



GENÉTICA EN EL SÍNDROME DE PRADER WILLI. ESTRATEGIA DIAGNÓSTICA

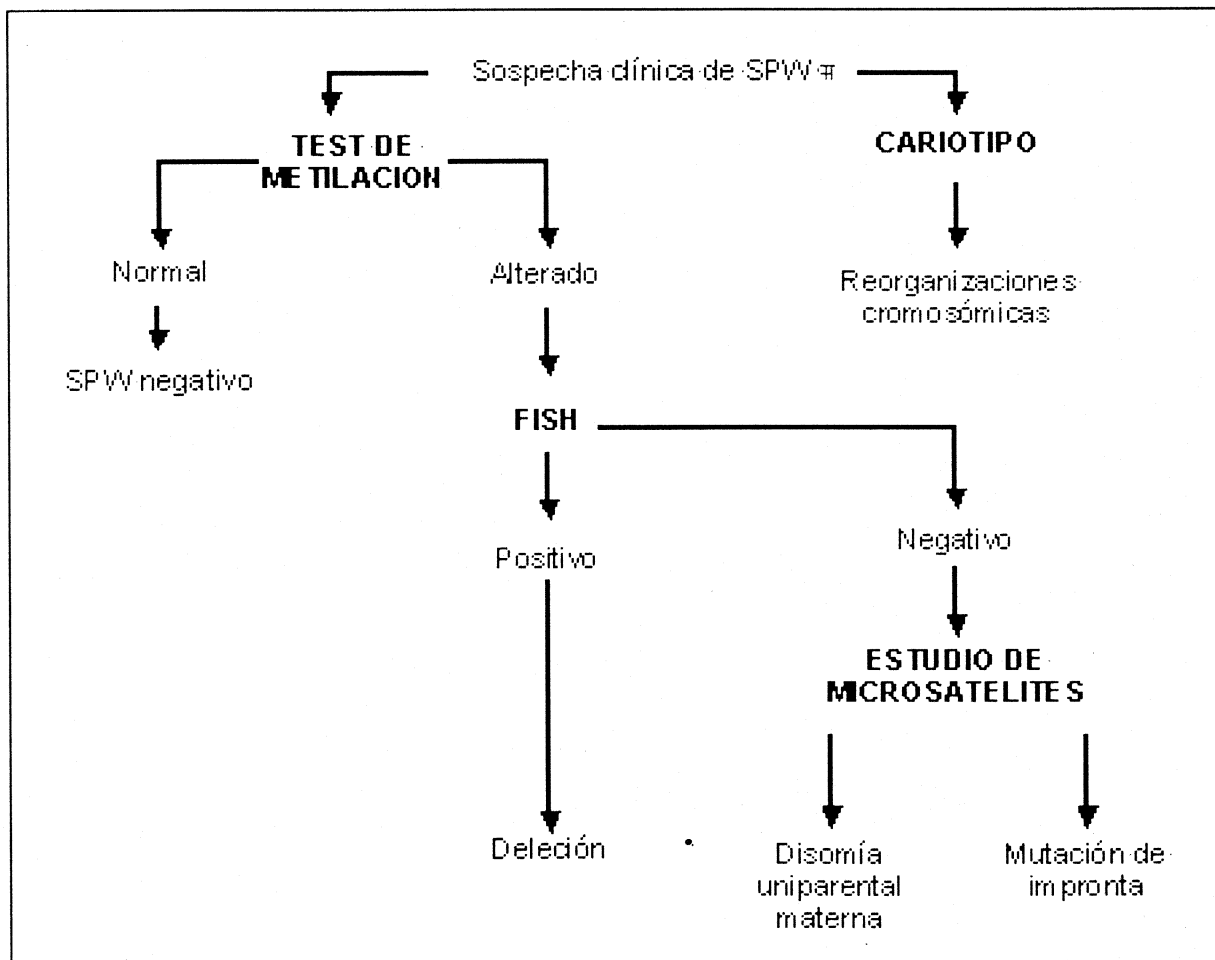
Dra. Cristina Camprubí Sánchez

Departamento Biología Celular. Universidad Autónoma de Barcelona

El genoma humano está constituido por 23 pares de cromosomas, 22 corresponden a los denominados autosomas y 1 par corresponde a los cromosomas sexuales. Cada cromosoma anida múltiples genes de los cuales existen dos copias, una en el cromosoma materno y otra en el paterno de cada par. Por lo general ambas copias son funcionales, a excepción de ciertas regiones en las que existe un sistema de control de expresión genética denominado impronta genómica. En estas regiones reguladas por la impronta sólo una de las copias es activa o funcional. La región cromosómica 15q11-q13 incluye una serie de genes sometidos al fenómeno de impronta genómica, siendo funcional únicamente una de las dos copias de estos genes. La otra copia existe, pero se encuentra silenciada, mediante la adición de un grupo metilo (metilación) en las bases del DNA llamadas citosinas (C). El Síndrome de Prader-Willi está causado por diferentes anomalías genéticas que afectan a la expresión única de la copia paterna de determinados genes de la región 15q11-q13. El 70% de los casos son causados por una deleción de de la región 15q11-q13 en el cromosoma paterno. En el 20-25% de los casos la causa es una disomía uniparental materna, es decir, existen dos cromosomas 15, pero ambos provienen de la madre, por lo que ambas copias de los genes de la región crítica se encuentran metiladas, conllevando su inactivación. Con una incidencia mucho menor (2-5%) la causa es un defecto en la impronta. En este caso existen tanto el cromosoma 15 materno como el paterno, pero en este último, debido a un error genético se ha establecido la impronta materna, es decir, se han silenciado mediante metilación los genes de la región 15q11-q13 paterna. En menos del 1%, la causa es una reorganización cromosómica que implica a la región 15q11-q13 y altera su patrón de expresión.

Es importante diferenciar las distintas etiologías para poder ofrecer un consejo genético a la familia, así como para establecer un valor pronóstico de la enfermedad. Para la confirmación del diagnóstico clínico, se ha desarrollado un protocolo de estudio genético considerando las diferentes etiologías del SPW y sus incidencias respectivas.

Protocolo diagnóstico:

