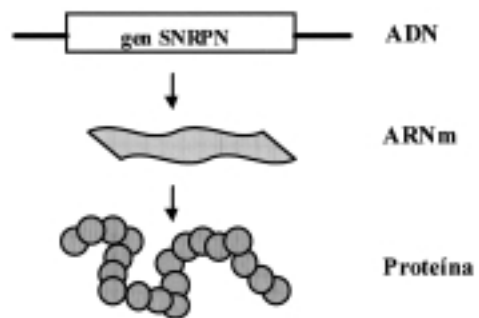


tiene una combinación de fragmentos propios. Esto permite saber qué marcadores ha recibido el hijo de una pareja, el cual presentará una combinación de los marcadores que tienen sus padres. Así, en una persona afectada con el SPW, debido a delección o disomía uniparental materna, no se encontrarán marcadores 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%.

En este estudio se emplea la combinación de una serie de enzimas de restricción sensibles a la metilación (actúan como si fueran tijeras) que cortan el ADN por unos lugares específicos si no están metilados. Esto da lugar a fragmentos de distinto tamaño, procediendo el menor del padre, al poder ser cortado (no está metilado), y el mayor de la madre, que no ha sido cortado (está metilado). Así, un patrón de metilación normal estará determinado por dos fragmentos de distinto tamaño, uno paterno y otro materno. En los casos de SPW sólo estará el fragmento mayor procedente de la madre, es lo que se llama *patrón de metilación materno*, y es característico de los pacientes con SPW.

El análisis de metilación mediante la técnica de Southern blot se está realizando con diferentes sondas que valoran el estado de metilación en diferentes posiciones de la región 15q11-q13 (tabla 1).

**TABLA 1**  
**PRINCIPALES REGIONES (LOCUS) ESTUDIADAS CON EL ANÁLISIS DE METILACIÓN AL PRESENTAR UN PATRÓN DE METILACIÓN DIFERENCIAL**

Locus	Sonda	Enzimas	Fragmentos	Referencias
D15S63 .....	PW71B	HindIII + HpaII	6.4 kb (mat) 4.4 kb (pat)	Dittrich <i>et al.</i> 1992
D15S63 .....	PW71B	BglII + CfoI	8.0 kb (mat) 6.4 kb (pat)	Dittrich <i>et al.</i> 1996
SNRPN exon -1 .....	KB17	XbaI + NotI	4.3 kb (mat) 0.9 kb (pat)	Sutcliffe <i>et al.</i> 1994
Entre PW71B y SNRPN	Y48.5	SacI + HpaII	2.5 kb (pat) 1.0 kb (mat)	Buiting <i>et al.</i> 1995
SNRPN intron 5 .....	SmN exon 2-8	HindIII + HpaII	6.0 kb (cont) 3.0 kb (mat)	Glen <i>et al.</i> 1993
D15S9 .....	ML34	HindIII + HpaII	6.0 kb (mat) 2.8 kb (pat)	Driscoll <i>et al.</i> 1992

A modo de resumen, para el diagnóstico molecular del SPW se seguiría el protocolo que se propone en el siguiente esquema (fig. 6):

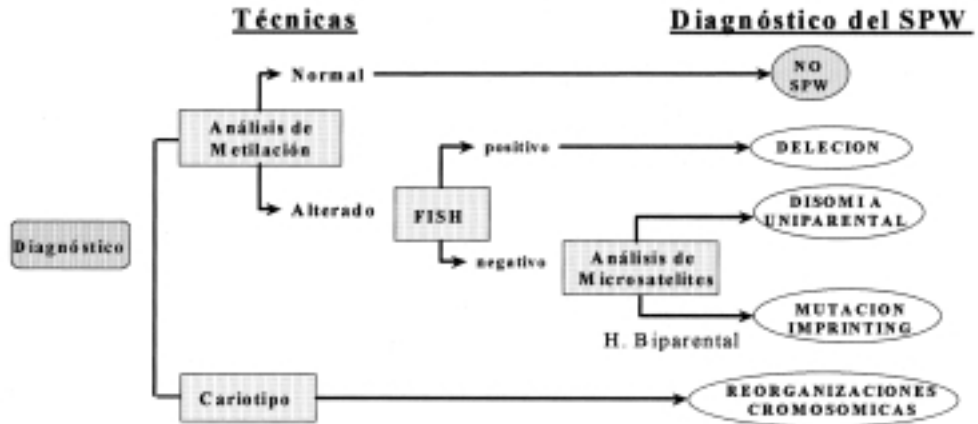


Fig. 6. Protocolo de diagnóstico molecular.

#### 4. HERENCIA

La herencia del SPW no sigue un modelo simple como podría ser una transmisión *autosómica recesiva* (es necesario que los dos alelos de un gen estén alterados para que se manifieste la enfermedad), *autosómica dominante* (basta con que un alelo del gen este alterado) o *ligada al sexo* (se manifiesta en hombres siendo las mujeres portadoras), ya que este tipo de herencias no pueden explicar la variedad de manifestaciones que presenta el SPW, ello en parte es debido a que deben ser varios los genes implicados. Por otra parte, muchas de las alteraciones moleculares que lo originan son comunes con el SA. Estos hechos hicieron pensar que podría estar implicado el fenómeno del imprinting genómico (Reik *et al.*, 1987). Se observó que el fragmento delecionado en el SPW y SA era el mismo, tan solo difería en su origen parental, deleción paterna en SPW y deleción materna en el SA. De este modo se aceptó la idea de que un mecanismo epigenético estaba asociado a la etiología de estos síndromes.

Las disomías uniparentales apoyan la idea de que el cromosoma 15 presenta regiones que se comportan de forma diferente según procedan del padre o la madre. Ciertos genes sólo se expresan a partir del cromosoma paterno. Por ello son necesarios ambos para el normal desarrollo embrionario.

Sin embargo el imprinting genómico no es el único mecanismo responsable de la etiología de estos síndromes. Algunos autores como Kousseff *et al.*, 1987, apoyan una condición de síndrome de genes contiguos, y Donlon, 1988, está a favor de múltiples *loci* ordenados linealmente con un componente recesivo. Quizás el modelo de Kennerknecht, 1992, es el que más se aproxima a la explicación de estos síndromes. Según este modelo serían dos los mecanismos responsables: por una parte una mutación cromosómica o génica específica y por otra un mecanismo epigenético inespecífico, siendo necesarios ambos para que se den las manifestaciones clínicas. Las observaciones que apoyan este modelo serían: