

Reordenamientos subteloméricos complejos en un síndrome de Wolf-Hirschhorn familiar

R. Carceller Beltran, M. Bassecourt Serra, I. Carceller Beltran, A. Marco Tello, V. Rebage Moisés
Unidad Neonatal. Sección de Genética. Hospital Universitario «Miguel Servet». Zaragoza

Resumen

Presentamos el caso de una recién nacida, estudiada por un fenotipo peculiar con cariotipo normal. Se realizó un análisis genético de las regiones subteloméricas mediante la técnica MLPA (*multiplex ligation-dependent probe amplification*) y se confirmaron los hallazgos mediante hibridación *in situ* fluorescente (FISH). Se detectó un reordenamiento de estas regiones en los cromosomas 4 y 20 de manera que la paciente presentaba una delección en 4p y una amplificación en 20p, responsable la primera de ellas del síndrome clínico de Wolf-Hirschhorn. En el estudio familiar se encontró un reordenamiento subtelomérico balanceado en el padre de la niña y en la hermana del padre, cuya hija resultó también estar afectada por dicho síndrome.

Palabras clave

Síndrome de Wolf-Hirschhorn, síndrome 4p, monosomía 4p-trisomía parcial 20p, MLPA, FISH, cromosopatía

Introducción

Las alteraciones cromosómicas que involucran a las regiones subteloméricas son el factor genético causante en el 5-7% de los individuos con retraso mental^{1,2}. Por esta razón, el cribado de los subtelómeros es una herramienta de gran valor diagnóstico en pacientes con una puntuación clínica ≥ 3 , empleando el listado para reordenamientos elaborada por De Vries³: historia familiar de retraso mental, retraso del crecimiento intrauterino, alteraciones del crecimiento posnatal, 2 o más características de dismorfia facial, una o más características de facies no dismórfica o anomalías congénitas.

El método generalmente utilizado para la identificación de estas alteraciones ha sido la hibridación *in situ* fluorescente (FISH) en metafase, pero resulta caro y requiere tiempo. Un método alternativo es un ensayo disponible de reacción en cadena de la polimerasa (PCR), conocido como *multiplex ligation-dependent probe amplification* (MLPA), que permite una cuantificación rápida y precisa de toda la región subtelomérica, por lo que se está utilizando para detectar defectos en estas regiones en pacientes con retraso mental de causa desconocida u otros rasgos clínicos. Las aberraciones identificadas mediante MLPA pueden ser confirmadas posteriormente

Abstract

Title: Complex subtelomeric rearrangements in familial Wolf-Hirschhorn syndrome

We report the case of a girl who presented a peculiar phenotype at birth, with a normal karyotype. Genetic analysis of the subtelomeric regions was performed using multiplex ligation-dependent probe amplification (MLPA) and the findings were confirmed by fluorescent *in situ* hybridization (FISH). A rearrangement of these regions was detected in chromosomes 4 and 20, there being a 4p deletion, which is responsible for Wolf-Hirschhorn syndrome, and an amplification of 20p. In the family study, we found a balanced subtelomeric rearrangement in the girl's father and in the father's sister, whose daughter was also found to be affected by the syndrome.

Keywords

Wolf-Hirschhorn syndrome, 4p-syndrome, monosomy 4p-partial trisomy 20p, MLPA, FISH, chromosome aberration

mediante análisis de FISH con sondas específicas para los telómeros implicados⁴.

El síndrome de Wolf-Hirschhorn, descrito en 1965 por Wolf et al., se trata de una aberración cromosómica estructural, con una frecuencia estimada de 1/50.000 nacimientos, que se manifiesta clínicamente por una serie de alteraciones fenotípicas a todos los niveles^{5,6} (tabla 1); las más características son las craneofaciales, que configuran en su conjunto una facies en «casco de guerrero griego». Existen otras alteraciones, como el retraso de crecimiento prenatal y posnatal, la microcefalia, el retraso mental grave, con coeficiente intelectual inferior a 20, las cardiopatías congénitas, las anomalías renales y genitales, y también son frecuentes las crisis convulsivas^{6,7}. Además, tras el síndrome 5p-, o *cri du chat*, constituye el segundo síndrome por delección del grupo B delineado⁸.

