

## ORIGINAL

### Síndrome de inversión duplicación del cromosoma 15 (INVDUP15) «de novo»: presentación de tres casos clínicos<sup>☆</sup>

Mercedes Bassecourt Serra<sup>a</sup>, M. Dolores Miramar Gallart<sup>a,\*</sup>, Ana Rodríguez Valle<sup>a</sup>,  
M. José Alcaine Villarroja<sup>a</sup>, M. Teresa Calvo Martín<sup>a</sup> y Javier López Pisón<sup>b</sup>

<sup>a</sup> Sección de Genética, Servicio de Bioquímica Clínica, Hospital Universitario Miguel Servet, Zaragoza, España

<sup>b</sup> Departamento de Neuropediatría, Servicio de Pediatría, Hospital Universitario Miguel Servet, Zaragoza, España

Recibido el 27 de febrero de 2011; aceptado el 23 de mayo de 2011

Disponible en Internet el 7 de septiembre de 2011

#### PALABRAS CLAVE

Cromosoma 15;  
Invdup15;  
Prader-Willi;  
Hipotonía;  
Retraso psicomotor

#### Resumen

**Introducción:** El síndrome de inversión duplicación del cromosoma 15 se refiere a un conjunto de características clínicas entre las que se encuentran hipotonía central desde el nacimiento, retraso psicomotor, epilepsia o trastorno del espectro autista. Una invdup(15) resulta de la tetrasomía parcial de 15q y generalmente está implicada la región del Síndrome de Prader-Willi (SPW). Se evalúan tres casos remitidos a Genética por hipotonía y retraso psicomotor.

**Material y métodos:** Cultivo de linfocitos de sangre periférica, cariotipo de alta resolución, FISH, extracción de ADN de linfocitos de sangre periférica, MS-MLPA de SPW y estudio de microsatélites.

**Resultados:** El primer caso presentó un cariotipo 47,XY+der(15)(q13;p11.2)(pter->q13::p11.2->pter) y un cariotipo molecular arr 15q12.1q13(18,432,358-26,658,490)x3~4 con ganancia de 8,23Mb implicando a genes sometidos a imprinting de la región causante de los síndromes de PWS y Angelman (SA). En el segundo caso se obtuvo una fórmula cromosómica 47, XX, + mar.ish idic (15)(q13)(Acro p-arm ++, D15Z1 ++, D15S10 ++, PML-) y cariotipo molecular arr 15q11.2q13.3(18,432,358-30,230,511)x3, con duplicación de aproximadamente 12Mb. En el tercer caso la paciente resultó ser portadora de una doble línea celular en mosaico 47,XX+ der (15) inv (15)(q11;p11.2) [40%] / 46,XX [60%]. En los tres casos se analizó mediante MLPA la región del SPW encontrándose un patrón de metilación alterado y la causa genética resultó ser un síndrome invdup(15) «de novo».

**Discusión:** A pesar de la dificultad para establecer una correlación fenotipo-genotipo en los casos con invdup(15) las técnicas genéticas más recientes pueden aportar información para el diagnóstico clínico de estos pacientes.

© 2011 AEBM, AEFA y SEQC. Publicado por Elsevier España, S.L. Todos los derechos reservados.

<sup>☆</sup> Este trabajo corresponde a una comunicación científica presentada y premiada con el tercer premio en el IV Congreso Nacional del Laboratorio Clínico celebrado en Zaragoza del 20 al 22 de octubre de 2010.

\* Autor para correspondencia.

Correo electrónico: [mdmiramar@salud.aragon.es](mailto:mdmiramar@salud.aragon.es) (M.D. Miramar Gallart).

**KEYWORDS**

Chromosome 15;  
Invdup(15);  
Prader-Willi;  
Hypotonia;  
Developmental delay

**Chromosome 15 inversion duplication syndrome (INVDUP15) ‘‘de novo’’:  
Presentation of three clinical cases****Abstract**

**Introduction:** The chromosome 15 inversion duplication syndrome refers to distinctive clinical findings, such as, early central hypotonia, developmental delay, epilepsy and autistic behaviour. Invdup(15) results from partial 15q tetrasomy and the Prader-Willi syndrome (PWS) region is generally involved. We have analyzed three clinical cases in a Genetics Unit diagnosed with hypotonia and developmental delay.

**Material and methods:** Lymphocyte cultures from peripheral blood samples, high resolution karyotype, FISH, DNA isolation from peripheral blood leukocytes, PWS MS-MLPA and microsatellites study.

**Results:** The first case showed a karyotype 47,XY+der(15)(q13;p11.2)(pter->q13::p11.2->pter) and a molecular karyotype arr 15q12.1q13(18,432,358-26,658,490)x3 ~ 4 with an extra 8.23Mb genetic material involving imprinted genes from SPW and Angelman (SA) syndromes region. In the second case there was a karyotype 47, XX, + mar.ish idic (15)(q13)(Acro p-arm ++, D15Z1 ++, D15S10 ++, PML-) and a molecular karyotype arr 15q11.2q13.3(18,432,358-30,230,511)x3 with an approximately 12Mb duplication. The third patient was a carrier of a mosaic double line cell with karyotype 47,XX+ der (15) inv (15)(q11;p11.2) [40%] / 46,XX [60%]. In the three cases the SPW region was analysed using a modified methylation pattern and all resulted from a invdup(15) «de novo» genetic defect.

**Discussion:** Although it is difficult to establish a phenotype-genotype correlation in invdup (15) cases, most recent genetic techniques should provide information for the clinical diagnosis in these patients.

© 2011 AEEM, AEFA y SEQC. Published by Elsevier España, S.L. All rights reserved.

**Introducción**

Las inversiones duplicaciones del cromosoma 15, también llamadas invdup(15), cromosoma 15 isodicéntrico o idic(15) son cromosomas marcadores morfológicamente heterogéneos, que están constituidos por el brazo corto del cromosoma 15 y secuencias proximales 15q. Este reordenamiento genético se ha denominado síndrome invdup(15) y está incluido en la clasificación MIM ([www.ncbi.nlm.nih.gov](http://www.ncbi.nlm.nih.gov); Mendelian Inheritance in Man; Johns Hopkins University), junto con otras alteraciones cromosómicas que implican una duplicación de la región 15q11-q13 como síndrome duplicación 15q11-q13 (MIM #608636). Han sido descritas diversas manifestaciones clínicas en pacientes con invdup(15), desde la ausencia de síntomas en individuos aparentemente no afectados hasta casos más severos con hipotonía central temprana, retraso en el desarrollo psicomotor y discapacidad intelectual, epilepsia y trastornos del espectro autista<sup>1-3</sup>. Presenta una prevalencia estimada de 1 por cada 30.000 nacidos con una razón de sexos de 1:1<sup>4</sup>. La invdup(15) es el cromosoma marcador más frecuente. La frecuencia estimada para los cromosomas marcadores es del 0,07% en individuos normales y del 0,3% en individuos con retraso mental, presentándose la invdup(15) en el 0,02%<sup>5,6</sup>. En pacientes diagnosticados de síndrome de Prader Willi (SPW; MIM #176270) se ha observado la invdup(15) con una alta frecuencia (1/40), a diferencia de lo que ocurre en el Síndrome de Angelman (SA; MIM #105830).

