

SÍNDROME DE WAGRO, FENOTIPOS COMPLEJOS ASOCIADOS A OBESIDAD GRAVE.

RAQUEL RODRÍGUEZ-LÓPEZ

Laboratorio de Genética Molecular, Servicio de Análisis Clínicos. Consorcio Hospital General de Valencia.

MARÍA SANTAMARÍA GONZÁLEZ

Servicio de Bioquímica Clínica. Hospital Clínico Universitario Lozano Blesa de Zaragoza.

DESCRIPCIÓN DEL CASO CLÍNICO

Se presenta el caso de una niña, hija de padres sanos, no consanguíneos, sin antecedentes familiares de interés y afectada de aniridia bilateral (ausencia de iris) como único signo clínico al día del nacimiento. En la primera exploración se confirmó la ausencia completa de la estructura, sin afectación de la cámara anterior del ojo, de la retina, de la mácula ni del nervio óptico. El embarazo concluyó a las 34 semanas y 6 días tras una cesárea programada por retraso en el crecimiento intrauterino, alcanzando un peso de 2.050 gramos (P15) y una talla de 41 centímetros (<P3). A las dos semanas de vida se produce una hipocalcemia asintomática que se resuelve bien tras dos días en tratamiento con gluconato de calcio.

INTRODUCCIÓN AL SÍNDROME DE WAGR Y WAGRO

La aniridia se presenta de manera unilateral o bilateral, además como signo aislado o asociado a otros signos y síntomas, incluida la discapacidad intelectual. En estos casos forma parte de fenotipos sindrómicos más complejos entre los que, aproximadamente en un tercio de los casos, también se desarrollan anomalías genitourinarias y tumor de Wilms constituyendo el fenotipo característico del síndrome de WAGR (OMIM 194072) cuya prevalencia es difícil de calcular a partir de los datos existentes y se encuentra desvirtuada por la diversidad de sus bases moleculares, pero sin duda es baja.

La haploinsuficiencia del gen *WT1* es la causa del desarrollo del tumor de Wilms y de otros defectos del desarrollo renoureteral, además también es responsable de deficiencias en la diferenciación sexual masculina (mutaciones intragénicas en fetos varones producen

el Síndrome de Denys-Drash), pudiendo generar anomalías genitourinarias como hipospadias, criptorquidia, genitales ambiguos, malformaciones uterinas, cintillas ováricas con riesgo de desdiferenciación, anomalías uretrales, ureterales e incluso insuficiencia renal. Es variable e inconstante la existencia de discapacidad intelectual, estando directamente relacionada con la localización y extensión de la delección. En términos generales, hasta un 75 % de los pacientes la presentan, con graves alteraciones del comportamiento de tipo hiperactividad, trastorno obsesivo compulsivo y rasgos autistas. Otros rasgos fenotípicos más infrecuentes identificados en las series descritas de este tipo de pacientes son: agenesia del cuerpo calloso, microcefalia, micrognatia, infecciones de repetición en tracto respiratorio y hernias diafragmáticas. La hiperfagia y obesidad graves mantenidas en un grupo de pacientes, ya han sido correlacionadas molecularmente y descritas como una variación del Síndrome WAGR, el Síndrome WAGRO (OMIM 612469)

Ambas entidades se producen como resultado de una microdelección en una región cromosómica en la que se localizan un conjunto de genes contiguos, cuya haploinsuficiencia genera consecuencias fenotípicas diversas tales como: tumor de Wilms (W), aniridia (A) parcial o completa con posible glaucoma o catarata, retraso mental (R) y malformaciones genitourinarias (G) que incluyen disgenesia gonadal. Una proporción sustancial de los casos desarrollan además una obesidad grave (O), mediada por la alteración funcional del gen *BDNF*, factor neurotrófico derivado del cerebro, y la patología se denomina entonces síndrome de WAGRO. Estos pacientes se caracterizan por una ingesta excesiva de alimentos, sobrepeso de inicio temprano y niveles elevados de colesterol en sangre.