La causa del síndrome es un defecto en la porción distal del brazo corto del cromosoma 4, más concretamente en la banda 4p16.3. Según Lejeune et al.⁹, la pérdida de los segmentos terminales 4p16→4p-ter es una condición necesaria para la completa expresión del síndrome. La mayoría de los casos (90%) aparecen *de novo* y se originan generalmente en el cromosoma 4 paterno. La mayoría de los casos debidos a una translocación balanceada son de origen materno, y en ellos

TABLA 1

Malformaciones estructurales en el síndrome de Wolf-Hirschhorn

	<ul style="list-style-type: none"> • Microcefalia • Dolicocefalia • Prominencia frontal • Raíz nasal ancha y plana • Hipertelorismo • Hendiduras palpebrales oblicuas • Punta nasal cuadrada que rebasa el tabique • <i>Philtrum</i> profundo y estrecho • Labio leporino y fisura palatina • Micrognatia • Anomalías del cartilago auricular • Foseta preauricular 		
<i>Cuello</i>	<ul style="list-style-type: none"> • Largo y fino 		
<i>Tronco</i>	<ul style="list-style-type: none"> • Forma alargada • Escoliosis • Costillas supernumerarias • Malformaciones vertebrales • Espina bifida • Sacro bífido • Foseta coccígea 	<i>Miembros</i>	<ul style="list-style-type: none"> • Aspecto grácil • Luxación de las caderas • Fosetas en los codos y las rodillas • Dedos largos • Pliegues supernumerarios • Pulgares de implantación alta • Posturas viciosas en los dedos de los pies
		<i>Genitales</i>	<ul style="list-style-type: none"> • Hipospadias. Pene pequeño • Testículos ectópicos • Hipoplasia escrotal
		<i>Órganos internos</i>	<ul style="list-style-type: none"> • Defectos del septo cardíaco • Malformaciones del sistema nervioso central • Malformaciones renales

encontramos, además de la deleción distal en 4p, una duplicación de un segmento del otro cromosoma implicado en la translocación^{6,10,11}. Con respecto a estas trisomías parciales que suelen acompañar a la monosomía 4p— en los casos de translocaciones no balanceadas, hay que destacar que las alteraciones fenotípicas predominantes suelen deberse a la deleción en 4p— (fenotipo del síndrome de Wolf-Hirschhorn), que no están enmascaradas por las trisomías parciales¹².

Presentamos el caso de una recién nacida afectada de una monosomía 4p con el fenotipo clínico característico y una tri-

somía parcial 20p resultante de una traslocación balanceada paterna, estudiada mediante estos métodos de análisis genético de alta resolución (MLPA, FISH), así como su familia, y comentamos los aspectos más interesantes del caso clínico.

Caso clínico

Recién nacida, de 35 semanas de edad gestacional, primera hija de padres sanos y no consanguíneos, con historia familiar



Figura 1. Se aprecia la cara peculiar en forma de «casco de guerrero griego» y las fosetas y pliegues supernumerarios de flexión en los codos

de retraso mental en 3 hermanos del padre. Embarazo por fecundación *in vitro*, con triple cribado negativo, parto por cesárea por crecimiento intrauterino retardado (CIR) y Doppler patológico. Apgar 7/9. Peso 1.500 g (<p3), talla 41 cm (<p3), perímetro craneal (PC) 28,5 cm (<p3). En la exploración resaltaba una facies inexpresiva y dismórfica muy característica, con aspecto de «casco de guerrero griego», con microcefalia y prominencia de la frente, raíz nasal ancha y larga, con la punta de aspecto cuadrado, hipertelorismo y hendiduras palpebrales antimongoloides, retromicrognatia y orejas puntiagudas de implantación normal. Otros hallazgos del examen físico fueron los

siguientes: paladar ojival, tronco largo y fino, extremidades gráciles con fosetas y pliegues de flexión supernumerarios en ambos codos, y también una foseta coccígea sin fístula (figura 1). Los pulgares de ambas manos eran de implantación proximal, con clinodactilia de los dedos 2 y 5; en los dedos de los pies se observaban también posturas viciosas.

