

# SÍNDROME DE PRADER-WILLI POR DISOMIA UNIPARENTAL MATERNA Y UN CARIOTIPO CON UN CROMOSOMA MARCADOR EN MOSAICO

M<sup>a</sup> Luisa Martínez-Fernández<sup>1,2</sup>, Laura Rodríguez<sup>1,2</sup>, Santiago López Mendoza<sup>3</sup>, M<sup>a</sup> Isabel Aceña<sup>1</sup>, Pablo Lapunzina<sup>2,4</sup>, M<sup>a</sup> Luisa Martínez-Frías<sup>1,2,5</sup>.

<sup>1</sup> ECEMC, Centro de Investigación sobre Anomalías Congénitas (CIAC), Instituto de Salud Carlos III. Madrid.

<sup>2</sup> Centro de Investigación Biomédica en Red de Enfermedades Raras (CIBERER). Madrid.

<sup>3</sup> Servicio de Pediatría, Hospital Nuestra Señora de La Candelaria. Santa Cruz de Tenerife.

<sup>4</sup> Servicio de Genética Médica. Hospital Universitario La Paz. Madrid

<sup>5</sup> Departamento de Farmacología, Facultad de Medicina, Universidad Complutense. Madrid.

## Summary

### Title: Prader-Willi syndrome by maternal uniparental disomy and a karyotype with a marker chromosome in mosaic.

Prader-Willi syndrome (PWS) is a neurogenetic disorder that results from different abnormalities involving chromosome 15, which could have either a (q11-q13) paternal microdeletion, maternal uniparental disomy (UPD) or a defect of the imprinting centre.

Recently, it has been observed that the risk of UPD for any chromosome is increased when a supernumerary marker chromosome (SMC) is present. In fact, four mechanisms have been proposed to explain UPD in individuals carrying a SMC: 1) **Functional trisomy rescue**: In a trisomic zygote one of the three chromosomes undergoes a rearrangement to form a SMC, thereby reducing the chromosome complement to two. 2) **Postzygotic reduplication**: In a zygote which has inherited a SMC in place of the normal corresponding chromosome, a duplication of the normal chromosome homologue occurs to "rescue" the cell from aneuploidy. 3) **Postfertilisation error**: a postzygotic formation by either nondisjunction in early mitosis and subsequent reduction of the monosomic chromosome homologue or vice versa. 4) **Complementation**: fertilisation of a disomic gamete by a gamete having a SMC formed before, or during meiosis.

Here we present a malformed newborn girl who presented with arched palate, amimic facies, congenital hips laxity, right talus valgus, marked hypotonia, breathing difficulties and hyaline membrane requiring antibiotics treatment. Cytogenetic analysis on blood culture showed two cellular lines, one normal (93.2% of the cells) and the other with a SMC present in 6.8% of the cells (47, XX, +mar/46,XX). As the clinical features of the patient suggested the PWS, Fluorescence In Situ Hybridization (FISH) analysis with the specific 15(q11-q13) region probe was performed, which gave normal results. However, the FISH and microsatellites analyses demonstrated that the SMC was derived from a chromosome 15, and the presence of maternal UPD for chromosome 15.

As far as we know, this is the seventh reported patient with PWS, generated by maternal UPD of the chromosomes 15 due to the presence of a SMC (15).

Therefore, we believe that is important to consider the increase risk of UPD in patients with a SMC, which is independent of the SMC origin and size, and the high implication for prenatal diagnosis.

## Introducción

El síndrome de Prader-Willi (SPW) (OMIM: #176270) es un desorden neurogenético causado por distintos mecanismos que involucran al cromosoma 15<sup>1</sup>. Fue identificado en 1956 por Prader, Labhart y Willi describiendo 14 pacientes con obesidad, hipogonadismo, criptorquidia, retraso mental e hipotonía<sup>2</sup>. Desde entonces se han descrito una gran cantidad de pacientes cuyo fenotipo se ha expandido incluyendo: estatura corta, hiperfagia y alteraciones del comportamiento<sup>3</sup>, siendo un síndrome bien conocido tanto clínica, como genéticamente.

Alrededor del 70% de los casos de SPW se originan por microdelección de la región q11-q13 del cromosoma 15 de origen paterno y el 28% es debido a disomía uniparental (DUP) materna, en la que los dos cromosomas 15 provienen de la madre. El 2% restante son resultado de alteraciones del centro de imprinting<sup>3</sup>.

Ocasionalmente, en pacientes con clínica del SPW se han encontrado pequeños cromosomas extra derivados del cromosoma 15<sup>4</sup>, y se ha demostrado que la presencia de dicho cromosoma marcador aumentaba el riesgo de DUP materna produciendo el SPW<sup>1,4-8</sup>.

El término cromosoma marcador extra, también llamado "cromosoma marcador supernumerario" o SMC (de sus siglas en inglés), se refiere a la presencia de un cromosoma de más pero estructuralmente anómalo, con un tamaño igual o menor a un cromosoma 20 de la misma metafase. Los SMCs no se pueden caracterizar mediante técnicas de bandas de citogenética convencional sino con técnicas de citogenética molecular, como la hibridación in situ con fluorescencia (FISH)<sup>1</sup>. Su frecuencia en recién nacidos se ha estimado en alrededor del 0,043%<sup>9</sup> y su origen es fundamentalmente de los cromosomas acrocéntricos (el 86% de los casos) aunque el 50% de ellos derivan del cromosoma 15<sup>10</sup>.

Los SMC suelen estar asociados a una gran variabilidad fenotípica debida, en primer lugar, a la cantidad de eucromatina que puedan tener. De hecho, en los casos con SMC grandes y con eucromatina es en los que se ha observado mayor repercusión fenotípica, mientras que en los casos con SMC pequeños, en pocas ocasiones se asocian a manifestaciones clínicas al estar restringidos sólo a heterocromatina<sup>11</sup>. En segundo lugar, pueden presentarse en mosaico, por lo que variaciones en el porcentaje de células que contengan el SMC, van a ser determinantes para la repercusión clínica. Así, cuanto mayor sea la proporción de células que contienen el SMC, más alta será la probabilidad de afectación en los individuos portadores. Por último, se ha observado que la presencia de un SMC, independientemente de su tamaño, podría implicar un riesgo para la formación de DUP de los cromosomas homólogos de los que deriva dicho SMC, generando las manifestaciones clínicas propias de la DUP<sup>12</sup>.

En este artículo se describe el caso de una niña cuyas manifestaciones clínicas al nacimiento hicieron sospechar el SPW, y cuyo cariotipo de alta resolución reveló un SMC muy pequeño y aparentemente sin eucromatina, derivado de un cromosoma 15.

## Caso Clínico

El propositus es una niña nacida a las 32 semanas de gestación, producto del embarazo de una madre de 43 años sana, desconociéndose los datos del padre. La recién nacida pesó 1.725g (3<p<25), tenía una talla de 46 cm (75<p<90) y un perímetro cefálico de 30 cm (p50). Presentó un Apgar al minuto de 4 y de 7 a los 5 minutos. En la exploración neonatal se observó paladar ojival, facies amímica, caderas laxas, pie derecho talo valgo, una marcada hipotonía generalizada por la que mantenía una postura en "libro abierto" y dificultad respiratoria con membrana hialina, siguiendo un tratamiento con surfactante y antibioterapia, y se mantuvo con oxígeno suplementario durante cuatro días.

Se realizó una biopsia muscular para estudio del metabolismo energético, cuyo resultado puso de manifiesto una disminución de la actividad de múltiples enzimas mitocondriales (complejo I+III, complejo II, SDH (+PMS), complejo III y complejo IV) así como disminución del contenido muscular de carnitina (total y libre). Al mes y 12 días de vida, mantenía constantes normales y correcta tolerancia a la alimentación oral, aunque persistía la marcada hipotonía y debilidad muscular.

## Métodos

Para el diagnóstico citogenético de este caso, se realizaron varias técnicas comenzando por el análisis de los cromosomas de alta resolución (550-850 bandas). La marcada hipotonía que presentaba la paciente sugería la posibilidad de que tuviera un síndrome de Prader-Willi, por lo que se aplicaron técnicas de FISH con la sonda específica para la región del Prader-Willi/Angelman, que se encuentra en la región 15q11-q13.

Además, para la identificación del SMC se aplicaron técnicas de FISH con la sonda específica para los centrómeros del cromosoma 15, por ser uno de los cromosomas más frecuentes en la formación de SMCs.

Por último, para determinar la procedencia de los dos cromosomas 15 normales se utilizaron microsatélites polimórficos del cromosoma 15 de la región crítica de Prader-Willi/Angelman (D15S210, TK4 y G5) y de los marcadores D15S123 (de la región 15q21.1), D15S125 (de la región 15q21.3) y D15S131 (de la región 15q22.1).

## Resultados

El análisis cromosómico mostró un mosaico con dos líneas celulares, ambas con fórmula sexual XX. Una línea celular tenía 47 cromosomas y estaba presente en el 6,8% de las células, siendo el cromosoma extra un SMC de pequeño tamaño (Fig. 1); la segunda línea celular con 46 cromosomas, estaba presente en el 93,2% de las células estudiadas. El cariotipo de alta resolución de los padres fue normal, por lo que la alteración cromosómica se había producido de novo.

El resultado del análisis de FISH de la región del SPW mostró una señal en ambos cromosomas 15, descartándose, por tanto, que tuviera SPW por microdelección. Sin embargo, no se pudo confirmar ni descartar la presencia de dicha región de eucromatina en el SMC porque en el estudio con FISH no se visualizaron células con el SMC, probablemente debido a que el porcentaje de células con 47 cromosomas

somas era muy bajo. Por este mismo motivo en el análisis de los centrómeros con técnicas de FISH, sólo se identificó una célula con 47 cromosomas en la que se observaba tres señales, dos de ellas en los cromosomas 15 y la tercera en el SMC, lo que permitió identificar que el SMC era derivado de un cromosoma 15 (Fig. 2).

El análisis molecular con microsatélites polimórficos mostró una expresión monoalélica materna de los marcadores TK4 y D15S210 en ambos cromosomas 15. De este modo, se pudo determinar que la paciente había heredado de su madre los dos cromosomas 15, presentando una DUP, del tipo isodisomía. Por tanto, la paciente tenía el SPW por DUP materna generada por el SMC derivado del cromosoma 15.

El origen parental del SMC no se pudo estudiar, aunque parece probable que sea de origen paterno puesto que los dos cromosomas 15 son de origen materno y falta el cromosoma 15 paterno.

## Discusión

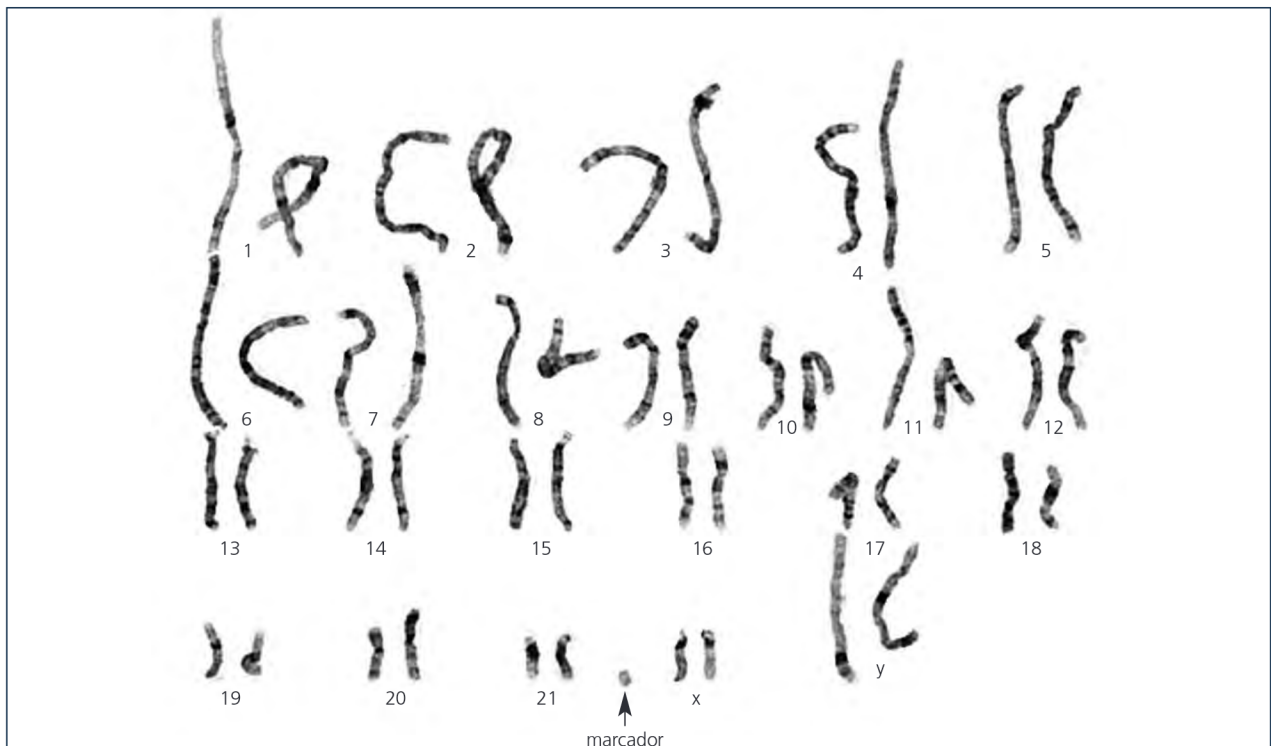
La paciente que se describe en este artículo presenta los rasgos característicos del SPW y un cariotipo que tiene una doble alteración consistente en un SMC en mosaico,