La alteración genética común a todos los casos se localiza en el brazo corto del cromosoma 11, concretamente en la región 11p13. En la gran mayoría de los casos la causa se atribuye a una microdelección intersticial que produce la pérdida de varios genes contiguos incluyendo el gen *WT1* (OMIM 607102), implicado en el tumor de Wilms y la existencia de anomalías genitourinarias, así como el gen *PAX6* (OMIM 607108), que participa en el desarrollo ocular, es responsable de la aniridia y está también relacionado con otras complicaciones cerebrales.

Cuando la pérdida o haploinsuficiencia en esa localización del cromosoma 11p13 afecta a la región de genes contiguos con una mayor extensión, se origina el denominado Síndrome de WAGRO; la delección entonces incluye también al gen *BDNF* (OMIM 113505) que codifica un componente de la vía de señalización de la leptina que participa en el equilibrio energético y se relaciona con la obesidad e hiperfagia características de tal subconjunto de pacientes. La patología endocrinológica y neurológica diferencial se asocia concretamente a dicho gen.

La gran variabilidad existente en la presentación de los rasgos clínicos del síndrome, depende fundamentalmente de las características moleculares de la delección que porte el paciente.

Aunque principalmente la delección de estos genes ocurre de forma espontánea y esporádica durante el desarrollo embrionario temprano, se han publicado algunos casos de Síndrome de WAGR en individuos portadores de translocaciones cromosómicas aparentemente equilibrada con puntos de rotura en la región 11p13. La pérdida de material en la región de la translocación puede producirse de una generación a la siguiente, pudiendo comprobarse en el progenitor del paciente, asintomático y portador de la misma translocación, la inexistencia de la delección en la región de susceptibilidad.

EFICIENCIA DE LOS ARRAYS DE GENOMA COMPLETO EN EL DIAGNÓSTICO

El diagnóstico clínico de los Síndromes WAGR/WAGRO se inicia en el periodo neonatal, siendo la ausencia de iris o aniridia el signo que sugiere la sospecha diagnóstica. Si se asocia a alteraciones genitourinarias no es preciso mayor diagnóstico diferencial con Síndrome WAGR o WAGRO. Pero en el periodo de recién nacido cuando el fenotipo aún no se ha desarrollado, sobre todo es muy difícil augurar la posible aparición de discapacidad intelectual. Por tanto, dada la optimización de la intervención clínica especializada, de la exigencia creciente de los padres en la predicción de futuros rasgos fenotípicos y que las familias acuden a las consultas con una información previa de extraordinaria rigurosidad, se ha hecho imprescindible la confirmación genética precoz y exhaustiva de las causas moleculares del Síndrome.

Por completar aspectos del diagnóstico diferencial, sólo la aparición aislada de tumor de Wilms nos obliga al estudio de los otros síndromes causados por distintas alteraciones genéticas que afectan a los genes localizados en 11p15.

Ante la existencia de aniridia, el diagnóstico genético debe incluir el análisis del gen *PAX6* (base molecular del 98 % de los casos de aniridia, completados con la alteración de *FOXC1* y *PITX2*), no olvidando su posible haploinsuficiencia por la existencia de microdelección a nivel del cromosoma 11. El estudio de la delección se puede realizar a través de técnicas citogenéticas de Cariotipo de Alta Resolución (observando deleciones mayores de 4 Megabases), de citogenética molecular (Hibridación in situ fluorescente, FISH) y moleculares como la técnica de MLPA (Multiplex Ligation-dependent Probe Amplification) utilizando sondas de las salsas MLPA (P118 WT1 y P219-B1 PAX6).