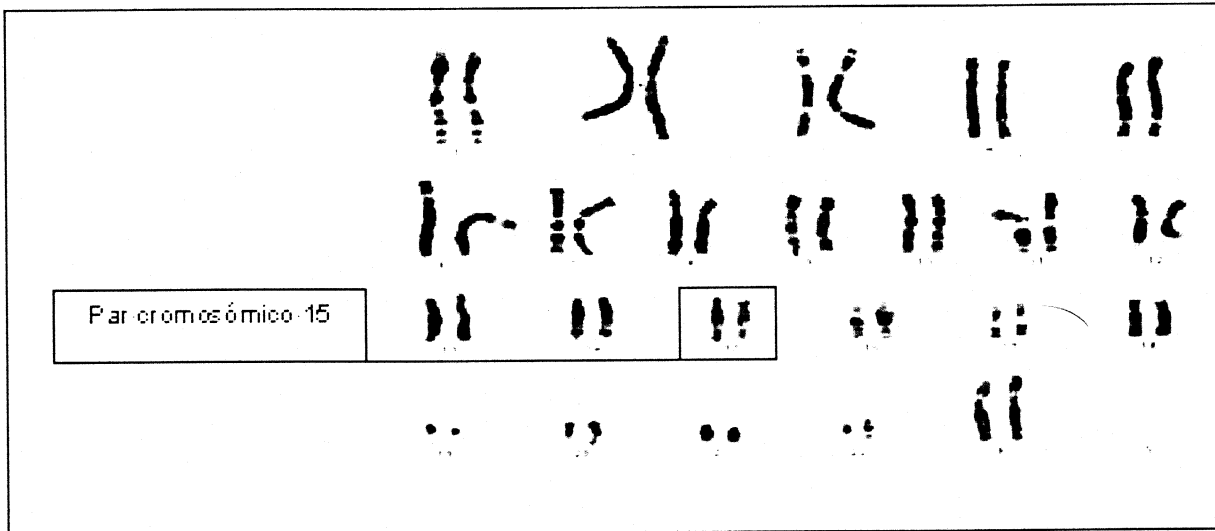


GENÉTICA EN EL SÍNDROME DE PRADER WILLI. ESTRATEGIA DIAGNÓSTICA

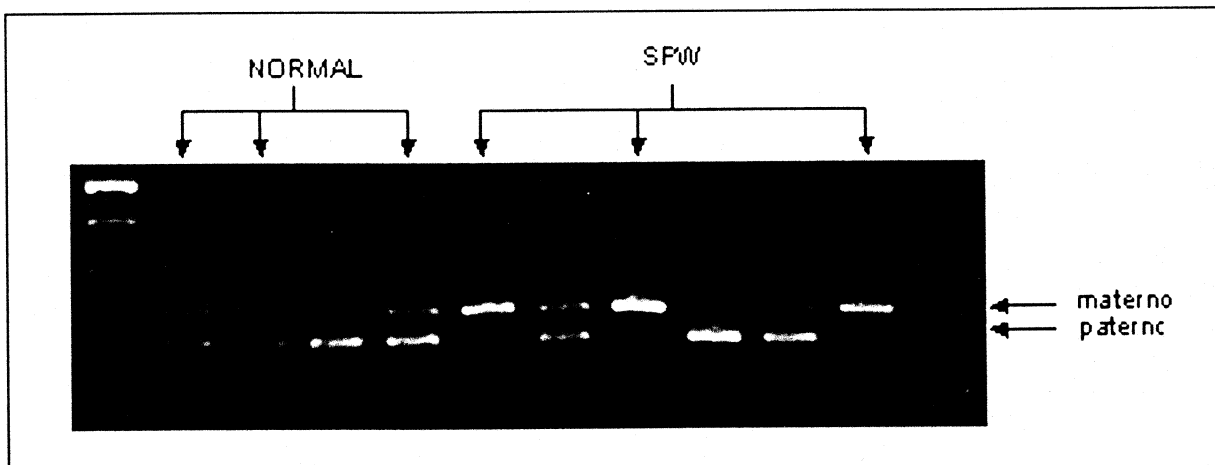
Dra. Cristina Camprubi Sánchez

Departamento Biología General, Universidad Autónoma de Barcelona

- **Cariotipo:** Se realiza a todos los pacientes con sospecha clínica de SPW. Permite el estudio de reorganizaciones cromosómicas que afectan a la región 15q11-q13. El análisis de deleciones mediante esta técnica es complejo y podrían diagnosticarse falsos positivos y negativos, por lo que es recomendable realizar la técnica de hibridación in situ fluorescente (FISH) empleando sondas específicas.

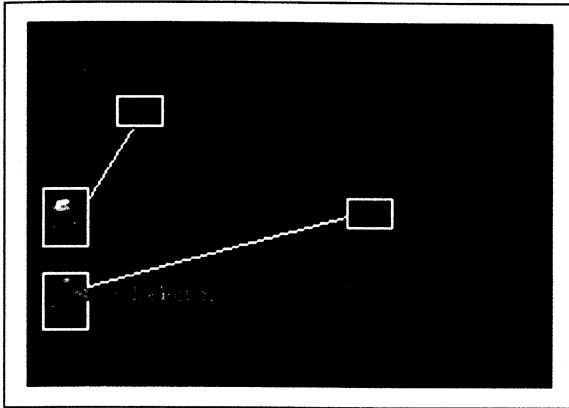


- **Test de metilación (M-PCR):** Técnica de análisis molecular que se realiza a todos los pacientes, y permite confirmar el diagnóstico del síndrome causado por una deleción, una disomía uniparental materna o un defecto de impronta, pero no permite diferenciar entre estas etiologías.