posiblemente procedente de un cromosoma 15 paterno, y una isodisomía uniparental materna de la pareja de cromosomas 15.

El SPW es el síndrome de microdeleción más frecuente en el ser humano, y ha sido también el más estudiado. Como se comentó en la introducción, se puede producir por tres tipos de alteraciones, siendo una de ellas por la herencia de dos cromosomas 15 maternos (DUP). Esta DUP puede ser de dos tipos: a) Isodisomía, (Fig. 3A) cuando un individuo hereda dos copias de un mismo cromosoma 15 de un progenitor, en el que se produjo una no disyunción en la meiosis II, por lo que los cromosomas 15 que tiene el individuo son idénticos<sup>13,14</sup>; b) Heterodisomía, (Fig. 3B) cuando un individuo recibe la pareja de cromosomas 15 homólogos del mismo progenitor por una no disyunción en la meiosis I materna<sup>15</sup>, por lo que un cromosoma proviene del abuelo materno y el otro de la abuela materna.

Por otra parte, se considera que la presencia de un SMC crea inestabilidad celular, incrementando la probabilidad de una no disyunción<sup>4</sup>, dando lugar a alteraciones durante la división celular. De hecho, cuando una célula en la que existe el SMC inicia una meiosis, durante el apareamiento meiótico de los cromosomas homólogos en la profase, el SMC se aparea con parte de su cromosoma homólogo que

FIGURA 1. Cariotipo de alta resolución con el cromosoma marcador extra.



a su vez está unido al otro homólogo normal, lo que alterará la segregación cromosómica y/o la separación de las cromátidas, dando lugar a gametos con DUP y a otros con el SMC. Esta situación se produce también cuando tras la fecundación, durante las mitosis de la multiplicación celular, se origina un cigoto con un gameto que lleva un cromosoma 15 siendo el otro un SMC, ya que, por la inestabilidad que produce, puede dar lugar a células con DUP y el SMC.

Se han propuesto cuatro mecanismos posibles para explicar la formación de DUP mediada por un SMC en el mismo paciente <sup>4,13</sup>, representadas en la figura 4 que son:

- 1) Rescate funcional trisómico: En la Fig. 4A, se muestra la formación de un cigoto trisómico que ha heredado una heterodisomía de los cromosomas homólogos de un progenitor y un sólo homólogo del otro progenitor. Para evitar la trisomía, en una de las divisiones celulares tempranas del cigoto y debido a la inestabilidad celular, el homólogo monosómico sufre roturas que dan lugar a un SMC.

FIGURA 2. FISH con la sonda específica para los centrómeros del cromosoma 15. Se aprecian tres señales, dos de ellas en los cromosomas 15 y la otra en el cromosoma marcador extra.