Sin embargo, actualmente la tecnología de los microarrays es la primera opción, desde que ha sido incluida definitivamente en la rutina clínica de pacientes pediátricos, para el diagnóstico postnatal de anomalías congénitas. De tal manera, el análisis de genoma completo mediante microarrays basado en el análisis de hibridación genómica comparada (CGH) o de polimorfismos de única base/variación de número de copias (SNPs/CNVs) está reemplazando a los métodos citogenéticos porque es más informativo en términos de resolución y ha permitido además identificar nuevos genes asociados a enfermedad. El

Consortio ISCA (International Standard Cytogenomic Array), promueve una estandarización de criterios que facilite la interpretación de los resultados del conjunto de los arrays disponibles. Toda la información generada por los arrays se incluye de manera continua en una base de datos pública capaz de recibir y gestionar datos crudos y archivos de datos normalizados de todas las plataformas de arrays, incluyendo tanto las de metodología CGH como la de SNPs/CNVs. (<https://www.iscaconsortium.org/>)

Los datos generados por estas plataformas son muy numerosos y detallan la existencia de una ingente cantidad de Variaciones de Número de Copias (CNVs), cuya correcta caracterización y valoración suponen el reto actual de nuestros laboratorios. En los últimos años se han caracterizado diferentes síndromes y se han asociado con alteraciones cromosómicas identificadas mediante la técnica de los microarrays de genoma completo. En relación a los pacientes afectados de obesidad sindrómica, se acepta la eficiencia de la aplicación de los arrays de hibridación genómica en aquellos casos de obesidad en menores de 14 años con un percentil superior a 90 y con al menos un criterio de retraso mental y/o dismorfia facial; también en aquellos casos en los que coexista una malformación uro-genital, cardíaca, esquelética, cerebral u oftalmológica.

Además, en ocasiones debe ofrecerse la ampliación de la prueba a los progenitores para distinguir si la variante identificada es *de novo* en el paciente o generada a partir de alteraciones genéticas de sus padres. La gran mayoría de los casos de Síndromes de WAGR y WAGRO no son hereditarios, sino que resultan de una deleción cromosómica que ocurre al azar durante la formación de las células reproductivas (óvulo o espermatozoide) o en los estadios tempranos del desarrollo embrionario. Por ello, no se describen antecedentes familiares en los pacientes afectados.

Un diseño individualizado para el estudio de estos pacientes mejoraría el conocimiento acerca de las correlaciones genotipo-fenotipo de la obesidad sindrómica y definiría mejor la causalidad de los genes de susceptibilidad y otros de posible capacidad deletérea a la obesidad. La caracterización molecular de estas anomalías cromosómicas en estos pacientes, junto a un seguimiento riguroso en el manejo clínico prospectivo e individualizado del fenotipo que irá desarrollando el paciente, proporcionará a la familia analizada y otras, el consejo genético más adecuado.

RESULTADO DEL CASO CLÍNICO

La paciente presentó aniridia bilateral desde el nacimiento como único signo sugestivo de Síndrome de WAGR. En un principio, este signo clínico sugirió emplear técnicas de citogenética convencional para la resolución del diagnóstico. Sin embargo, el protocolo de fenotipos sindrómicos en recién nacidos ya aconsejaba el uso de microarrays de genoma completo en lugar del cariotipo convencional.

Durante el segundo año de vida se observó una aceleración en el aumento de peso. En la

revisión de los 3 años y 4 meses se describió la existencia de una catarata unilateral, un mayor tamaño del ojo izquierdo asociado a glaucoma, fisuras palpebrales horizontales y un leve nistagmo bilateral horizontal. En este momento ya era evidente un retraso psicomotor notable, especialmente en el habla, lo que hubiera justificado la solicitud de un estudio genético que confirmase el diagnóstico de discapacidad intelectual en el caso de no haber sido definitivo el resultado del array.