La mayoría de los cromosomas invdup(15) son dicéntricos, con un área de eucromatina entre ellos y pueden incluir o no la región 15q11-q13, relacionada con los síndromes de SPW y SA. En la región 15q11-q13 se han podido caracterizar tres puntos calientes de rotura, que se denominan BP1,

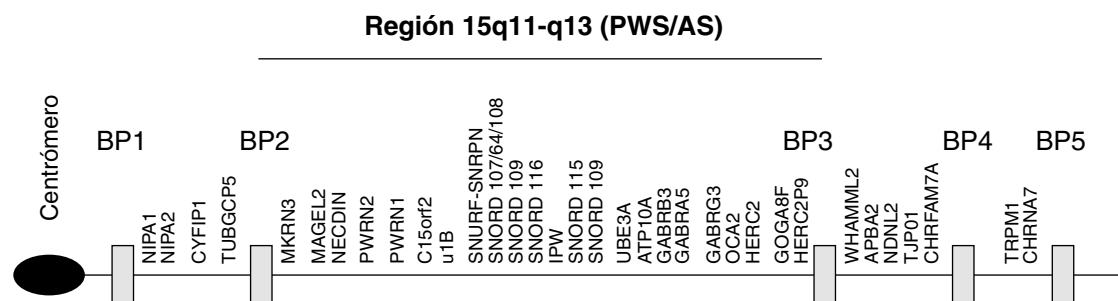
BP2 y BP3 (del inglés *breakpoints*) y en una región más distal se encuentran BP4 (15q13.1) y BP5 (15q13.3, muy próximo a 15q14). Se considera que estos puntos de rotura, formados por duplicones de 50-200 kb o LCR (del inglés *low copy repeats*) están implicados en la mayoría de las reorganizaciones cromosómicas que se producen en el cromosoma 15<sup>7-9</sup>. Se ha demostrado que estos duplicones presentan un número de copias variable en la población normal (CNV) y se considera que algunas variantes polimórficas podrían estar relacionadas con una predisposición a la génesis de los reordenamientos. La presencia de segmentos duplicados en 15q proximal proporciona un mecanismo para la recombinación homóloga, cuyo resultado dependerá del tamaño, la homología, la orientación y la disposición relativa de estos LCR, junto con el tipo de intercambios que puedan ocurrir entre ellos<sup>10</sup>. La formación de las invdup(15) puede ser por recombinación entre repeticiones invertidas a través de un intercambio intracromosómico, por un intercambio intercromosómico o a través de un intercambio tipo U entre homólogos implicando a BP3 o BP4<sup>10</sup>. Los fenotipos asociados a estos reordenamientos son distintos en función del origen parental de los mismos.

En este trabajo se evalúan tres casos remitidos a la consulta de Genética con diagnóstico clínico de hipotonía y retraso psicomotor.

**Materiales y métodos**

Se presenta el estudio de los siguientes pacientes:

**Caso 1:** Niño de 3 años. Hijo de padres sanos y hermana de 4 años sana. Parto por cesárea por no progresión.



**Figura 1** Mapa genético correspondiente al segmento del cromosoma 15 desde el centrómero hasta 15q14 (no a escala). La genes se han distribuido de acuerdo con su posición en el ensamblaje del genoma humano NCBI36/hg18 ([www.genome.ucsc.edu](http://www.genome.ucsc.edu)) Se muestran los puntos de ruptura BP1 y BP2 (15q11), BP3 (15.13.1) y los puntos más distales BP4 (15q13.3) y BP5 (próximo a 15q14), implicados en los reordenamientos invdup(15) más frecuentes.

EG:39+6 semanas. PC: 34cm. PRN: 2.870. Apgar: 9:10. Screening metabólico normal. En la revisión pediátrica de los dos meses se objetivó falta de sonrisa social, fijación y seguimiento visual bastante errático y discontinuo e hipotonía axial. Evolucionó con hipotonía y retraso psicomotor, con inicio de sedestación autónoma a los dos años e inicio de la deambulación a los tres. Ausencia de lenguaje hasta los dos años de edad y con tres años dice 4 palabras y presenta estereotipias y un contacto social intermitente compatible con trastorno del espectro autista y deficiencia cognitiva. Desarrollo pondoestatural y fenotipo morfológico normales. Potenciales evocados tronculares: hipoacusia bilateral leve, más acusada en oído izquierdo. ECO transfontanelar, fondo de ojo, EEG de sueño y potenciales evocados visuales, hemograma, bioquímica, amonio, láctico, aminoácidos, ácidos orgánicos, homocisteína, test de toluidina, ácidos grasos de cadena larga y hormonas tiroideas normales. Resonancia magnética cerebral realizada a los 5 meses de vida: inespecífico discreto aumento de espacios pericerebrales frontotemporales.

**Caso 2:** Niña de 7 años, segunda hija de padres sanos no consanguíneos de origen rumano. Embarazo normal con parto eutócico a término. PRN: 2.500. Periodo neonatal sin incidencias. Presentó importante retraso psicomotor con sedestación a los 15-16 meses y marcha autónoma a los 20 meses; escaso lenguaje: con 7 años máximo junta 3 palabras sin verbos. Perímetro cefálico en la - 2DS, con aplanamiento occipital; resto de exploración normal. Muy dispersa y pobre contacto social, compatible con trastorno del espectro autista y déficit cognitivo. EEG, potenciales evocados auditivos tronculares gases, iones, bioquímica general, hemograma, CK, amonio, láctico, aminoácidos, hormonas tiroideas, 3 hidroxibutirato y ácidos grasos libres normales. Resonancia magnética cerebral a los 4 años y 8 meses normal.

**Caso 3:** Niña de 8 años remitida a Genética por retraso psicomotor, hipotonía e hiperfagia. Antecedentes de embarazo normal y parto eutócico a término. Periodo neonatal sin incidencias. Screening neonatal normal. Pruebas bioquímicas incluyendo 17-beta estradiol, insulina, somatomedina e IGF-BP-3 y pruebas hematológicas normales. Se había informado de la presencia de un cromosoma marcador no identificado en mosaico en líquido amniótico materno y corroborado en sangre periférica de la paciente.