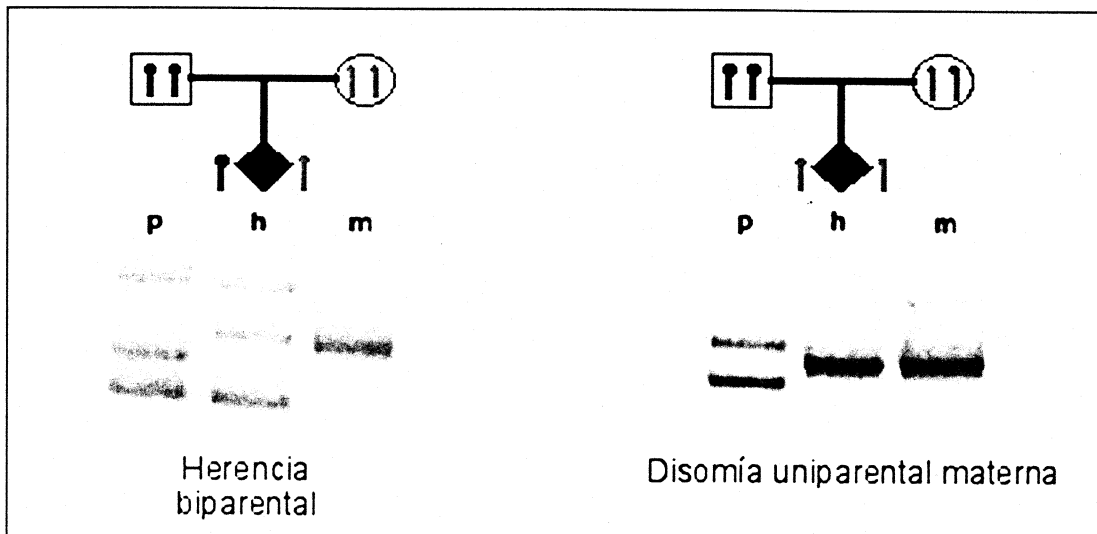
Esta técnica consiste en una reacción en cadena de la polimerasa (PCR) posterior al tratamiento del DNA genómico con bisulfito sódico. El bisulfito sódico convierte las bases del DNA llamadas citosinas en otras distintas llamadas uracilos, si dichas citosinas no se encuentran metiladas. Esta estrategia permite diferenciar el alelo materno (metilado) y el paterno (no metilado).

Un patrón de metilación normal será aquel en el que se obtengan ambos alelos, y un patrón de metilación característico del SPW, será aquel en el que sólo se obtenga producto del alelo materno, ya sea porque existe una deleción del paterno, porque ambos son maternos (disomía uniparental) o porque el paterno presenta metilación, es decir, ambos alelos presentan impronta materna (defecto de impronta). Para diferenciar entre deleción, disomía uniparental o defecto de impronta se han de aplicar técnicas de FISH y/o análisis de microsatélites.



- **FISH:** Dado que el 70% de los casos con SA son causados por deleción, en los casos que presentan un resultado positivo en el test de metilación se prosigue el estudio mediante la técnica de FISH. Esta técnica permite analizar la presencia de la región 15q11-q13 en ambos cromosomas 15, empleando sondas de DNA específicas de dicha región marcadas con fluorocromos. La observación de los cromosomas se realiza mediante un microscopio óptico de fluorescencia.

- **Análisis de microsatélites:** En los casos que la deleción no está presente se realizará el análisis de microsatélites. Esta técnica permite diferenciar si ambos cromosomas provienen del mismo origen parental (los dos provienen de la madre) o si su origen es biparental (un cromosoma proviene del padre y el otro de la madre). En el primer caso podemos confirmar que se trata de una disomía uniparental materna y en caso de obtener un resultado que confirme herencia biparental, el diagnostico será, por exclusión, un defecto en la impronta.



Referencias:

- Cassidy SB, Dykens E, Williams C. Prader-Willi and Angelman syndromes: sister imprinted disorders. *Am J Med Genet* 97:136-146, 2000.
- Zeschnick M, Lich C, Buiting K, Doerfler W, Horsthemke B. A single-tube PCR test for the diagnosis of Angelman and Prader-Willi syndrome based on allelic methylation differences at the SNRPN locus. *Eur J Hum Genet* 5:94-98, 1997.
- ASHG/ACMG. ASHG/ACMG Report. Diagnostic testing for Prader-Willi and Angelman syndromes: report of the ASHG/ACMG test and technology transfer committee. *Am J Hum Genet* 58:1085-1088, 1996.
- Kuwano A, Mutirangura A, Dittrich B, Buiting K, Horsthemke B, Saitoh S, Niikawa N. Molecular dissection of the Prader-Willi/Angelman syndrome region (15q11-q13) by YAC cloning and FISH analysis. *Hum Mol Genet* 1:417-425, 1992.
- Mutirangura A, Greenberg F, Butler M, Malcolm S, Nicholls R, Chakravarti A, Ledbetter D. Multiplex PCR of three dinucleotide repeats in the Prader-Willi/Angelman critical region (15q11-q13): molecular diagnosis and mechanism of uniparental disomy. *Hum Mol Genet* 2:143-151, 1993.