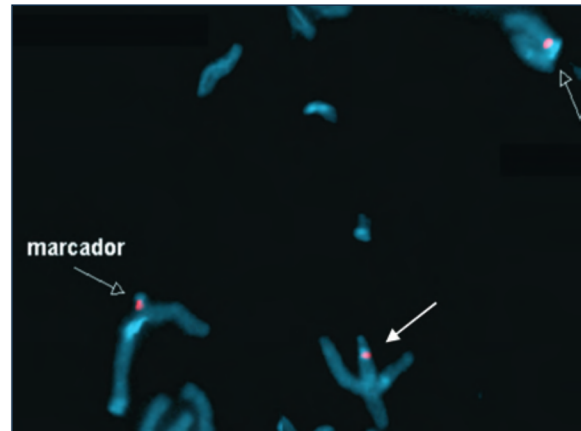
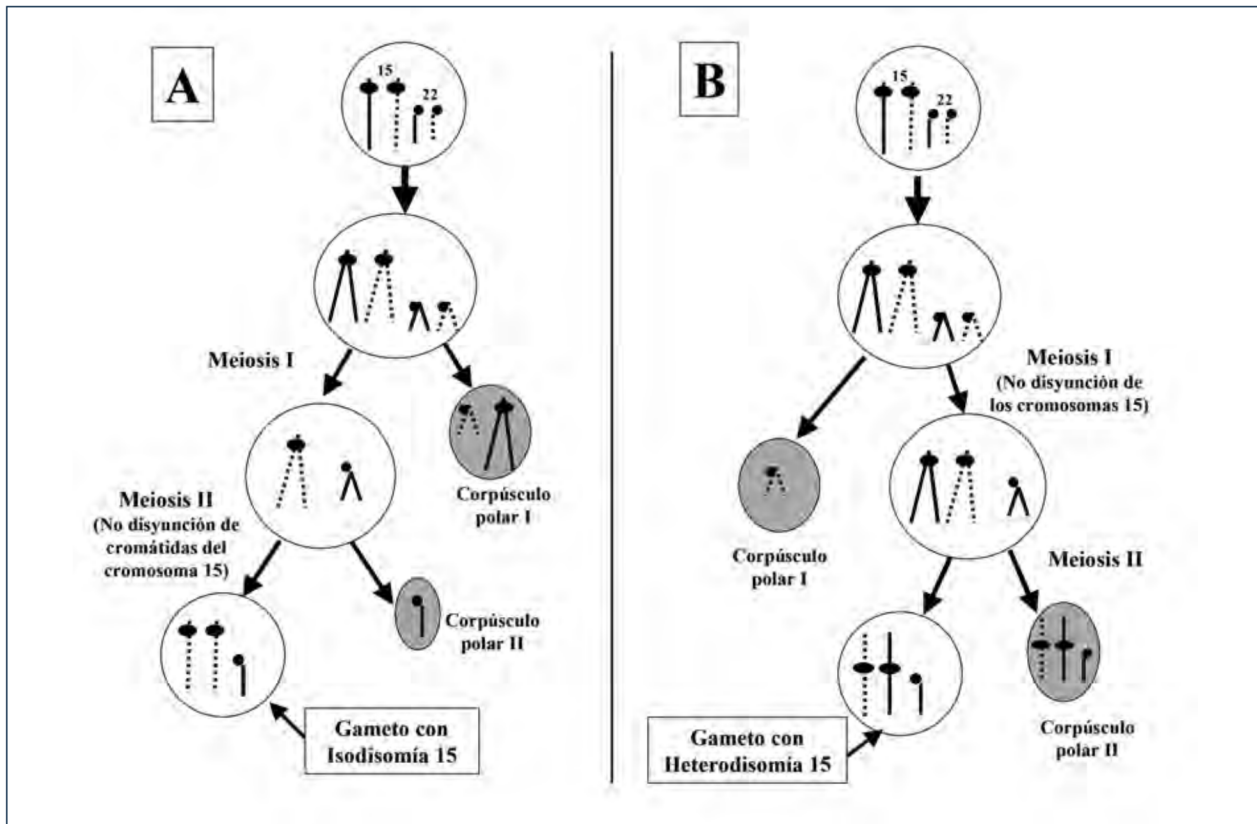


FIGURA 3. Meiosis materna, célula con una pareja de cromosomas 15 y otra de cromosomas 22.

