. v.42, n.20, p.790-793. ago. 2010.

NIKAWA, N., KUROKI, Y., KAJII, T. et al. Kabuki make-up (Niikawa-Kuroki) syndrome: A study of 62 patients. **American Journal of Medical Genetics**, New York. v.31, n.3, p.565-589, nov. 1988.

NIKAWA, N., MATSUURA, N., FUKUSHIMA, Y., OHSAWA, T., & KAJII, T. Kabuki make-up syndrome: a syndrome of mental retardation, unusual facies, large and protruding ears, and postnatal growth deficiency. **Journal of Pediatrics**, Saint Louis. v.99, n.4, p.565-569, oct. 1981.

NUNES, G. **Alergia ao látex em paciente com síndrome de Kabuki. Relato de caso**. 2011. Disponível em: <<http://cienciahojesk.blogspot.com.br/>>. Acesso em: 30 abril. 2015.

OLIVEIRA, P. F. N.; PLANELLO C. A.; ANDIA C. D.; PARDO S. P. A. Metilação de DNA e câncer. **Revista Brasileira de Cancerologia**, Rio de Janeiro. v.56, n.4, p. 493-499, out-dez. 2010.

PINTO, C. I. de. **Caracterização odontológica dos indivíduos com síndrome de kabuki**: Estudo Clínico e radiográfico retrospectivo. 102 f. Bauru .Tese apresentada ao Hospital de Reabilitação de Anomalias Crânio Faciais da Universidade de São Paulo. 2014.

REA S.; EISENHABER F.; O'CARROLL D.; STRAHL B. D.; SUN Z. W.; SCHMID M. Regulation of chromatin structure by site specific histone H3 methyltransferases. **Nature**, Nova York, v.406, n.6796, p.593-599, aug. 2000.

ROQUE. **Introdução à PCR**. 2015. Disponível em: <http://www.roche.pt/portugal/index.cfm/produtos/equipamentos-de-diagnostico/products/molecular-diag/intro-pcr/>. Acesso em: 18 maio 2015.

SANTOS, A. Características orais e craniofaciais da Síndrome de Kabuki: relato de um caso. **Revista de Ciências Médicas e Biológicas**, Salvador, v. 12, n. 3, p. 385-388, set/ago. 2013.

SANTOS, B. et al. Kabuki make-up (Niikawa-Kuroki) syndrome: dental and craniofacial findings in a Brazilian child, **Brazilian Dental Journal**, Ribeirão Preto, v. 17, n. 3, p. 249-254, mai. 2006.

SANTOS, I. M. et al. Descrição de uma forma autossômica dominante de síndrome de Kabuki por mutação no gene MLL2, **Scientia Medica**, Porto Alegre, v. 23, n.1, p. 47-51, jan. 2013.

SCHRANDER-STUMPEL, C., MEINECKE P., WILSON G., et al. The kabuki (Niikawa-kuroki) syndrome: further delineation of the phenotype in 29 non-Japanese patients. **European Journal of Pediatrics**, Germany, v. 153, n. 6, p. 438-445, jun. 1994.

SCHAEFER, B. G.; THOMPSON N. J. Jr. **Genética médica uma abordagem integrada**. 1º edição. Ed. AMGH Editora Ltda. São Paulo. 2015.

SILVA, C. **Avaliação clínico-laboratorial de pacientes com síndrome de Kabuki**. 2009.134 f. Dissertação (Mestrado) – Medicina, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2009.

SOBRAL, S. **Manifestações bucais em pacientes com Síndrome de Kabuki**. 2010. 84 f. Dissertação (Mestrado) – Programa de pós graduação em ciências da saúde, Universidade de Brasília, Brasília, 2010.

SOUSA, M. et al. Uso da rede neural artificial no planejamento cirúrgico da correção do estrabismo. **Arquivos Brasileiros de Oftalmologia**, São Paulo, v. 67, p. 459-462, maio, 2044.

VERBRUGGE, I., JOHNSTONE, R.W. e BOTS, M. Promises and challenges of anticancer drugs that target the epigenome. **Epigenomics**, USA, v.5, n.3, p.547-565. oct. 2011.

WORDPRESS. **Metilação do DNA**. Disponível em: <https://considereapossibilidade.files.wordpress.com/2012/04/metilacaodna.jpg>. Acesso em: 11 maio 2015.