Los estudios biológicos, el fondo de ojo, la radiología, las pruebas de neuroimagen y las ecografías cardíaca y renal fueron normales. El electroencefalograma (EEG) mostró un trazado con signos de inmadurez, y los potenciales evocados troncula-

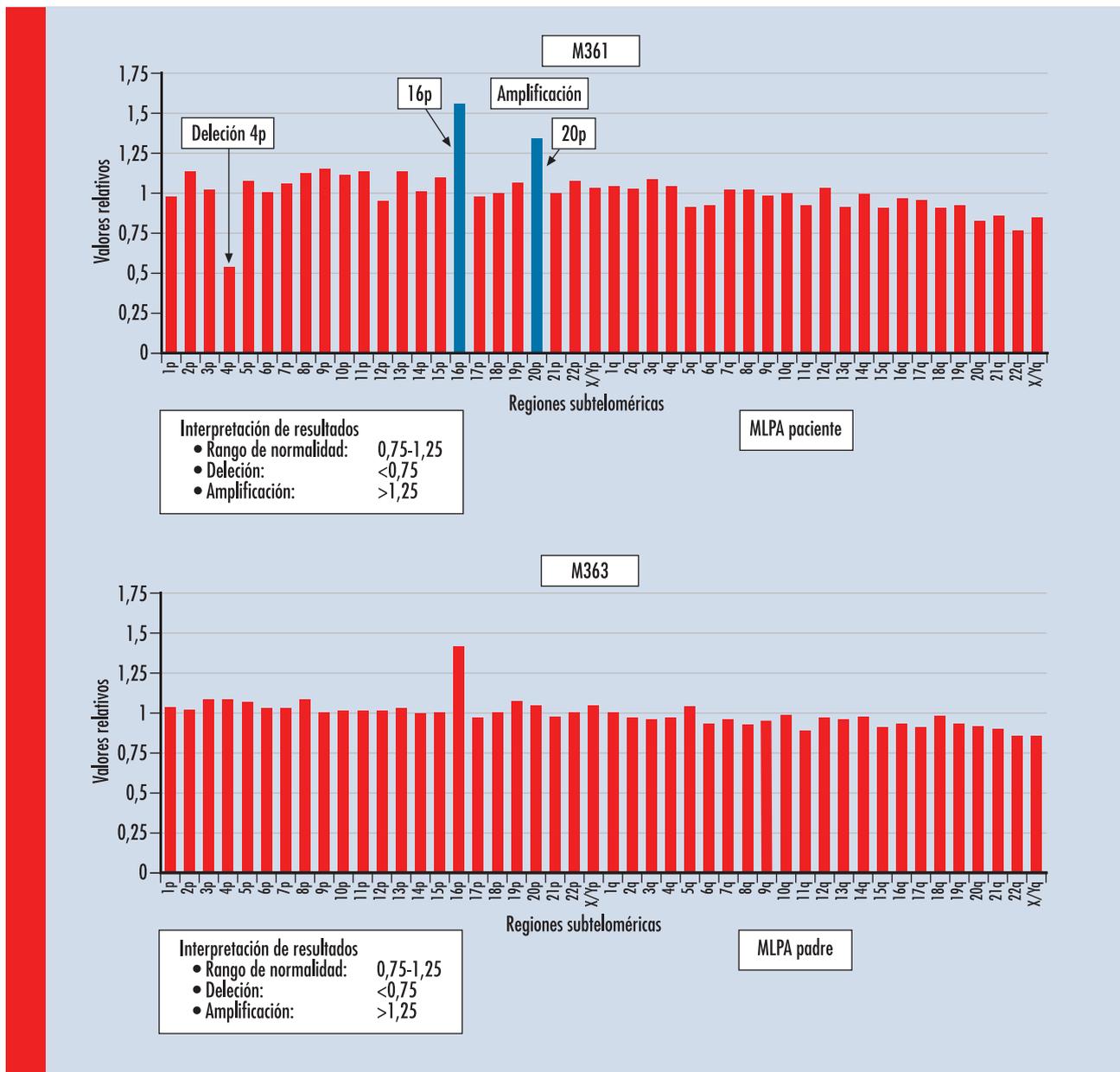


Figura 2. Análisis genético de las regiones subtroméricas mediante la técnica MLPA

res una notable disfunción de las vías auditivas, sobre todo en el oído derecho.

La paciente fue incluida precozmente en un programa de estimulación motora y sensorial y, actualmente, a los 24 meses de vida, su evolución está determinada por un desarrollo pondostatural lento, con peso, talla y PC <p3, y un retraso global en sus adquisiciones psicomotoras, con notable hipotonía, y crisis convulsivas por epilepsia controladas con valproato sódico a partir del año de vida.