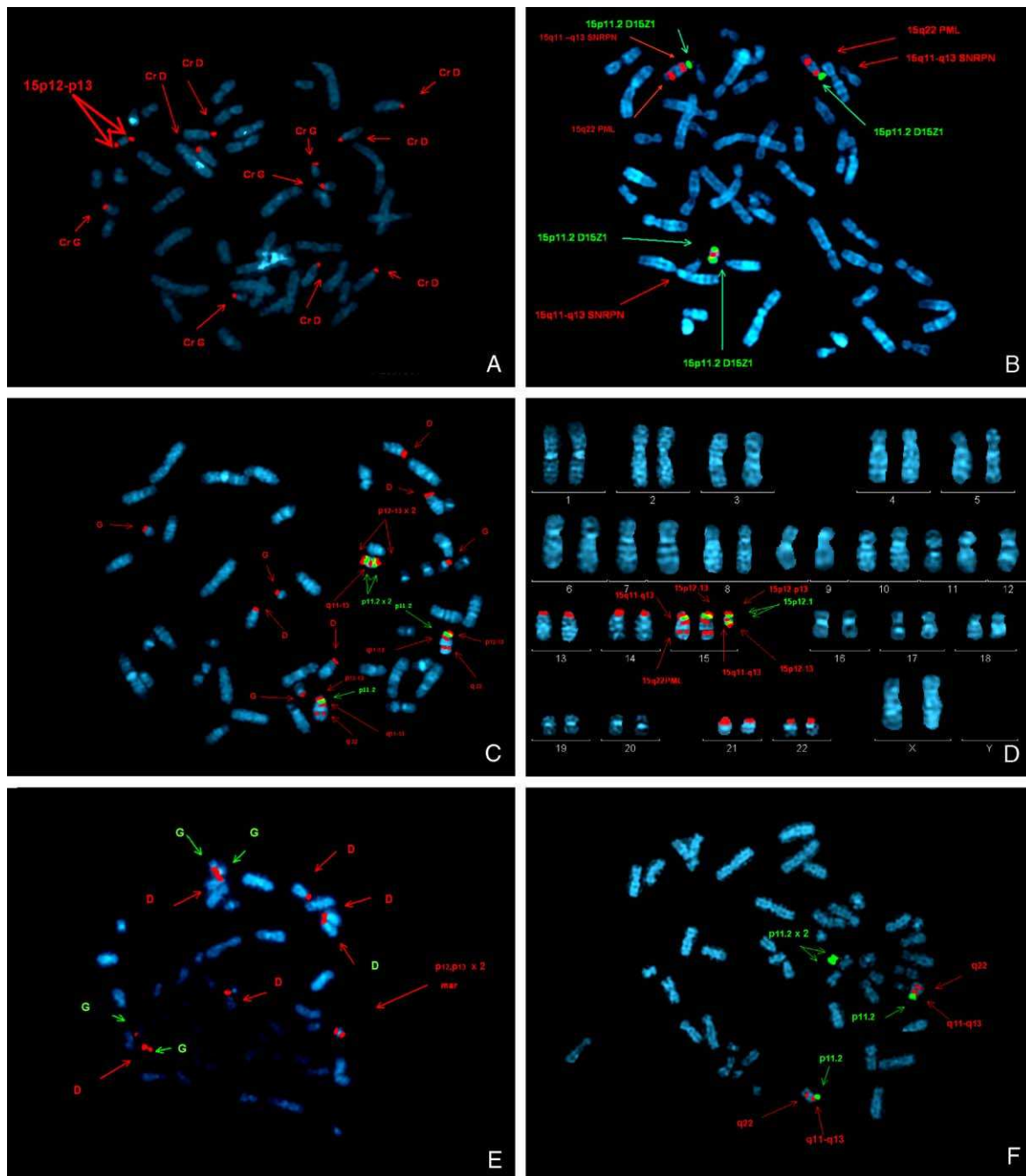
En los tres casos se informó a los padres sobre el contenido del estudio a realizar en la consulta de Genética y se obtuvo el consentimiento informado tanto para el análisis en ellos como en sus hijos, los cuales se incluyeron en las historias clínicas respectivas.

### Estudio citogenético

Se utilizó el protocolo de Euroclone S.P.A. modificado para el cultivo, sincronización celular y sacrificio de linfocitos en sangre periférica. La técnica de bandeo GTG se realizó según procedimientos estándar con la obtención de 850 bandas correspondientes al cariotipo de alta resolución y la hibridación *in situ* fluorescente (FISH) se llevó a cabo según las instrucciones del fabricante. Para la técnica FISH se trató una muestra cromosómica preparada en una porta con 10 µl de solución de hibridación formada por 7 µl de tampón (Vysis, Abbott), 2 µl de agua desionizada estéril y 1 µl de la sonda específica (Vysis, Abbott). En los casos combinados de dos sondas se añadieron 0,5 µl de cada una. Se utilizaron las sondas LSI D15S10 (Vysis, Abbott) de la región SPW/SA que incluye D15Z1 como control 15p11.2 y PML como control 15q22 y la sonda acro p-arm (Vysis). Los portas se incubaron durante toda la noche en un baño termostático equilibrado (Hybrite, Vysis) a 37 °C. Tras la incubación se realizaron dos lavados, dos minutos a 73 °C con solución de lavado 0,4X SSC/0.3% NP-40 pH 7,0-7,5 y un minuto con solución de lavado 2X SSC/0,1% NP-40 pH 7,0-7,5 a temperatura ambiente. Como marcador de fluorescencia se utilizó DAPI, 10 µl para cada zona de hibridación y se visualizó en un microscopio de fluorescencia Nikon Eclipse 90i a los 30 minutos, analizando 50 metafases en cada caso. El análisis se realizó con el software Ikaros karyotyping system v.5.3 (Metasystems, GMBH, Alemania).

