

Síndrome de Prader Willi / Angelman - Test de metilación

Dra. María del Pilar Corral / Departamento de Citogenética
 Dr. Ariel I. Suárez / Departamento de Biología Molecular

Los síndromes de Prader-Willi (SPW; 4 OMIM 176270) y Angelman (SA, OMIM 105830) son dos desordenes neurogenéticos clínicamente distintos que se producen por alteraciones en la región cromosómica 15q11-q13.

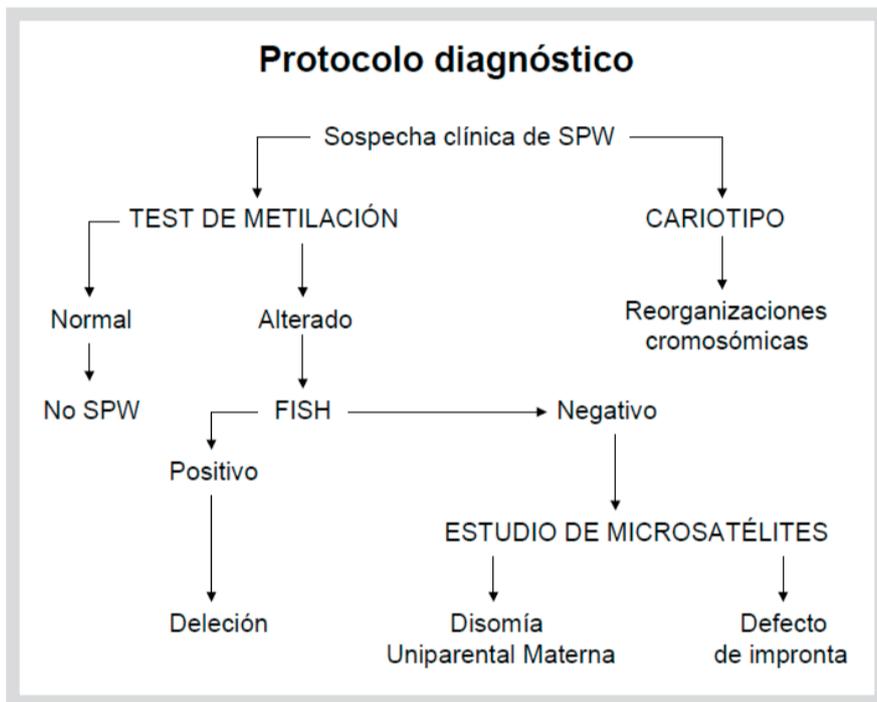
El SPW ocurre en 1 de cada 15.000 nacidos vivos y se caracteriza por presentar hipotonía severa al nacer, hiperfagia y desarrollo gradual de obesidad mórbida en la infancia, hipogonadismo y retraso mental. Aproximadamente el 70% de estos individuos presentan una deleción en la región 15q11.2-q13 en el cromosoma 15 heredado del padre, mientras que el 25% tiene disomía uniparental materna (UPD), < 5% tienen defectos en el centro de "imprinting" y el 1% tiene un reordenamiento cromosómico estructural que involucra a dicha región.

El SA tiene una incidencia similar al anterior y se caracteriza por retraso mental severo con ausencia del habla, microcefalia, risas inapropiadas, convulsiones, y movimientos atáxicos. De estos individuos un 70% tienen una deleción de origen materno en la región 15q11.2-q13, el 11% presenta una variante de la secuencia del gen UBE3A, el 7% tienen UPD paterna, y el 3% restante tiene defectos en el centro de "imprinting".

El diagnóstico de estos dos síndromes puede ser realizado por técnicas citogenéticas y moleculares, tales como el cariotipo de alta resolución, la hibridación in situ fluorescente (FISH), análisis de microsatélites y el análisis de metilación del ADN o "Test de metilación".