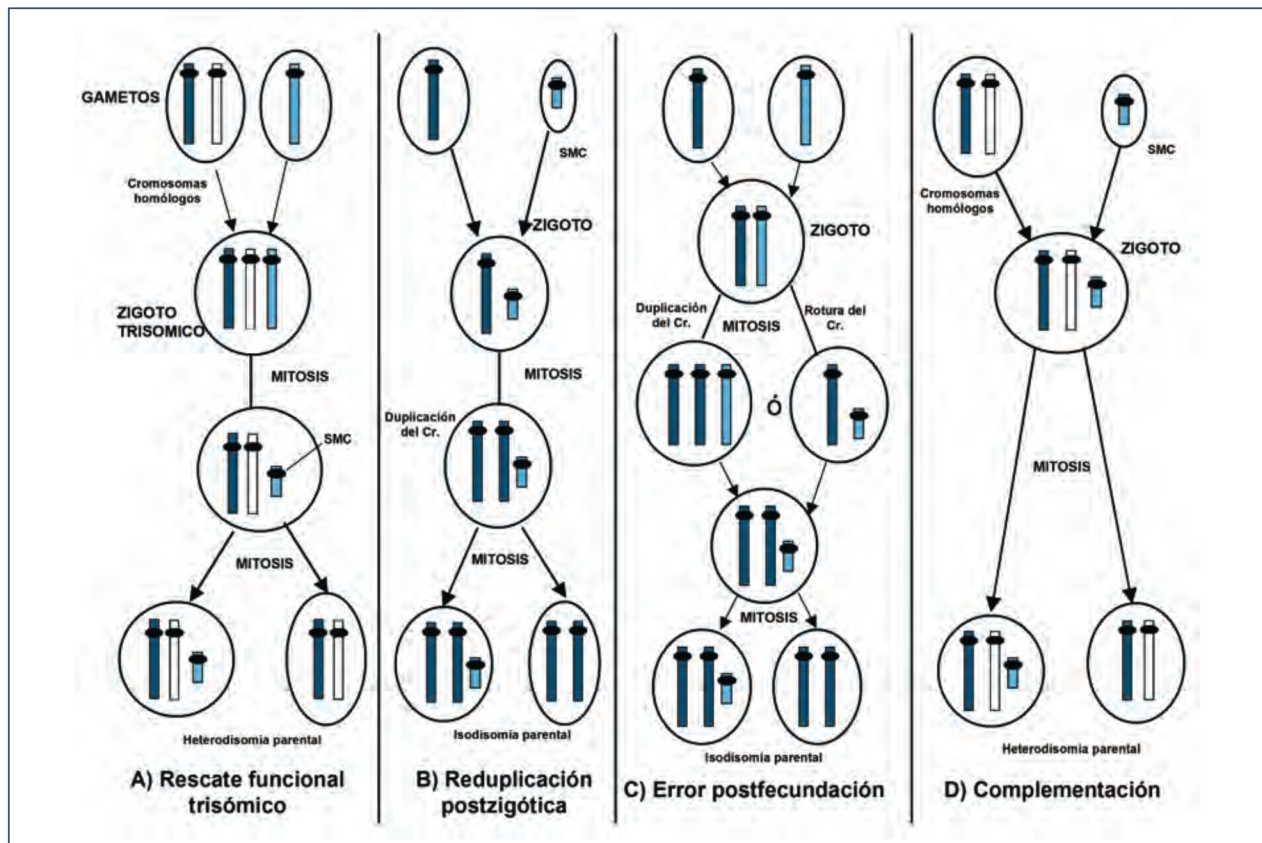


- 2) Reduplicación postzigótica: (Fig. 4B) En este mecanismo, un gameto contiene un SMC y otro gameto lleva un cromosoma homólogo normal. Al producirse la fecundación, se forma un cigoto en el que la pareja que se establece con el SMC, tiene ausencia de todo el trozo que le falta al SMC, lo que da lugar a una gran zona cromosómica aneuploide. Para escapar de esta "aneuploidía", el cromosoma homólogo normal se duplica, originando una isodisomía uniparental, y dando lugar a un mosaico, ya que el SMC pasaría a unas células y no a otras. Este mecanismo parece poco frecuente debido a que son escasos los casos publicados que lo han podido documentar.
- 3) Error postfecundación: (Fig. 4C) Se trata de un mecanismo postzigótico en el que a partir de dos gametos normales, cada uno con su cromosoma homólogo, se origina un cigoto normal. En una mitosis temprana, se puede producir uno de los siguientes errores: 1) una no disyunción dando lugar a una célula trisómica en la que posteriormente para evitar la trisomía, se produce una rotura del cromosoma homólogo monosómico,

- con un mecanismo igual al descrito en el apartado A de la Fig. 4. 2) la rotura de uno de los cromosomas formando una célula parcialmente aneuploide, que para escapar de esta aneuploidía, va a producir una duplicación del cromosoma homólogo normal, como el descrito en el apartado B (Fig 4). Este mecanismo es el más complejo, y del que no existen casos publicados hasta la fecha.
- 4) Complementación: (Fig. 4D) En este caso, ambos gametos están alterados. Uno tiene una heterodisomía de los cromosomas homólogos, y el otro contiene un SMC formado antes o durante la meiosis de uno de los progenitores. Se formaría así un cigoto con heterodisomía y un SMC.

En la paciente que se describe, se ha confirmado una isodisomía del cromosoma 15 materno junto con la presencia de un SMC del cromosoma 15, por lo que los mecanismos que han podido producir esta doble alteración podrían ser la reduplicación postzigótica (Fig. 4B), o bien el error postfecundación (Fig. 4C). El mecanismo de error postfecundación es muy complejo, ya que deben ocurrir dos errores, una no disyunción en una mitosis temprana y