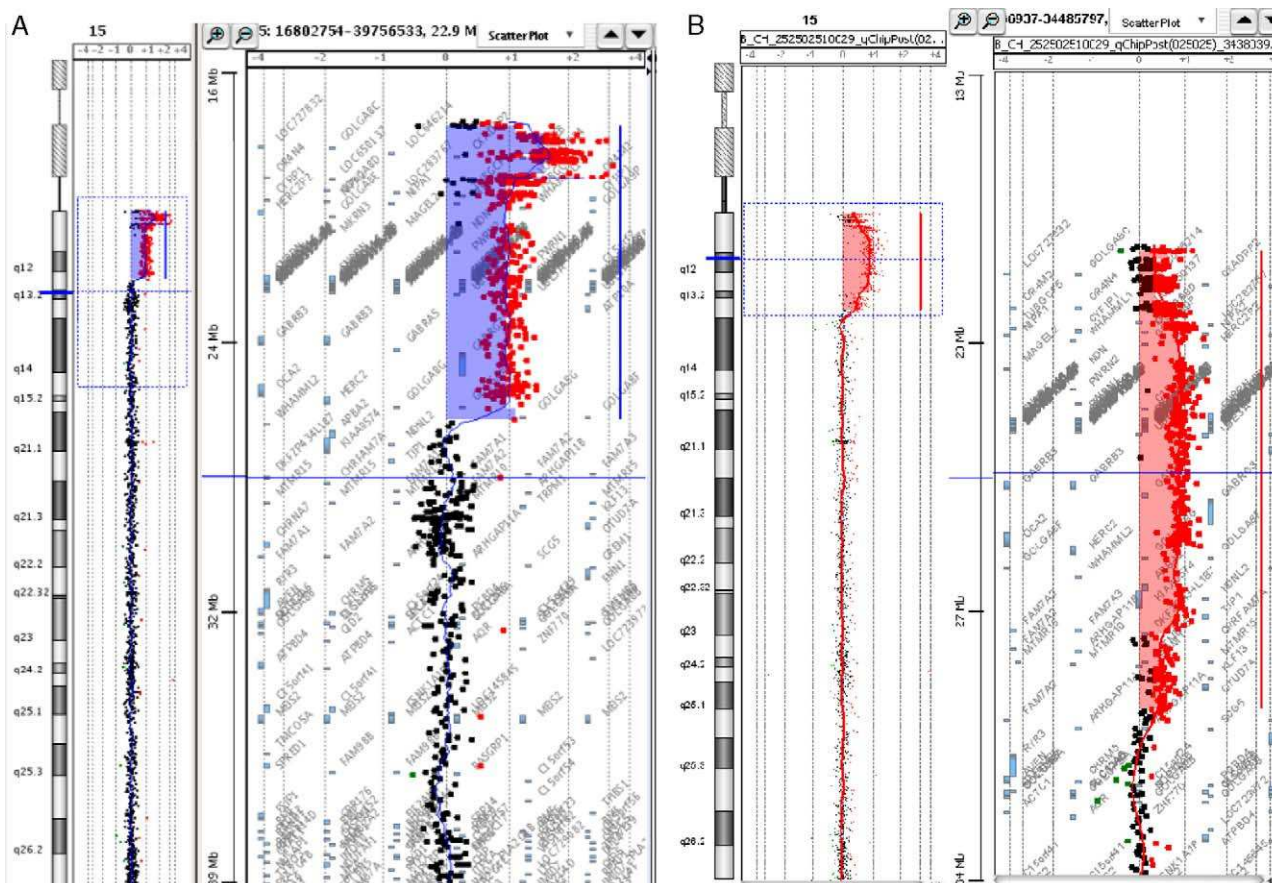
### Estudio molecular

A partir de sangre periférica extraída con EDTA como anticoagulante se obtuvo ADN de los pacientes mediante extracción automatizada (Robot EZ1, Qiagen). El estudio de SPW se llevó a cabo mediante la técnica Methylation Specific MLPA (MS-MLPA), según instrucciones del fabricante (MRC Holland, Amsterdam, The Netherlands). El kit comercial MS-MLPA P028 (PWS/AS) (MRC Holland, Ámsterdam, Países



**Figura 2** Hibridación *in situ* fluorescente (FISH) mediante la sonda LSI D15S10 (Vysis, Abbott) de la región SPW/SA (SNRPN en 15q11-q13), en color rojo, que incluye D15Z1 como control 15p11.2 (verde) y PML como control 15q22 (rojo) y marcaje con sondas acro p-arm (Vysis) (rojo). Se identifica en todas las metafases (A y B: caso 1; C y D: caso 2; E y F: caso 3) el cromosoma marcador como una invdup(15). A, C y E: metafases con marcaje FISH mediante la sonda acro p-arm (Vysis) (rojo) de los centrómeros de los cromosomas D y G. Se observa la presencia de dos señales en los extremos del cromosoma marcador identificado como una invdup(15) que se corresponden con la región p12-p13 del cromosoma 15. B, D y F: metafases con marcaje FISH mediante la sonda LSI D15S10 (Vysis, Abbott) de la región SPW/SA (SNRPN en 15q11-q13), en color rojo, que incluye D15Z1 como control 15p11.2 (verde) y PML como control 15q22 (rojo). Las figuras C y D presentan la hibridación conjunta de las sondas LSI D15S10 y acro p-arm. La metafase ordenada correspondiente a los cromosomas 1 al 22 más los cromosomas sexuales se muestra en la figura D. En las figuras E y F se identifica el cromosoma extra formado por material genético del cromosoma 15 que no incluye la región del Prader-Willi.





**Figura 3** Análisis de hibridación genómica comparada mediante array (CGH array). A (caso 1): arr 15q11.2q13.1(18,432,358-26,658,490)x3 ~ 4. La ganancia de material genético se extiende a lo largo de 8,23 Mb desde la región 15q11 hasta 15q13.1 (hasta el BP3 de la deleción de PW/AS) y afecta a genes sometidos a imprinting de la región causante (por deleción) de los síndromes de SPW (SNRPN) y SA (UBE3A). B (caso 2): arr15q11.2q13.3(18,432,358-30,230,511)x3. Se corresponde con una trisomía de aproximadamente 12Mb de material procedente del extremo más proximal del brazo largo del cromosoma 15, desde la región 15q11 a 15q13.3.

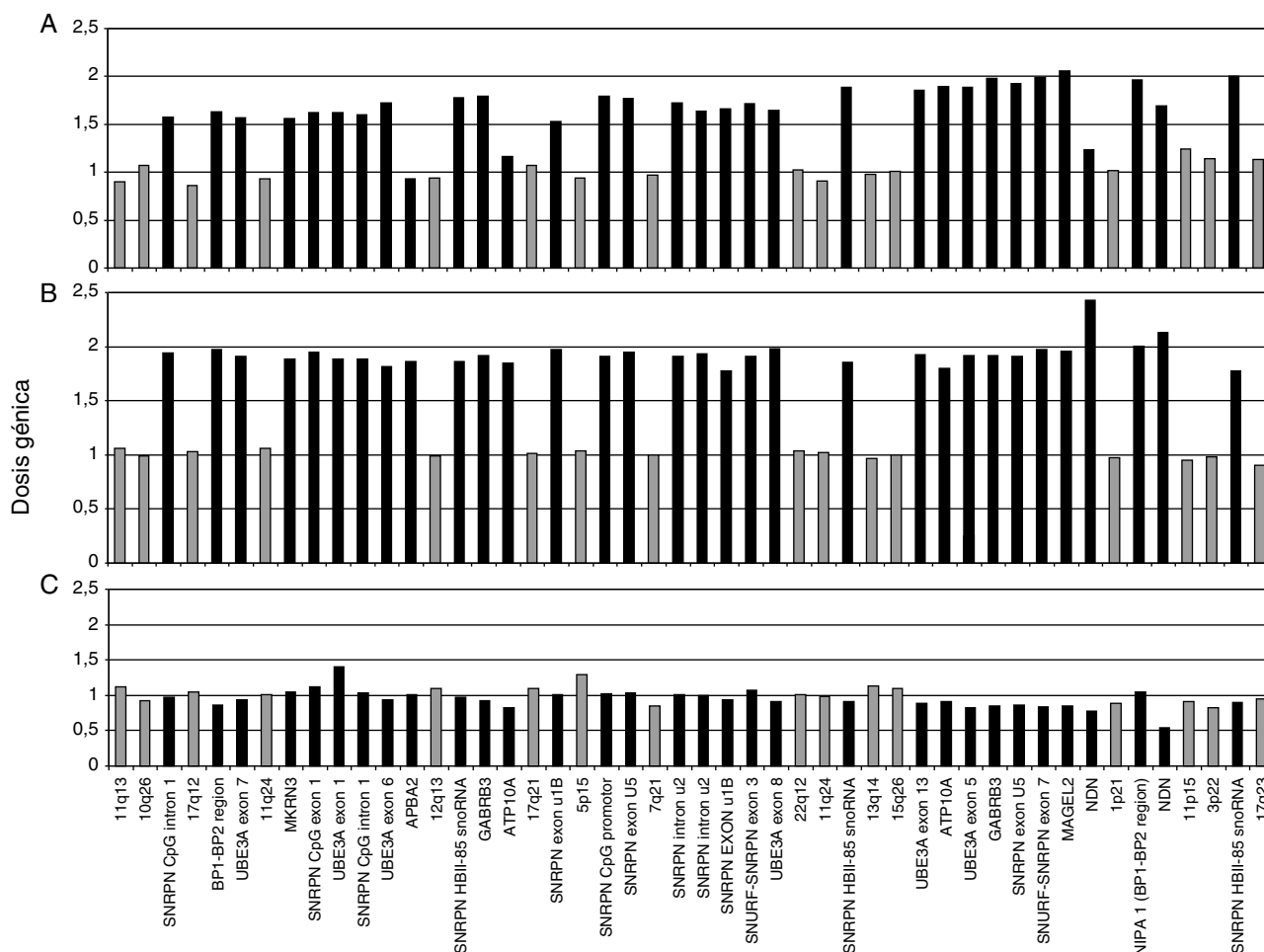
Bajos) permite el cribado de grandes reordenamientos genéticos en los genes de la región 15q11-q13 mediante dos reacciones de PCR, así como el estudio de metilación del gen *SNRPN* mediante digestión con la enzima *HhaI*. Los fragmentos resultantes se analizaron en un secuenciador ABI PRISM 310 mediante el software Genescan (Applied Biosystems) y los datos fueron normalizados en una hoja Excel. Posteriormente, en los casos con alteración en la metilación, se estudiaron los microsatélites D15S10, D15S11, D15S113, D15S128, GABRA3 y GABRB 5 mediante amplificación por PCR según protocolos descritos, electroforesis capilar en un secuenciador ABI310 (Applied Biosystems) y análisis utilizando el software Genescan (Applied Biosystems). El análisis de hibridación genómica comparada mediante microarray (CGH array) se realizó en QGenomics (Barcelona, España). La hibridación se realizó sobre un chip que contiene aproximadamente 60.000 sondas oligonucleotídicas (qChip Post [8x60K]) repartidas por todo el genoma, con mayor cobertura en regiones pericentroméricas, subteloméricas e implicadas en trastornos genómicos recurrentes. Tras la hibridación y lavados, se procedió al escaneado del chip y a la obtención de la imagen del chip, que fue procesada y

