

# Capítulo 6: SÍNDROME DE ANGELMAN

Miriam Guitart<sup>1</sup>, Cristina Camprubi<sup>2</sup>, Conchita Fernandez<sup>3</sup>, Blanca Gener<sup>4</sup>, Elisabeth Gabau<sup>5</sup>

<sup>1</sup>Laboratorio de Genética. UDIAT-CD. Institut d'Investigació i Innovació Parc Taulí (I3PT), Sabadell, Barcelona. <sup>2</sup>GenIntegral, CSETC-Cardedeu, Barcelona. <sup>3</sup>Neurología, Servicio de Pediatría. Hospital de Sabadell, Institut d'Investigació i Innovació Parc Taulí (I3PT), Sabadell, Barcelona. <sup>4</sup>Servicio de Genética. Hospital Universitario Cruces. Instituto de Investigación BioCruces Cruces-Barakaldo, Bizkaia. <sup>5</sup>Genética Clínica. Servicio de Pediatría. Hospital de Sabadell. Institut d'Investigació i Innovació Parc Taulí (I3PT), Sabadell, Barcelona.

## 1. Revisión clínica: principales aspectos diagnósticos

El síndrome de Angelman (AS) (MIM 105830) es un trastorno del neurodesarrollo de origen genético caracterizado por una discapacidad intelectual (DI) grave, con nulo o mínimo uso del lenguaje, asociado a epilepsia con alteraciones en trazado de electroencefalograma (EEG), trastorno del equilibrio y movimiento, un fenotipo físico y conductual característicos y trastorno del sueño<sup>1</sup>. La incidencia del AS es alrededor de 1 por cada 15,000 individuos<sup>2,3</sup>.

La orientación diagnóstica la realizan el pediatra, neuropediatra y/o genetista clínico, en base a los criterios clínicos consensuados por Williams y col.<sup>4</sup> (Tabla 1). Posteriormente se confirma

el diagnóstico mediante test genéticos (el 10% de AS es aún de etiología desconocida). La edad media de diagnóstico aún está por encima de los 18 meses de edad debido a la inespecificidad de la clínica en el primer año de vida.

En un paciente, sin antecedentes patológicos relevantes, con retraso grave del desarrollo global de etiología no filiada y la presencia de los siguientes hallazgos clínicos de forma combinada, son muy sugestivos de AS: (1) Trastorno del sueño; (2) Fenotipo conductual característico (sonrisa frecuente, fascinación por el agua, frecuente aleteo, hiperexcitabilidad, dispersión) (Figuras 1A y 1B); (3) Trastorno motor (temblor, sacudidas, ataxia); (4) Desaceleración de curva de perímetro cefálico; y (5) Patrón EEG característico<sup>5</sup>.