FIGURA 4. Mecanismos posibles para explicar la formación de DUP mediada por un SMC en el mismo paciente.



una reducción posterior del cromosoma homólogo no duplicado, o bien la rotura de un cromosoma homólogo y la posterior duplicación del otro homólogo. Por otra parte, no se ha confirmado si este mecanismo ocurre realmente, puesto que no existen casos en la literatura que lo apoyen. En consecuencia, en la paciente que se describe, lo más probable es que se produjera una reduplicación postzigótica (Fig. 4B). Es decir que uno de los gametos llevaba el SMC de un cromosoma 15, formado durante la meiosis del padre (puesto que la alteración es de novo), y durante el desarrollo embrionario se produjo una duplicación del cromosoma 15 materno, originando así la isodisomía uniparental materna, que es la verdadera responsable del fenotipo de SPW. Aunque este mecanismo, es el más sencillo para obtener una isodisomía con un SMC, no es muy frecuente. De hecho, esta niña representa el séptimo paciente publicado con SPW generado por disomía uniparental materna de los cromosomas 15 junto con la presencia de un SMC derivado del cromosoma 15<sup>1,4-8</sup>.

Con este artículo queremos resaltar la importancia de estudiar el origen de los cromosomas marcadores que, aunque no contengan eucromatina, pueden generar de manera secundaria disomías uniparentales causantes de alteraciones clínicas. Además, sería recomendable descartar la existencia de una DUP en los casos de mosaicos con SMC en diagnóstico prenatal<sup>4</sup> y en los niños que teniendo uno de estos SMC, sin eucromatina, muestran mala evolución, o clínica compatible con algún síndrome generado por DUP, como el síndrome de Beckwith–Wiedemann (DUP paterna del cromosoma 11p), el síndrome de Angelman (DUP paterna del cromosoma 15), el síndrome de Prader–Willi (DUP materna del cromosoma 15) o la diabetes neonatal transitoria (DUP paterna del cromosoma 6)<sup>16</sup>.