analizada utilizando el software Genomic Workbench 5.0 de Agilent.

## Resultados

### Caso 1

La fórmula cromosómica obtenida fue 47,XY + der (15)(q13;p11,2)(pter→q13:: p11,2→pter) (fig. 2A y B) y el cariotipo molecular: arr 15q11.2q13.1(18,432,358-26,658,490)x3 ~ 4 (fig. 3A). Según el análisis CGH array la ganancia de material genético se extiende a lo largo de 8,23Mb (hasta el BP3 de la deleción de PW/AS) y afecta a genes sometidos a imprinting de la región causante (por deleción) de los síndromes de SPW (*SNRPN*) y SA (*UBE3A*). Este análisis no aporta información sobre la dosis génica comprendida en regiones de heterocromatina centroméricas del cromosoma 15. Las sondas FISH acro-p-arm (15p12-p13) (fig. 2A) y la sonda control D15Z1 (15p11.2) (fig. 2B) mostraron cuatro señales en 15p, revelando la existencia de tetrasomía en el brazo corto del cromosoma 15. El análisis



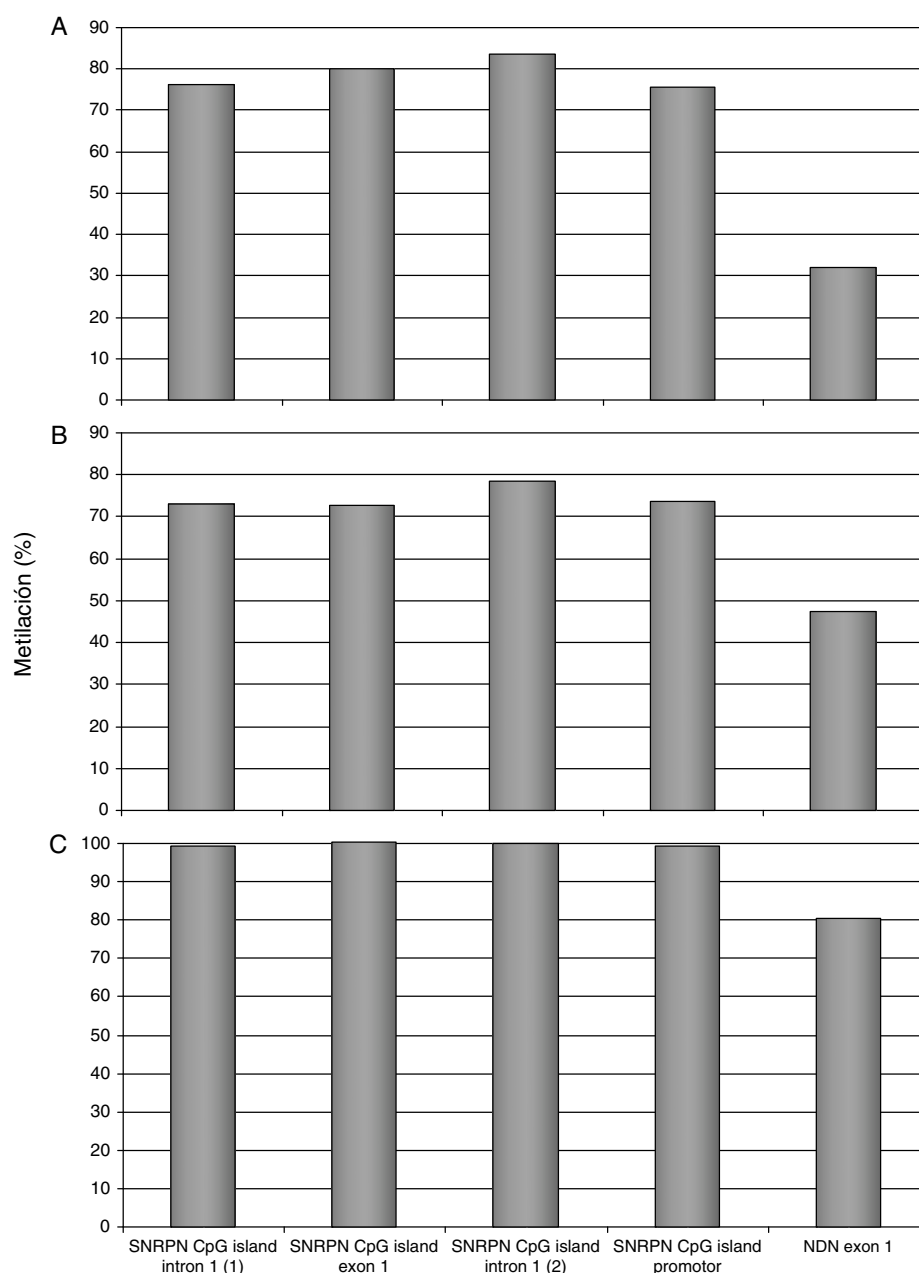
**Figura 4** Dosis génica (DG) de la región 15q11-q13 y genes adyacentes, obtenida tras la normalización de los datos del análisis MLPA. Genes analizados (■) y controles internos (▨). A (caso 1), B (caso 2) y C (caso 3). En los casos 1 y 2 los genes analizados presentan DG = 2, correspondiente a una tetrasomía. En el caso 3 los genes analizados presentan DG = 1, correspondiente a una dosis génica normal (diploide).

por MLPA corroboró la existencia de duplicación en la región 15q11-q13 sin poder determinar si se trataba de tri o tetrasomía (fig. 4A). La dosis génica de *APBA2* situado en 15q13.1, el gen más distal analizado por MLPA, resultó normal, lo cual corrobora que el cromosoma extra está formado por una duplicación del cromosoma 15 con rotura y unión en BP3. El análisis MS-MLPA (PWS) también mostró una alteración en la metilación del gen *SNRPN* (fig. 5A) y el análisis de microsatélites (informativos para *D15S128* y *GABRB3*) puso de manifiesto la existencia de heterodisomía uniparental materna.