El cariotipo realizado fue aparentemente normal con bandeado GTG (a 550) en el probando y los padres. Se decidió aplicar el análisis de MLPA empleando el kit SALSA P036 Human Telomere Test (MRC-Holland, Ámsterdam, Holanda)¹³, compuesto por una serie de sondas diseñadas específicamente para testar todos los desequilibrios cromosómicos teloméricos. Este análisis en la paciente mostró una delección de la región terminal del cromosoma 4p y amplificaciones de las regiones subtelo méricas 16p y 20p, y en el padre una amplifica-

ción de la región terminal del cromosoma 16p sin otros reordenamientos subtelo méricos (figura 2). En la madre no se evidenció ninguna alteración. A continuación se realizó un análisis mediante FISH para confirmar los reordenamientos subtelo méricos identificados por MLPA, empleándose las sondas Vysis específicas para telómeros. Con las sondas del síndrome de Wolf-Hirschhorn (LSI WHS 4p16.3) y 20pTEL (D20S1157), las imágenes de FISH mostraron el desequilibrio de los reordenamientos detectados por MLPA en la niña, hallándose una delección telomérica 4p y la amplificación del telómero 20p, con una translocación no balanceada de 20p a 4p-. La fórmula cromosómica de la niña era: 46, XX, ish der(4), der(20), del(4)(p16.3)(D4S3359-), ish trip(20)(p13)(D20S1157x3). En cuanto al padre, el análisis de FISH, empleando las mismas sondas que en su hija, mostró un reordenamiento subtelo mérico balanceado por una translocación recíproca entre el brazo 4p y el 20p. La fórmula cromosómica del padre era: 46, XY, ish der(4)t(4;20)(p16.3-p13) (figura 3). La amplificación de 16p que mostraba el análisis MLPA en la niña y en su padre no pudo