Una de las grandes ventajas de esta técnica es su capacidad para definir y delimitar mucho mejor la deleción encontrada y efectivamente, el análisis de hibridación genómica utilizando un microarray de alta densidad de SNPs/CNVs reveló la existencia de una deleción de 40 Mb en la región 11p15.1p12. La técnica permitió detallar los genes delecionados y definir con exactitud la zona en haploinsuficiencia. Se determinó el punto de ruptura proximal en la posición 18.676.926 del cromosoma 11, que afecta al gen *TMEM86A*, y el punto de ruptura distal en la posición 36.576.388, afectando a la secuencia del gen *RAG2* (Figura 1). El paciente portaba una deleción mucho más amplia que la mayoría de las descritas en las bases de datos y afectaba a un total de 124 genes entre los que se encuentran los asociados al fenotipo descrito en el denominado Síndrome de WAGRO: *WT1*, *PAX6*, *BDNF* y *SLC1A2*.

La deleción del gen *PAX6* así como sus elementos reguladores, situados en la región 5' del gen, junto a otros elementos contiguos funcionales en regiones genómicas previas, constituyen la causa molecular de la aniridia congénita en la paciente.

La haploinsuficiencia del gen *BDNF* podría explicar la ganancia ponderal que se observó a partir del segundo año de vida, lo cual ya ha sido descrito entre pacientes portadores de alteraciones similares y que alcanzaron en la infancia un índice de masa corporal por encima del percentil 95 para su edad y el sexo. La implicación de las alteraciones del gen *BDNF* en discapacidad intelectual justificó la secuenciación del alelo conservado del gen, cuyo único hallazgo fue la detección del polimorfismo Val66Met; tal variante ha sido asociada con tener una memoria episódica deficiente, con una activación anormal del hipocampo y con diagnósticos de trastornos de la alimentación, en estudios de asociación en poblaciones distintas. La obesidad grave predicha en la paciente se enfoca desde el principio como un trastorno neuroendocrino y sugiere un abordaje global sobre el sistema endocrino y el sistema nervioso central, fundamentalmente en el control de la saciedad hipotalámica. La implicación de los genes *SLC1* y *PRRG4* puede contribuir también a la predisposición hacia la discapacidad intelectual y rasgos autistas.

Como conclusión, parece esencial establecer un algoritmo diagnóstico eficiente de discapacidad intelectual que incluya el aprovechamiento máximo de los datos generados por las plataformas de matrices o arrays para hibridación del genoma completo. La optimización de sus análisis puede incrementar la capacidad de predecir la gran mayoría de signos y síntomas clínicos que formarán parte del fenotipo desarrollado completamente en cada

paciente. Su protocolización e incorporación a los procesos clínicos mejorarían extraordinariamente la eficacia del manejo de los pacientes y sus familias.