## Caso 2

La paciente presentó un cariotipo 47, XX, + mar.ish idic (15)(q13)(Acro p-arm ++, D15Z1 ++, D15S10 ++, PML-) (fig. 2C y D). Las sondas FISH acro-p-arm (15p12-p13) y la sonda control D15Z1 (15p11.2), estudiadas conjuntamente en este caso, revelaron cuatro señales en 15p (fig. 2C y D), marcando una tetrasomía en el brazo corto del cromosoma 15 de forma análoga al caso 1. El CGH array informó un

cariotipo molecular  $\text{arr15q11.2q13.3}(18,432,358-30,230,511)\times 3$  (fig. 3B) que se corresponde con una trisomía segmentaria de aproximadamente 12Mb de material procedente del extremo más proximal del brazo largo del cromosoma 15 y altera la dosis de más de un centenar de genes, muchos de ellos formando parte de OMIM. El análisis detallado de los perfiles de la duplicación sugiere un distinto grado de amplificación dentro de esta, lo cual es compatible con la tetrasomía del fragmento localizado desde el centrómero hasta BP4 y la trisomía del fragmento entre BP4 y BP5, como ha sido descrito previamente en la literatura<sup>8</sup>. Este resultado se corresponde con lo observado en el análisis por MLPA (fig. 4B) con tetrasomía parcial del cromosoma 15 que incluye la región 15q11-q13 del SPW y el gen adyacente *APBA2* en 15q13.1. En el análisis MLPA no están incluidos los genes entre BP4 y BP5. Además el análisis MS-MLPA del gen *SNRPN* reveló un grado de metilación alterado en este gen (fig. 5B), lo cual sugiere como causa más probable el origen materno del cromosoma invdup(15), lo cual en este caso no se pudo comprobar por microsatélites ya que resultaron no informativos.

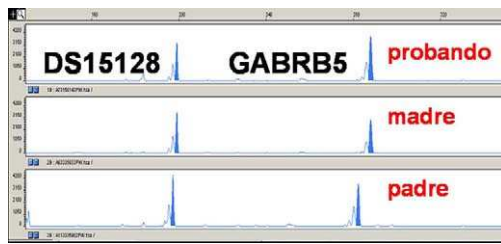


**Figura 5** Análisis de metilación por MS-MLPA de los genes sometidos a imprinting en la región 15q11-q13. A (caso 1), B (caso 2) y C (caso 3). En los tres casos se observa un patrón de metilación alterado para el gen *SNRPN*. El grado de metilación normal para el gen *SNRPN* es el 50%, que se corresponde con la metilación del alelo materno.

### Caso 3

El caso clínico 3 se corresponde con una invdup(15) pequeña en mosaico que no incluye la región SPW/SA (fig. 2E y F). Es un pequeño marcador formado prácticamente de heterocromatina y de aspecto metacéntrico. Presenta un punto de ruptura en 15q11 que se corresponde con los puntos de rotura proximales BP1-BP2 de las deleciones SPW/SA<sup>11</sup>. Se había identificado la presencia de un cromosoma marcador en mosaico (40%), no identificado previamente a este estudio, en cariotipo de líquido amniótico y en cariotipo de sangre periférica tras el nacimiento. Después de realizar un nuevo cariotipo se corroboró que un 40% de las meta-

fases examinadas, tras cultivo de linfocitos, presentaban 47 cromosomas. Tras aplicar bandas convencionales GTG y QFQ se observó un cromosoma extra que se correspondía con un reordenamiento parcial del cromosoma 15. El 60% restante de las metafases presentaron dotación cromosómica normal. La paciente resultó portadora de una doble línea celular en mosaico. En un 40% de las metafases se comprobó la presencia de un cromosoma extra identificado como una duplicación del cromosoma 15 con rotura y reunión en las bandas 15q11 de dicho cromosoma, con la región 15p12-p13 en los extremos más distales, como indica la sonda acro-p-arm (fig. 2E). La fórmula cromosómica en esta paciente es 47,XX+ der (15) inv (15)(q11;p11,2)



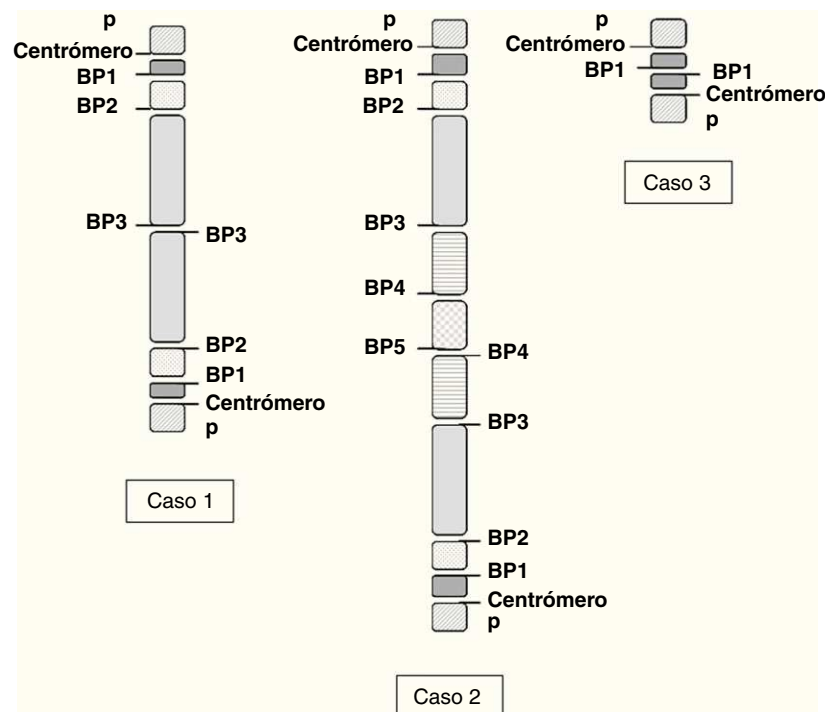
**Figura 6** Análisis de microsatélites (caso 3) para la confirmación de la disomía uniparental materna (software Genescan; Applied Biosystems). Se muestra el electroferograma de los microsatélites D15S128 y GABRB5 para la probando y cada progenitor. Se puede observar la ausencia de contribución paterna para ambos microsatélites con presencia de heterodisomía uniparental materna en la probando.

[40%]/46,XX [60%] «de novo» (fig. 2E y F). En dicho reordenamiento no está implicada la región del SPW (fig. 2F), lo cual se comprobó mediante la dosis génica obtenida por MLPA (fig. 4C). Sin embargo, se demostró mediante el análisis de metilación por MS-MLPA (fig. 5C) y microsatélites (informativos para D15S128 y GABRB5) (fig. 6) la existencia de disomía uniparental materna. El análisis por MLPA no mostró dosis génica alterada en la región BP1-BP2 (fig. 4C). Esto puede ser debido a que el cromosoma, formado principalmente por heterocromatina, puede haberse generado por el punto de rotura en BP1 y no hay sondas en el análisis por MLPA situadas entre el centrómero y BP1 o bien a que este grado de mosaicismo no se detecta por esta técnica. El CGH array tampoco mostró alteraciones en la dosis génica, debido a limitaciones técnicas similares. En los tres casos

se demostró que se trataba de una alteración «de novo» mediante el análisis en muestras parentales.