<b>Tabla 1: Criterios clínicos del AS descritos por Williams y colaboradores<sup>4</sup></b>
<p><b>A.- CONSISTENTES (100%)</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Retraso del desarrollo, funcionalmente severo</li> <li>- Trastorno del movimiento o del equilibrio, usualmente temblores de las extremidades o ataxia.</li> <li>- Fenotipo conductual: combinación de características: mirada evadida, apariencia feliz, hiperexcitable, frecuente aleteo, conducta hiperactiva, tendencia a la dispersión</li> <li>- Afectación grave del lenguaje, ninguna o mínimo uso de palabras, con mejor lenguaje receptivo y comunicación no verbal</li> </ul>
<p><b>B.- FRECUENTES (más del 80%)</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>□ Estancamiento en el crecimiento del perímetro cefálico resultando una microcefalia (absoluta o relativa) a los 2 años de edad</li> <li>- La microcefalia es más importante en las delecciones 15□1.2□13</li> <li>□ Crisis comiciales de inicio antes de los 3 años de edad. La epilepsia mejora con la edad, pero puede aparecer en la edad adulta.</li> <li>□ EE□ atológico, con patrón característico descrito en la guía □ El EE□ patológico puede estar presente antes de los 2 años de edad, puede preceder a otros criterios clínicos y no tiene correlación con las crisis comiciales clínicas.</li> </ul>
<p><b>C. ASOCIADOS (20-80%)</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Occipucio aplanado</li> <li>□ Surco occipital</li> <li>□ Rotusión lingual</li> <li>- Movimientos de la lengua: Trastornos de succión/deglución</li> <li>□ Problemas de la alimentación durante la infancia</li> <li>□ Trognatismo</li> <li>- Boca grande, espacio interdental aumentado</li> <li>- Babeo frecuente</li> <li>□ Movimientos masticatorios frecuentes con la boca</li> <li>□ Estrabismo</li> <li>- Hipopigmentación de piel y ojos comparados con otros miembros de la familia</li> <li>- Hiperreflexia en Extremidades inferiores</li> <li>- Brazos levantados y semiflexionados durante la marcha</li> <li>□ Hipersensibilidad al calor</li> <li>- Trastorno del ciclo sueño-vigilia y disminución de la necesidad de dormir</li> <li>- Atracción y fascinación por el agua, “arrugar, estrujar” objetos como papel y plásticos</li> <li>- Trastornos de Alimentación</li> <li>- Obesidad en niños mayores</li> <li>□ Escoliosis</li> <li>□ Estreñimiento</li> </ul>
<p>Abreviaturas: EE□ Electroencefalograma</p>

## 1.1. Trastornos neurológicos

### 1.1.1. Epilepsia

Característica clínica frecuente (>80%) dentro del consenso de criterios diagnósticos clínicos. En el 5% de los pacientes el inicio de la crisis ocurre antes de los 3 años de vida<sup>8</sup>. Un 5-20% de los casos no presentan crisis, pero es necesario mantener igualmente una alta sospecha durante su seguimiento.

El AS se suele presentar como un síndrome epiléptico generalizado y los tipos de crisis más frecuentes corresponden a mioclonias (contracciones breves, repetitivas y sin ritmo de diferentes músculos), ausencias atípicas (episodios de desconexión de segundos de duración con discreta pérdida de tono muscular), atónicas (pérdida brusca del tono con caída al suelo), y tónico-clónicas generalizadas (se inicia con pérdida de conciencia, seguida de aumento del tono generalizado y posteriormente movimientos rítmicos generalizados con estado postcrítico final). A menudo presentan epilepsias graves que requieren politerapia<sup>9</sup>. La epilepsia suele ser más grave en los primeros años y mejora con la pubertad, aunque en la edad adulta puede ocurrir de nuevo un empeoramiento<sup>10</sup>.

Los estatus epilépticos son frecuentes (hasta un 91%) y a menudo recurrentes. El estatus epiléptico no convulsivo es el más habitual. Se puede manifestar por una disminución del estado de alerta, estatus de ausencias atípicas, caídas cefálicas recurrentes o movimientos mioclónicos erráticos<sup>11</sup>. Los espasmos en flexión son poco comunes.



**Figura 1:** (A) Niña de 4 años con delección 15q11q13, puede observarse hipopigmentación, boca grande y sonriente y microcefalia. (B) Niña de 15 años con mutación en el gen *UBE3A* con las características reseñables de boca grande y sonriente.

Los episodios de risa paroxística tan frecuentes en este síndrome no son de origen epiléptico.

### 1.1.2. Electroencefalograma (EEG)

Más del 80% de los pacientes presentan EEG patológicos. Se han descrito tres tipos de trazados de EEG en el AS: patrón theta, patrón delta y de puntas a 3-4 Hz en áreas posteriores<sup>12</sup>. Esta clasificación aún se mantiene siendo reportada en múltiples series hasta el momento actual<sup>13,14</sup>.