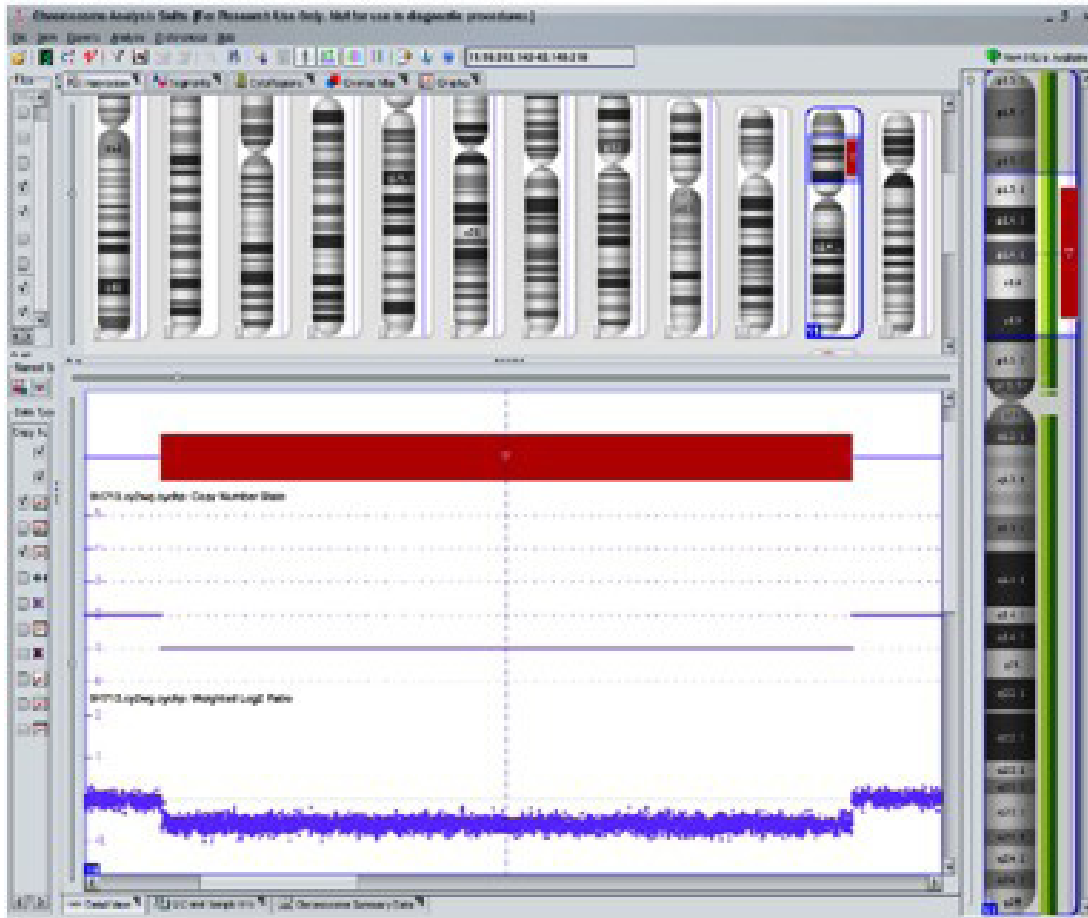


Figura 1: Imagen del cariograma que muestra el software de análisis del array de genoma completo 2,7 Affymetrix, cuya técnica se basa en el análisis de millones de SNPs/CNVs. La barra roja señala la delección existente en la región 11p12-15.1 (tamaño 40 Mb) detectada en la muestra de ADN de la paciente. El gen *BDNF* está incluido en la región delecionada. La línea azul horizontal es el cálculo de dosis única de la región, establecida en base a la señal detectada para los miles de marcadores que incluye el array en esa región (representados como miles de puntos azules, en la parte más inferior del esquema).

En el caso de la paciente detallada, el seguimiento clínico establecido está orientado a evitar las morbilidades predichas, condicionadas fundamentalmente por el grado de retraso mental y la posible aparición de tumor de Wilms. Además se coordina una vigilancia de alto riesgo que incluye la constante valoración oftalmológica para detectar la posible aparición de glaucoma y evolución del nistagmo, exploración ecográfica para valorar una posible existencia de cintillas ováricas que generan un gonadoblastoma, prevención y diagnóstico temprano de otitis e infecciones respiratorias de repetición, y estudio psicopedagógico lo más especializado posible en desordenes infantiles psiquiátricos y del comportamiento, con componente de alteración del eje del control hipotalámico de la saciedad; este último aspecto muy asociado a seguimiento endocrinológico para control de su estatus nutricional, con el objetivo de evitar una obesidad grave.

RESUMEN

El síndrome de WAGR (OMIM 194072) es una entidad clínica poco frecuente que se produce como resultado de una microdelección en el brazo corto del cromosoma 11, concretamente en la región 11p13, afectando a un conjunto de genes contiguos, cuya haploinsuficiencia genera consecuencias fenotípicas diversas tales como: tumor de Wilms (W), aniridia (A) parcial o completa con posible glaucoma o catarata, retraso mental (R) y malformaciones genitourinarias (G). Una proporción sustancial de los casos desarrollan además obesidad grave (O), denominándose entonces síndrome de WAGRO. El estudio de la delección se puede realizar a través de técnicas citogenéticas, sin embargo la tecnología de los microarrays constituye la primera opción de la rutina clínica en pacientes pediátricos para el diagnóstico postnatal de anomalías congénitas.