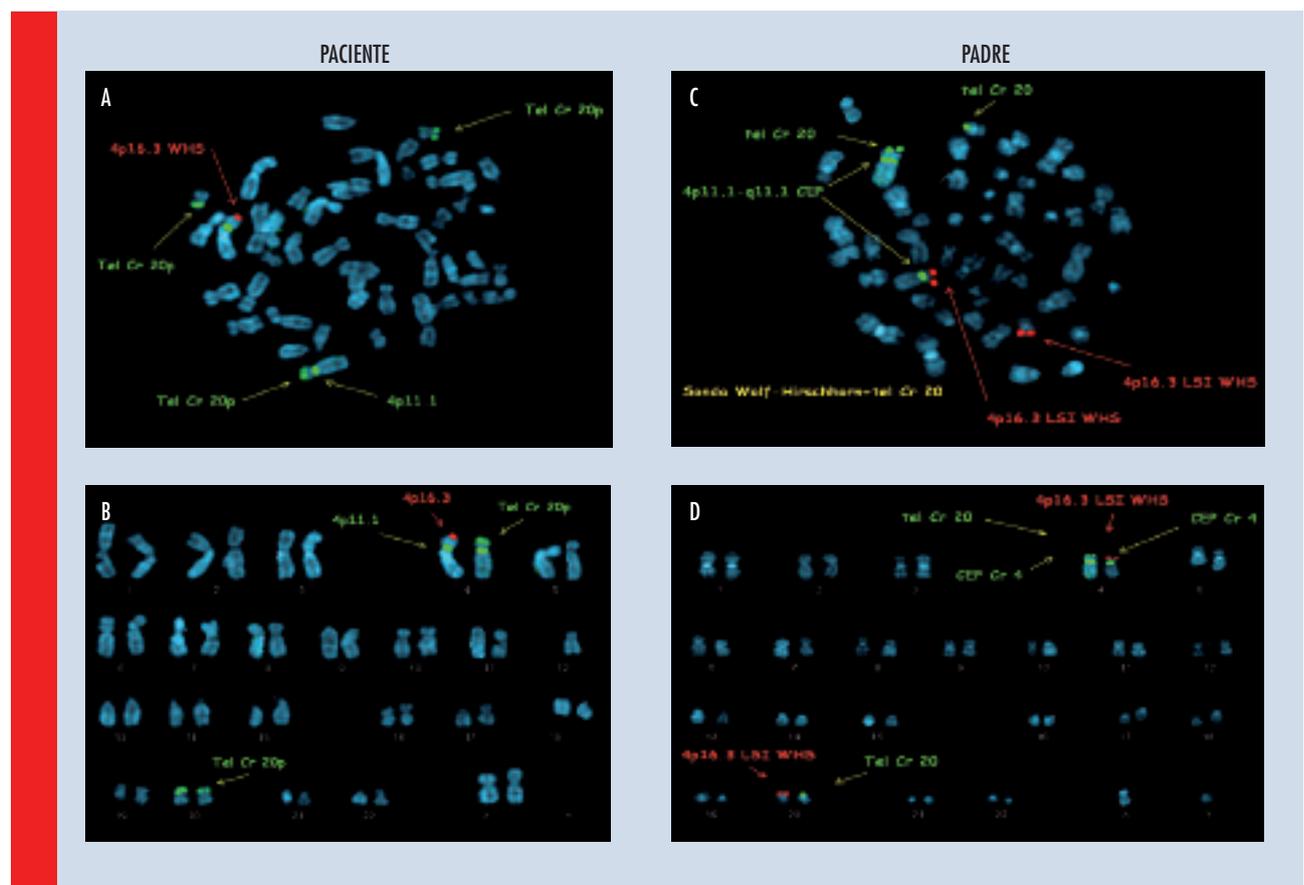


Figura 3. Estudio genético mediante FISH. A) Sonda LSI WHS Wolf-Hirschhorn Cr 4 + sonda Tel Cr 20p. Se aprecia la delección en la región 4p16.3 del brazo corto del cromosoma 4 y la trisomía en la región Tel 20p del brazo corto del cromosoma 20. B) La paciente ha heredado el cromosoma 4 anómalo paterno y el cromosoma 20 normal del mismo. C) Sonda LSI WHS Wolf-Hirschhorn Cr 4 + sonda Tel Cr 20p. Se observa la translocación recíproca entre las regiones teloméricas de los brazos cortos del cromosoma 4 y los brazos cortos del cromosoma 20. D) La paciente ha heredado del padre el cromosoma 4 anómalo y el cromosoma 20 normal, lo que ha provocado una delección Cr 4p + trisomía Cr 20

demostrarse en ninguno de los 2 mediante FISH aplicando la sonda 16pTEL(D16S3400) y painting 16, debido probablemente a un polimorfismo familiar.

Se intentó estudiar, además, a la familia del padre por los antecedentes de retraso mental en 3 de sus hermanos, probablemente afectados por la desestructuración cromosómica, pero no fue posible. Sí se pudo realizar el mismo análisis a una hermana del padre y su hija; la hermana resultó ser portadora de la misma translocación balanceada, y su hija presentaba la misma desestructuración cromosómica que la paciente.

Discusión

Según los resultados del estudio genético, la paciente de este caso clínico es trisómica para los segmentos p13→p-ter del cromosoma 20, y monosómica para los segmentos p16.3→p-ter del cromosoma 4. La monosomía parcial del cromosoma 4 parece ser la causa determinante del fenotipo clínico del síndrome de Wolf-Hirschhorn.

Revisando la literatura médica, hemos encontrado numerosas publicaciones con monosomía parcial 4p- pura o combinada con diferentes trisomías parciales (de 4q, 6p, 9p, 10p, 12q, 13q, 15q, 18p, 20p y 21q) y, en ocasiones, con otras monosomías parciales (14q y 21q). En 2 de los estudios revisados, la alteración cromosómica hallada era la misma que la de nuestro caso, 4p- y 20p+^{9,14}, y en ambos, la causa de la alteración cromosómica era también la presencia en el padre de una translocación balanceada entre los brazos cortos de los cromosomas 4 y 20. En uno de ellos se realizó el estudio completo de la familia por antecedentes obstétricos desfavorables: el padre del feto con la alteración 4p- y 20p+ presentaba una translocación balanceada entre los brazos cortos de los cromosomas 4 y 20, con una inversión en el cromosoma 18: t(4;20)(p16;p12), inv(18)(p11q11). El feto afectado por la alteración cromosómica era producto de una segunda gestación tras un aborto previo, confirmándose con la amniocentesis una trisomía de 20p con monosomía de 4p, oligoamnios grave y retraso del crecimiento fetal. La gestación terminó a las 25 semanas tras un aborto terapéutico, comprobándose, además del retraso de crecimiento intrauterino, múltiples anomalías externas y hallazgos internos por necropsia, característicos del síndrome de Wolf-Hirschhorn. El estudio de la familia se había realizado por el antecedente en el hermano del padre de una translocación balanceada entre los brazos cortos de los cromosomas 4 y 20, tras haber tenido un primer hijo con una malformación y un aborto posterior, y un recién nacido normal aunque portador de la misma translocación balanceada¹⁴.

