

Las técnicas disponibles actualmente y que pueden realizar los laboratorios de genética para caracterizar las alteraciones genéticas asociadas al SPW son:

3.1. Análisis cromosómico

Para realizar esta técnica es necesario sangre del paciente. Consiste en observar si los cromosomas de un individuo (cariotipo) son normales o presentan reordenaciones cromosómicas que pudieran afectar a la región del SPW. Es conveniente realizar el cariotipo de alta resolución aunque, sin embargo, este análisis es insuficiente para detectar todas las deleciones, ya que puede dar falsos negativos o falsos positivos. Se puede realizar como prueba complementaria pero no es definitiva.

3.2. Hibridación in situ fluorescente (FISH)

Con esta técnica se puede detectar con bastante fiabilidad la presencia de deleción en 15q11-q13. Se realiza a partir de sangre del paciente. Tras cultivo se hacen extensiones de cromosomas metafásicos. Se emplean las sondas D15S10 y SNRPN que hibridan con la región crítica del SPW, además de una sonda centromérica (15 alpha satélite) como control de hibridación. Con un microscopio de fluorescencia se valoran en la preparación unas 50 metafases para cada una de las sondas empleadas, observando si la deleción está presente o ausente.

Empleando esta técnica se pueden diagnosticar únicamente los casos que presentan deleción, el 70% de los SPW. Los resultados podrán ser:

- + Ausencia de deleción: no se descarta el SPW.
- + Presencia de deleción: se confirma el SPW causado por deleción.

3.3. Estudio de microsatélites

Para realizar este estudio es necesario ADN del paciente y de los padres. Esta técnica usa marcadores polimórficos de ADN (microsatélites) para seguir la herencia de los cromosomas 15. Determina la procedencia de los cromosomas, indicando si el hijo ha recibido un cromosoma 15 de cada progenitor (herencia biparental), o bien si sólo ha recibido cromosomas 15 maternos (disomía uniparental materna) También puede detectar si existe una deleción al no observarse marcadores paternos. Sin embargo, a veces, puede ser difícil diferenciar entre una deleción y una disomía uniparental. En estos casos el diagnóstico se realiza en combinación con la técnica de FISH, confirmando si se ha producido o no una deleción.

En este estudio se emplea la técnica de la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) para amplificar fragmentos del genoma (marcadores de ADN) muy variables en la población. Esta variabilidad es parecida a las huellas dactilares, cada uno

tiene una combinación de fragmentos propios. Esto permite saber qué marcadores ha recibido el hijo de una pareja, el cual presentará una combinación de los marcadores que tienen sus padres. Así, en una persona afectada con el SPW, debido a delección o disomía uniparental materna, no se encontrarán marcadores paternos para la región 15q11-q13, sólo habrá marcadores maternos. Y en los casos de mutación de imprinting o herencia biparental se observarán marcadores de ambos progenitores.

3.4. Expresión del gen SNRPN

Este estudio sólo necesita sangre del paciente a partir de la cual se extrae el ARNm mensajero (ARNm). La presencia de ARNm indica que un gen es activo y se está expresando. El gen SNRPN, uno de los principales genes implicados en el SPW, sólo se expresa a partir del cromosoma paterno, pero en los pacientes con SPW este gen no se expresa (se ha perdido o está inactivado) y por tanto no hay ARNm del gen SNRPN.

Se emplea la técnica de RT-PCR para medir la presencia o ausencia de ARNm (expresión génica, fig. 5) Consiste en convertir sólo el ARNm del gen SNRPN, y no el de otros genes, en ADN y amplificarlo (hacer muchas copias iguales de él). Si hay amplificación quiere decir que el gen SNRPN está presente y es activo, se descarta el SPW. Si no hay amplificación, el gen SNRPN no es activo y se confirma el SPW. Para determinar la etiología se deberán realizar las otras técnicas de estudio (FISH, microsatélites y/o análisis de metilación).

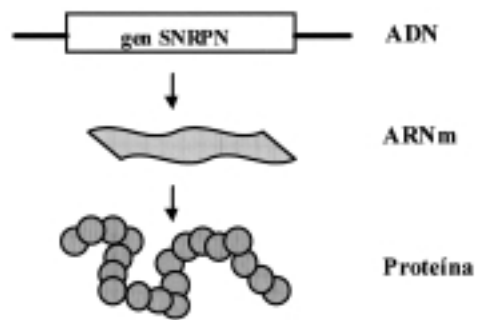


Fig. 5. Expresión génica. Los genes activos forman ARNm para codificar una proteína.

3.5. Análisis de metilación

Para realizar este estudio sólo hace falta ADN del paciente. Es la técnica más informativa ya que identifica las principales alteraciones asociadas al SPW (delección, disomía uniparental o alteración del imprinting), pero no permite diferenciarlas entre ellas. Para ello se debe complementar con los estudios de FISH y/o microsatélites.

Se basa en el patrón de metilación que es específico según los cromosomas sean de origen paterno o materno. De modo que si el análisis de metilación muestra el patrón materno, se confirma el SPW. Si se observa un patrón normal, se puede descartar el SPW con una seguridad del 99%.