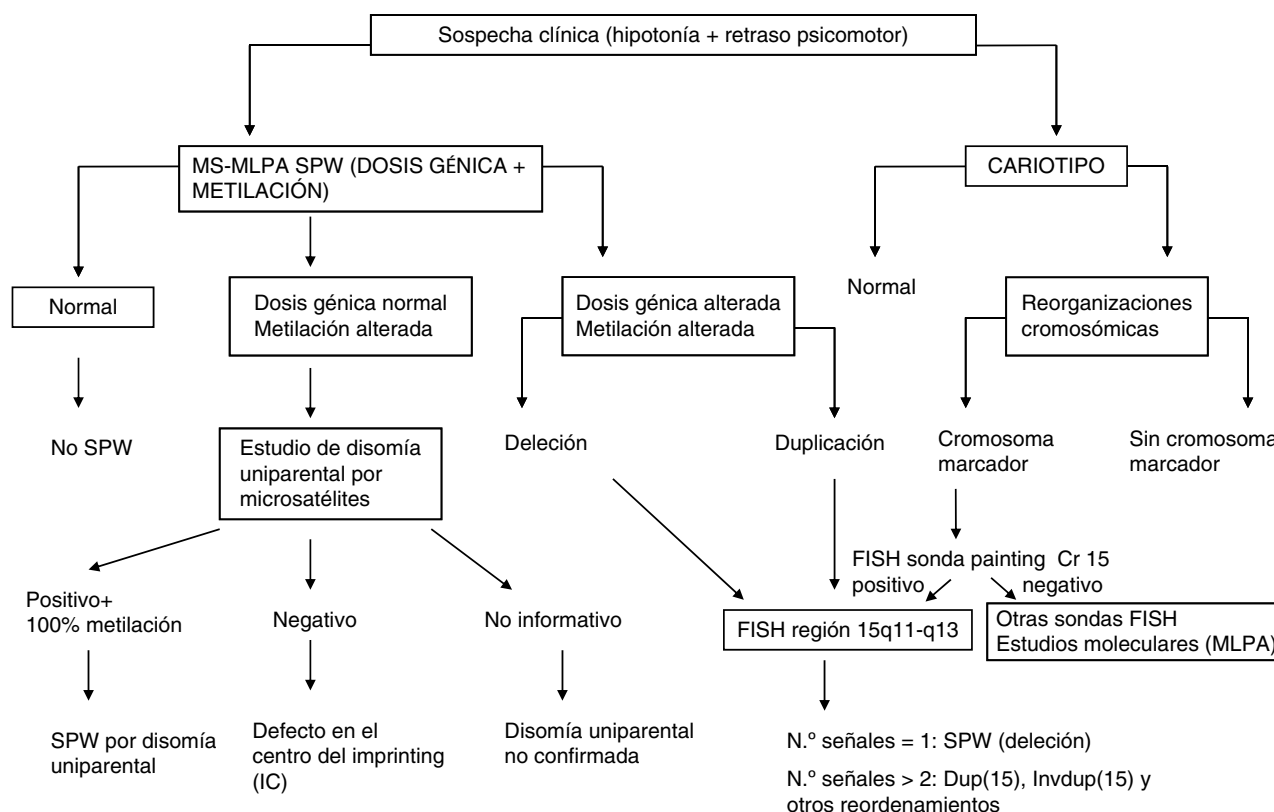
## Discusión

El síndrome invdup(15) es la causa más frecuente de reordenamiento genético con cromosoma extra marcador, representando entre el 35 y el 50% de los casos<sup>6,12</sup>. Sin embargo, a pesar de su relativa frecuencia, es un síndrome no muy estudiado, con unos criterios clínicos todavía sin definir. Las invdup(15) que incluyen la región SPW/SA son cromosomas que presentan dos centrómeros, cromatina entre ellos y de aspecto submetacéntrico o acrocéntrico, con puntos de rotura en 15q13 (BP3) o 15q14 (BP4). Se han descrito familias con invdup(15) presentes en dos generaciones<sup>13</sup> pero en la mayoría de los casos de trata de alteraciones «de novo» y de origen materno. En este grupo estarían incluidos los casos 1 y 2. En el caso 1 el cromosoma extra está formado por una duplicación del cromosoma 15 con rotura y unión en BP3 (fig. 7), a diferencia del caso 2, donde el cromosoma extra estaría formado por dos cromosomas 15 con rotura en BP4 y BP5, respectivamente (fig. 7). Este último es la forma más frecuente de idic(15) formado por recombinación asimétrica entre BP4 y BP5<sup>8</sup>. Es interesante señalar que el punto de rotura del caso 1 se encuentra en la posición del pseudogén HERC2P9 (fig. 1). Este pseudogén pertenece a una subfamilia cuyos miembros han evolucionado a partir del gen HERC2 por duplicación parcial y transposición de una serie de secuencias, las cuales forman parte de los LCR identificados en los puntos de rotura que generan inestabilidad cromosómica en el cromosoma 15. Ambos son casos «de novo» y en ambos el patrón de meti-



**Figura 7** Esquema de la estructura génica de los diferentes cromosomas invdup(15) descritos en los tres casos clínicos. Se representan como BP1, BP2, BP3, BP4 y BP5 los puntos de ruptura implicados en los reordenamientos genéticos descritos en la literatura.





**Figura 8** Algoritmo de diagnóstico genético propuesto para casos con diagnóstico clínico de hipotonía y retraso psicomotor. La invdup(15) se identifica a través de estudios citogenéticos y moleculares, de forma conjunta.

lación del gen *SNRPN* se mostró alterado, lo cual sugiere el origen materno del cromosoma extra. Además, en el caso 1 se pudo demostrar el origen materno mediante análisis por microsatélites. El caso 3 muestra un cromosoma extra en mosaico que estaría formado por dos cromosomas 15 con rotura y reunión de ambos en BP1 (fig. 7). En la literatura hay casos descritos, tanto «de novo» como familiares, portadores de una invdup(15) pequeña sin incluir la región SPW/SA y están asociados tanto a pacientes SPW/SA como a individuos fenotípicamente normales. En los casos de pacientes SPW o SA que presentan estas invdup(15) pequeñas, como es el caso SPW de la paciente del caso clínico 3, se ha demostrado que el fenotipo observado es debido a disomía uniparental del cromosoma 15, de origen materno en la mayoría de los casos, como sucede en el caso clínico 3, o a delección 15q11-q13 y no a la presencia de la invdup(15)<sup>14,15</sup>. Además, en este caso al tratarse de una doble línea celular en mosaico (40%), es esperable un fenotipo menos severo<sup>16,5</sup>. Se puede concluir la importancia del estudio mediante cariotipo y MLPA para los casos con hipotonía y retraso psicomotor, ya que, además de las alteraciones genéticas responsables del síndrome de Prader Willi, pueden presentar una duplicación inversión del cromosoma 15. En la figura 8 se muestra el algoritmo de diagnóstico genético propuesto para pacientes con diagnóstico clínico de hipotonía y retraso psicomotor. Es recomendable el estudio parental, ya que permite valorar si se trata de una alteración heredada o «de novo». Tampoco se puede descartar en los casos «de novo» la existencia de un mosaicismo germinal parental. Estos casos proporcionan,