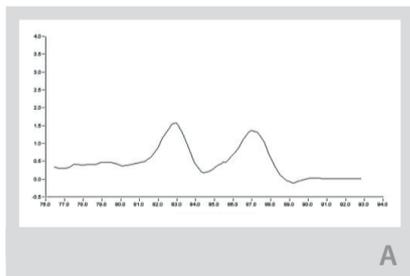
El enfoque para el diagnóstico de laboratorio de SA y SPW dependerá de una serie de factores que incluye la disponibilidad local de los diferentes tests y de los estudios previos realizados al paciente, siendo el estudio del patrón de metilación de la región 15q11-q13 por técnicas moleculares el más sensible y fiable. Esta región contiene al gen SNRPN cuyo promotor contiene una isla CpG que se encuentra metilada en el alelo materno y no metilada en el alelo paterno. Esta metilación diferencial permite distinguir el origen paterno y materno y constituye la base del análisis de metilación utilizado para el diagnóstico de SPW/SA.

La siguiente figura muestra un diagrama de flujo para el diagnóstico de SPW/SA

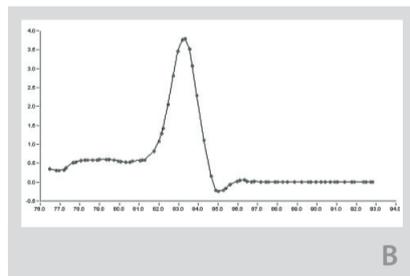


Actualmente en el laboratorio disponemos de un ensayo de Análisis de Melting Específico de Metilación (MS-MA), que permite establecer el patrón de metilación de la región promotora del gen SNRPN. Este análisis consta de tres etapas:

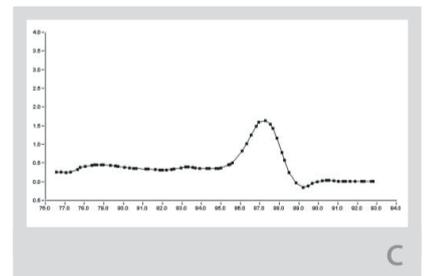
- Conversión del ADN del paciente con bisulfito de sodio.
- Amplificación por PCR en Tiempo Real
- Análisis de curvas de melting



A



B



C

- A) Patrón de metilación normal (alelo paterno y materno)
 B) Patrón de metilación anormal: ausencia del alelo materno compatible con SA.
 C) Patrón de metilación anormal: ausencia del alelo paterno compatible con SPW.

El presente protocolo representa una estrategia de detección rápida y precisa para confirmar el diagnóstico de sospecha clínica de pacientes SPW / AS. Permite la detección de más del 99% de los casos de SPW y el 80% de los casos de SA debidos a deleción de la región 15q11-q13 disomía uniparental y defectos del centro de imprinting. El 1% restante de los pacientes con SPW con otras alteraciones en esta región, y el 20% de los pacientes con SA con variantes en la secuencia en el gen UBE3A u otra causa desconocida, no son detectados por este ensayo.

Práctica: Test de metilación (PW-AS).
 Código: 0211
 Material: 3mL Sangre c/EDTA
 Resultados: 15 días

Referencias:

- 1- Practice guidelines for the molecular analysis of Prader-Willi and Angelman syndromes
 Simon C Ramsden*1, Jill Clayton-Smith2, Rachael Birch3 and Karin Buiting BMC Medical Genetics 2010, 11:70
- 2- Diagnostic Testing for Prader-Willi and Angelman Syndromes: Report of the ASHG/ACMG Test and Technology Transfer Committee American Society of Human Genetics/American College of Medical Genetics Test and Technology Transfer Comité
- 3- Molecular Diagnosis of Prader-Willi and Angelman Syndromes by Methylation-Specific Melting Analysis and Methylation-Specific Multiplex Ligation-Dependent Probe Amplification
 Melinda Procter,1 Lan-Szu Chou,1 Wei Tang,1 Mohamed Jama,1 and Rong Mao1,2,3 Clinical Chemistry 52:7 1276-1283 (2006)