REFERENCIAS

Bochukova EG, Huang N, Keogh J, Henning E, Purmann C, Blaszczyk K, Saeed S, Hamilton-Shield J, Clayton-Smith J, O'Rahilly S, Hurler ME, Farooqi IS. Large, rare chromosomal deletions associated with severe early-onset obesity. *Nature* 2010; 463(7281):666-70.

Clericuzio C, Hingorani M, Crolla JA, van Heyningen V, Verloes A. Clinical utility gene card for: WAGR syndrome. *Eur J Hum Genet* 2011; 19, 4.

Han JC, Liu QR, Jones M, Levinn RL, Menzie CM, Jefferson-George KS, Adler-Wailes DC, Sanford EL, Lachawan FL, Uhl GR, Rennert OM, Yanovski JA. Brain-derived neurotrophic factor and obesity in the WAGR syndrome. *N Engl J Med* 2008; 359, 918-927.

Miller DT, Adam MP, Aradhya S, Biesecker LG, Brothman AR, Carter NP, Church DM, Crolla JA, Eichler EE, Epstein CJ, Faucett WA, Feuk L, Friedman JM, Hamosh A, Jackson L, Kaminsky EB, Kok K, Krantz ID, Kuhn RM, Lee C, Ostell JM, Rosenberg C, Scherer SW, Spinner NB, Stavropoulos DJ, Tepperberg JH, Thorland EC, Vermeesch JR, Waggoner DJ, Watson MS, Martin CL, Ledbetter DH. Consensus statement: chromosomal microarray is a first-tier clinical diagnostic test for individuals with developmental disabilities or congenital anomalies. *Am J Hum Genet.* 2010; 14;86(5):749-64.

Monteggia LM, Barrot M, Powell CM, Berton O, Galanis V, Gemelli T, Meuth S, Nagy A, Greene RW, Nestler EJ, 2004. Essential role of brain-derived neurotrophic factor in adult hippocampal function. *Proc Natl Acad Sci* 2004; 101, 10827-10832.

Rodríguez-López R, Pérez JM, Balsera AM, Rodríguez GG, Moreno TH, García de Cáceres M, Serrano MG, Freijo FC, Ruiz JR, Angueira FB, Pérez PM, Estévez MN, Gómez EG. The modifier effect of the BDNF gene in the phenotype of the WAGRO syndrome. *Gene.* 2013 Mar 10;516(2):285-90.

Shinawi M, Sahoo T, Maranda B, Skinner SA, Skinner C, Chinault C, Zascavage R, Peters SU, Patel A, Stevenson RE, Beaudet AL. 11p14.1 microdeletions associated with ADHD, autism, developmental delay, and obesity. *Am J Med Genet* 2011; A6, 1272-1280.

Xu S, Han JC, Morales A, Menzie CM, Williams K, Fan YS. Characterization of 11p14-p12 deletion in WAGR syndrome by array CGH for identifying genes contributing to mental retardation and autism 2008; 122, 181-187.

Zhang D, Qian Y, Akula N. Accuracy of CNV detection from GWAS data. *PLoS ONE* 2011; vol. 6 (1).

GENÉTICA MOLECULAR APLICADA AL DIAGNÓSTICO DE ENFERMEDADES HEREDITARIAS

Josep Oriola Ambrós (*presidente*), Ana M^a Sánchez de Abajo (*coordinadora*), Atocha Romero, Begoña Ezquieta, Carmen Cañadas, María Concepción Alonso, Cristina Torreira Banzas, Jesús Molano, María Arruebo Muño, María Santamaría González, Orland Diez, Pilar Carrasco Salas, Raquel Rodríguez.

ACTIVIDADES FORMATIVAS DEL COMITÉ DE EDUCACIÓN

D. Balsells, B. Battikhi (*Residente*), R. Deulofeu, M. Gassó, N. Giménez, J.A. Lillo, A. Merino, A. Moreno, A. Peña (*Residente*), N. Rico, M. Rodríguez (*Presidente*), MC. Villà

ISSN 1887-6463 – Marzo 2016 (recibido para publicación Enero 2016).