## Referencias

- Liehr T, Brude E, Gillissen-Kaesbach G, König R, Mrasek K, von Eggeling F, Starke H. Prader-Willi syndrome with a karyotype 47,XY,+min(15)(pter->q11.1:) and maternal UPD 15--case report plus review of similar cases. *Eur J Med Genet.* 2005 Apr-Jun; 48(2):175-81. Epub 2005 Feb 17. Review.
- Gorlin RJ, Cohen MM, Hennekam RCM. *Syndromes of the Head and Neck.* 4th Edition. Oxford University Press, Inc 2001. Págs.419-424.
- Gunay-Aygun M, Schwartz S, Heeger S, O'Riordan MA, Cassidy SB. The changing purpose of Prader-Willi syndrome clinical diagnostic criteria and proposed revised criteria. *Pediatrics.* 2001 Nov; 108(5):E92.
- Robinson WP, Wagstaff J, Bernasconi F, Baccichetti C, Artifoni L, Franzoni E, Suslak L, Shih LY, Aviv H, Schinzel AA. Uniparental disomy explains the occurrence of the Angelman or Prader-Willi syndrome in patients with an additional small inv dup(15) chromosome. *J Med Genet.* 1993 Sep;30(9):756-60.
- Cheng SD, Spinner NB, Zackai EH, Knoll JH. Cytogenetic and molecular characterization of inverted duplicated chromosomes 15 from 11 patients. *Am J Hum Genet.* 1994 Oct; 55(4):753-9.
- Bettio D, Rizzi N, Giardino D, Grugni G, Briscioli V, Selicorni A, Carnevale F, Larizza L. FISH análisis in Prader-Willi and Angelman syndrome patients. *Am J Med Genet.* 1995; 56(2):224-228.
- Mignon C, Malzac P, Moncla A, Depetris D, Roeckel N, Croquette MF, Mattei MG. Clinical heterogeneity in 16 patients with inv dup 15 chromosome: cytogenetic and molecular studies, search for an imprinting effect. *Eur J Hum Genet.* 1996;4(2):88-100.
- Borelina D, Esperante S, Gutnisky V, Ferreiro V, Ferrer M, Giliberto F, Frechtel G, Francipane L, Szijan I. Supernumerary marker 15 chromosome in a patient with Prader-Willi syndrome. *Clin Genet.* 2004 Mar;65(3):242-3.
- Liehr T, Claussen U, Starke H. Small supernumerary marker chromosomes (sSMC) in humans. *Cytogenet Genome Res.* 2004; 107(1-2):55-67. Review
- Blennow E, Nielsen KB, Telenius H, Carter NP, Kristoffersson U, Holmberg E, Gillberg C, Nordenskjöld M. Fifty probands with extra structurally abnormal chromosomes characterized by fluorescence in situ hybridization. *Am J Med Genet.* 1995 Jan 2;55(1):85-94.
- Roberts S, Maggouta F, Thompson R, Price S, Thomas S. A patient with a supernumerary marker chromosome (15), Angelman syndrome, and uniparental disomy resulting from paternal meiosis II non-disjunction. *J Med Genet.* 2002 Feb; 39(2):E9.
- James RS, Temple IK, Dennis NR, Crolla JA. A search for uniparental disomy in carriers of supernumerary marker chromosomes. *Eur J Hum Genet.* 1995;3(1):21-6.
- Kotzot D. Supernumerary marker chromosomes (SMC) and uniparental disomy (UPD): coincidence or consequence? *J Med Genet.* 2002 Oct;39(10):775-8.
- Chu C, Schwartz S, McPherson E. Paternal uniparental isodisomy for chromosome 14 in a patient with a normal 46,XY karyotype. *Am J Med Genet A.* 2004 Jun 1;127A(2):167-71.
- Werner M, Ben-Neriah Z, Silverstein S, Lerer I, Dagan Y, Abelevich D. A patient with Prader-Willi syndrome and a supernumerary marker chromosome r(15)(q11.1-13p11.1) pat and maternal heterodisomy. *Am J Med Genet A.* 2004 Aug 30;129A(2):176-9.
- Mattes J, Whitehead B, Liehr T, Wilkinson I, Bear J, Fagan K, Craven P, Bennetts B, Edwards M. Paternal uniparental isodisomy for chromosome 14 with mosaicism for a supernumerary marker chromosome 14. *Am J Med Genet 2007 Part A* 143A:2165–2171.