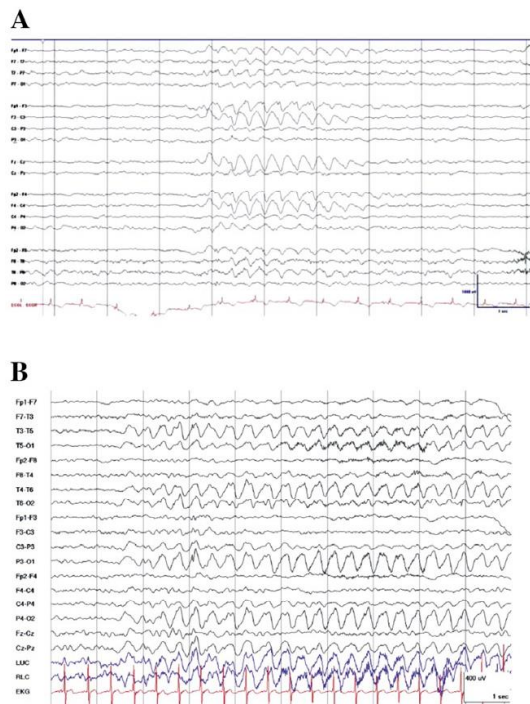
- Patrón theta: patrón difuso y persistente, de alta amplitud y actividad de base 4-6 Hz. Desaparece frecuentemente a los 12 años de edad.
- Patrón delta (Figura 2A): ritmo de base (2-3 Hz) de alta amplitud (>500 microvoltios) predominantemente en áreas anteriores. Este patrón aumenta su frecuencia con la edad<sup>13</sup> y es el más común en el AS.
- Patrón de puntas en áreas posteriores (Figura 2B): puntas

y ondas de alta amplitud a 3-4 Hz de actividad de base. Este patrón también es muy frecuente e incluso en algunas series lo describen como el más prevalente en el AS<sup>12</sup>. Esta actividad se desencadena con el cierre pasivo de ojos del paciente (sabiendo que en este tipo de pacientes puede ser complicada la realización de esta técnica).

Uno o más patrones de los descritos son evidentes hasta en el 100% de los pacientes y pueden estar presentes independientemente de que el paciente presente crisis epilépticas. En los pacientes más jóvenes las alteraciones en trazado del EEG son más frecuentes que en los adolescentes, y éstas pueden incluso aparecer antes de los 12 meses de edad aunque el paciente no haya presentado crisis comiciales<sup>12,13</sup>. Este estudio complementario podría ser muy útil en el diagnóstico precoz ante un lactante con retraso psicomotor global inespecífico. Aun así se debe tener en cuenta que estos patrones no son específicos y que también los podemos encontrar en otros síndromes neurogenéticos como el síndrome de Rett (véase apartado 3)<sup>15,16</sup>.

### 1.1.3. Capacidad Cognitiva y Lenguaje

En el 100% de los casos existe un retraso en el desarrollo cognitivo durante el primer año de vida, evidenciándose entre los 2-5 años de edad un déficit cognitivo grave asociado a una baja capacidad de atención e hiperactividad<sup>17</sup>.



**Figura 2:** Patróns de EEΓ característicos. (A) Patrón delta predominantemente en áreas anteriores. (B) Patrón de puntas y ondas de alta amplitud a 3-4 Hz de actividad en áreas posteriores.

El lenguaje expresivo está gravemente afectado variando entre una ausencia total de lenguaje oral y la emisión de menos de 10 palabras, situándose la edad media de la aparición de la primera palabra en los 53 meses. Frente a la afectación tan grave del lenguaje expresivo la comprensión está más preservada. El mecanismo fisiopatológico que subyace en esta afectación del lenguaje aún se desconoce pero recientes estudios sugieren trastornos en la mielinización<sup>18,19</sup>.

#### 1.1.4. Fenotipo conductual

Casi todos los pacientes presentan una apariencia feliz, sonrisa frecuente y episodios de carcajadas. Tienen tendencia a la dispersión e hiperactividad con fácil excitabilidad.