En cuanto a las técnicas utilizadas para el diagnóstico de aneuploidías, la FISH es la más utilizada debido a su gran sensibilidad y especificidad, pero al ser un método caro y lento, resulta muy útil la aplicación del ensayo de PCR disponible, conocido como MLPA. Este método nos va a permitir, de manera sencilla y relativamente económica, una cuantificación rápida y precisa de toda la región subtelo mérica, lo que lo convier-

te en una técnica altamente aconsejable para el cribado diagnóstico en este tipo de desestructuraciones cromosómicas. Las aberraciones identificadas mediante MLPA pueden ser confirmadas posteriormente por FISH con sondas específicas para los telómeros implicados⁴.

La importancia de nuestro caso, y en general de estos diagnósticos, radica principalmente en la posibilidad de ofrecer un consejo genético adecuado a los padres y facilitar el diagnóstico prenatal en los casos necesarios. ■

Bibliografía

1. Knight SJ, Flint J. Perfect endings: a review of subtelomeric probes and their use in clinical diagnosis. *J Med Genet.* 2000; 37: 401-409.
2. De Vries BB, Winter R, Schinzel A, van Ravenswaaij-Arts C. Telomeres: a diagnosis at the end of the chromosomes. *J Med Genet.* 2003; 40: 385-398.
3. De Vries BB, Knight SJ, Homfray T, Smithson SD, Flint J, Winter RM. Submicroscopic subtelomeric 1qter deletions: a recognisable phenotype? *J Med Genet.* 2001; 38: 175-178.
4. Locatelli A, Mariano S, Ciriello E, Dalpra L, Villa N, Sala E, et al. Role of FISH on uncultured amniocytes for the diagnosis of aneuploidies in the presence of fetal anomalies. *Fetal Diagn Ther.* 2005; 20(1): 1-4.
5. Wolf U, Porsch R, Baitsch H, Reinwein M. Deletion on short arms of a B chromosome without «cri du chat» syndrome. *Lancet.* 1965; 1: 769-773.
6. De Grouchy J, Turleau C. Atlas des maladies chromomiques. 10.^a ed. París: Expansion Scientifique Française, 1982; 36-38.
7. Kohlschmidt N, Zielinski J, Bruñe E, Schafer D, Olert J, Hallermann C, et al. Prenatal diagnosis of a fetus with a cryptic translocation 4p, 18p and Wolf-Hirschhorn syndrome. *Prenat Diagn.* 2000; 20(2): 152-155.
8. Correa-Nazco VJ, Romero-Pérez JC, Martín V, Laynez-Cerdeña P, Minguélez-Morales M, Linares-Feria L. Síndrome de Wolf-Hirschhorn. *Rev Neurol.* 1999; 28(9): 925-930.
9. Lejeune J, Rethoré MO, Dutrillaux B, Lafourcade J, Cruveiller J, Drillon P. Syndrome 4p- par translocation paternelle t(4;20)(p15;p12). *Lyon Medicale.* 1975; 233: 271-274.
10. Dufke A, Seidel J, Schoning M, Dobler-Neumann M, Kelbova C, Liehr T, et al. Microdeletion 4p16.3 in three unrelated patients with Wolf-Hirschhorn syndrome. *Cytogenet Cell Genet.* 2000; 91(1-4): 81-84.
11. Zimmermann-Bar U, Stallmach T, Riegel M, Wiedemann U, Fauchere JC, Binkert F, et al. Wolf-Hirschhorn syndrome due to a 3:1 segregation of a maternal balanced t(4;15)(p16.3;q11) translocation. *Prenat Diagn.* 2000; 20(10): 847-850.
12. Lurie IW, Lazjuk GI, Ussova YI, Presman EB, Gurevich DB. The Wolf-Hirschhorn syndrome I. *Genetics. Clin Genet.* 1980; 17: 375-384.
13. Schouten J, McElquinn CJ, Vaaijer R, Zwijnenburg D, Diepuens F, Pals G, et al. Relative quantification of 40 nucleic acid sequences by multiplex ligation-dependent probe amplification. *Nucl Acid Res.* 2002; 30: 57.
14. Vamos E, Pratola D, Van-Regemorter N, Freund M, Flament-Durand J, Rodesch F. Prenatal diagnosis and fetal pathology of partial trisomy 20p-monosomy 4p resulting from paternal translocation. *Prenat Diagn.* 1985; 5: 209-214.