junto con los casos descritos previamente en la literatura, evidencia de la necesidad de analizar la disomía uniparental en los casos con cromosoma marcador supernumerario, en particular cuando se trata del cromosoma 15, en el diagnóstico prenatal y en el posnatal con fenotipo clínico. La ocurrencia simultánea de dos sucesos relativamente raros como son el cromosoma invdup(15) y la disomía uniparental, descrita en casos similares en la literatura, se considera que debe tener una relación causal. Existen teorías sobre la génesis de la disomía uniparental materna y la invdup(15) por errores de segregación en meiosis I y la ausencia de contribución paterna se explica por un gameto nulisómico o por rescate de una aneuploidía<sup>17,18</sup>, aunque actualmente se considera la posibilidad de un evento tanto pre- como pos-recombinación<sup>19</sup>. Por otra parte, la extensión del material genético extra determinada por CGH array y el origen parental del mismo puede ayudar al asesoramiento genético, ya que parece existir una correlación entre las características clínicas y la dosis génica de los genes expresados<sup>20</sup>, muchos de ellos con impronta genómica<sup>21</sup>. Recientemente se han encontrado ocho nuevos locus relacionados con metilación diferencial en el cromosoma 15, lo cual puede ser útil para valorar el grado de expresión génica en estos casos<sup>22</sup>. Son muchos los genes en 15q11-q13 cuya sobreexpresión se relaciona con el autismo. Se ha sugerido que la tetrasomía de los genes de las subunidades  $\alpha 5$  y  $\beta 3$  del receptor ácido gamma-aminobutírico (GABA) podría alterar la actividad del receptor GABA, uno de los principales mecanismos inhibitorios del sistema nervioso central<sup>1,23,24</sup>. Sin embargo, no se ha

podido establecer una correlación genotipo-fenotipo hasta el momento dada la complejidad y el carácter heterogéneo de este síndrome.

## Conflicto de intereses

Los autores declaran no tener ningún conflicto de intereses.

## Agradecimientos

A los pacientes presentados en este trabajo y a sus padres por su colaboración. A todo el personal del Servicio de Bioquímica Clínica del Hospital Universitario Miguel Servet. Especialmente a los miembros de la Sección de Genética y al Dr. Angel García de Jalón, Jefe del Servicio de Bioquímica Clínica. A los facultativos del Servicio de Pediatría del Hospital Universitario Miguel Servet, especialmente a Neuropediatría. Al Dr. Armengol de la empresa QGenomics.

## Bibliografía

- Battaglia A. The inv dup (5) or idic (15) syndrome (Tetrasomy 15q). *Orphanet J Rare Dis*. 2008;3:30.
- Dennis NR, Vetman MWM, Thompson R, Craig E, Bolton PF, Thomas NS. Clinical findings in 33 subjects with large supernumerary marker(15) chromosomes and 3 subjects with triplication of 15q11-q13. *Am J Med Genet*. 2006;140A:434-41.
- Schroer RJ, Phelan MC, Michaelis RC, Crawford EC, Skinner SA, Cuccaro M, et al. Autism and maternally derived aberrations of chromosome 15q. *Am J Med Genet*. 1998;76:327-36.
- Schinzel A, Niedrist D. Chromosome imbalances associated with epilepsy. *Am J Med Genet (Semin Med Genet)*. 2001;106:119-24.
- Webb T. Inv dup (15) supernumerary marker chromosomes. *J Med Genet*. 1994;31:585-94.
- Blennow E, Bui TH, Kristoffersson U, Vujic M, Anneren G, Holmberg E, et al. Swedish survey on extra structurally abnormal chromosomes in 39105 consecutive prenatal diagnoses: prevalence and characterization by fluorescence in situ hybridization. *Prenat Diagn*. 1994;14:1019-28.
- Christian SL, Fantes JA, Mewborn SK, Huang B, Ledbetter D. Large genomic duplicons map to sites of instability in the Prader-Willi/Angelman syndrome chromosome region (15q11-q13). *Hum Mol Genet*. 1999;8:1025-37.
- Wang NJ, Liu D, Parokony AS, Schanen NC. High-resolution molecular characterization of 15q11-q13 rearrangements by array comparative genomic hybridization (Array CGH) with detection of gene dosage. *Am J Hum Genet*. 2004;75:267-81.
- Wang NJ, Parokony AS, Thatcher KN, Driscoll J, Malone BM, Dorrani N, et al. Multiple forms of atypical rearrangements generating supernumerary derivative chromosome 15. *BMC Genetics*. 2008;9:2.
- Robinson WP, Dutly F, Nicholls RD, Bernasconi F, Peñaherrera M, Michaelis RC, et al. The mechanisms involved in formation of deletions and duplications of 15q11-q13. *J Med Genet*. 1998;35:130-6.
- 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;55:753-9.
- Crolla JA, Youings SA, Ennis S, Jacobs PA. Supernumerary marker chromosomes in man: parental origin, mosaicism and maternal age revisited. *Eur J Hum Genet*. 2005;13:154-60.
- Van der Smagt JJ, Giltay JC, De Nef J, Slabbers G. Large inv dup(15) chromosome in two generations. *Letters to Editor. J Med Genet*. 1996;33:261-2.
- Robinson WP, Wagstaff J, Bernasconi F, Baccichetti C, Artifoni L, Franzoni E, et al. 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;30:756-60.
- Liehr T, Brude E, Gillesen-Kaesbach G, König R, Mrasek K, von Eggeling F, et al. 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;48:175-81.
- Leana-Cox J, Jenkins L, Palmer CG, Plattner R, Sheppard L, Flejter WL, et al. Molecular cytogenetic analysis of inv dup(15) chromosomes, using probes specific for the Prader-Willi/Angelman syndrome region: clinical implications. *Am J Hum Genet*. 1994;54:748-56.
- Robinson WP, Kuchinka BD, Bernasconi F, Petersen MB, Schulze A, Brondum-Nielsen K, et al. Maternal meiosis I non-disjunction of chromosome 15: dependence of the maternal age effect on level of recombination. *Hum Mol Genet*. 1998;7:1011-9.
- Robinson WP, Christian SL, Kuchinka BD, Peñaherrera MS, Das S, Schuffenhauer S, et al. Somatic segregation errors predominantly contribute to the gain or loss of a paternal chromosome leading to uniparental disomy for chromosome 15. *Clin Genet*. 2000 May;57:349-58.
- Wandstrat AE, Schwartz S. Isolation and molecular analysis of inv dup(15) and construction of a physical map of a common breakpoint in order to elucidate their mechanism of formation. *Chromosoma*. 2000;109:498-505.
- Sahoo T, Shaw CA, Young AS, Whitehouse NL, Schroer RJ, Stevenson RE, et al. Array-based comparative genomic hybridization analysis of recurrent chromosome 15q rearrangements. *Am J Med Genet*. 2005;139A:106-13.
- Schumacher A. Mechanisms and brain specific consequences of genomic imprinting in Prader-Willi and Angelman syndrome. *Gene Funct Dis*. 2001;1:1-19.
- Sharp AJ, Migliavacca E, Dupre Y, Stathaki E, Sailani MR, Baumer A, et al. Methylation profiling in individuals with uniparental disomy identifies novel differentially methylated regions on chromosome 15. *Genome Res*. 2010;20:1271-8.
- Cook Jr EH, Courchesne RY, Cox NJ, Lord C, Gonen D, Guter SJ, et al. Linkage-disequilibrium mapping of autistic disorder, with 15q11-q13 markers. *Am J Hum Genet*. 1998;62:1077-83.
- Kwasnicka-Crawford DA, Roberts W, Schrerer SW. Characterization of an autism-associated segmental maternal heterodisomy of the chromosome 15q11-q13 region. *J Autism Dev Disord*. 2007;37:694-702.