Muestran fascinación por el agua y les gusta llevarse objetos a la boca preferiblemente de goma y/o plástico. Respecto a la sensibilidad ésta se encuentra incrementada para el calor y disminuida para el dolor<sup>20</sup>.

El fenotipo conductual del AS se aproxima en varios aspectos al autismo. La capacidad de atención acostumbra a ser extraordinariamente reducida, lo cual dificulta mucho la interacción social puesto que impide captar información sobre el pensamiento de los demás. A ello se une la gran impulsividad, que genera conductas disociadas del contexto. Otros síntomas como las conductas obsesivas y las estereotipias, muy propios del autismo, son prevalentes en este síndrome por todo ello en algunos casos puede ser difícil su diagnóstico relacionado con el AS y siempre se ha de tener en cuenta como un posible trastorno comórbido.

#### 1.1.5. Retraso desarrollo motor

Los pacientes presentan un retraso en la adquisición de ítems de desarrollo motor. La sedestación libre se adquiere prácticamente en todos los casos con retraso, con intervalos extremos de edad que oscilan desde los 12 meses hasta los 36 meses<sup>21</sup>.

El primer desplazamiento autónomo está poco descrito en la literatura, pero el gateo parece que la mayoría lo consigue alrededor de los 2 años. La mayor parte de los pacientes consiguen la deambulaci3n entre los 2 y los 5 años. Sin embargo, algunos ni1os con mayor grado de ataxia o trastorno del movimiento no consiguen la marcha

hasta pasados los 9-10 años, y un 10% no consigue la deambulaci3n aut3noma<sup>5,21</sup>.

Existen algunos casos de empeoramiento del trastorno motor en la 5<sup>a</sup> d3cada de la vida con aparici3n de diston3a o Parkinsonismo<sup>22</sup>.

### 1.1.6. Trastorno de la marcha

- Ni3os con menor afectaci3n motora y marcha con tendencia al equinismo y cierta antepulsi3n (como si persiguieran su centro de gravedad). Esta tendencia aumenta al correr, acompa3ándose de una elevaci3n de los brazos y flexi3n de los antebrazos, a veces con "aleteo"
- Los pacientes con mayor espasticidad en extremidades inferiores manifiestan el patr3n descrito como t3pico en el AS. Consiste en una ampliaci3n de la base de sustentaci3n y piernas r3gidas con tendencia al apoyo en los pies en valgo. Este patr3n de las extremidades inferiores se acompa3a de la postura t3pica de brazos en candelabro con flexi3n del codo, pronaci3n y flexi3n de la mu3eca (*puppet like*)<sup>5</sup>.

### 1.1.7. Trastorno del tono y movimiento

Entre los 6 y 24 meses presentan en general una hipoton3a de predominio axial y en algunos casos se evidencia un aumento de tono en las extremidades de predominio distal con reflejos osteotendinosos exaltados.

El trastorno del movimiento t3pico de estos ni3os forma parte de los criterios

diagn3sticos consistentes, es decir est3n presentes en el 100% de los pacientes. Antes de los 2 a3os de edad se objetiva un movimiento irregular, brusco como sacudidas, que fragmenta la movilidad del movimiento voluntario. Su intensidad es variable y aumenta en la mayor3a de los casos con el movimiento o la intenci3n motora. Los padres describen un empeoramiento en relaci3n a situaciones de estr3s o problemas de salud. Estos movimientos analizados en un estudio mediante electromiograf3a y EEG<sup>23,24</sup> se describen como un tipo peculiar r3pido de mioclonus cortical.

### 1.1.8. Trastorno del sue3o

Los pacientes presentan una disminuci3n de las necesidades de dormir y ciclos de vigilia-sue3o anormales. La prevalencia de trastornos del sue3o en el AS es del 40%- 80% y son m3s frecuentes que en pacientes con d3ficit cognitivo de otra etiolog3a. El insomnio puede afectar a todas las fases del sue3o, 35% de los pacientes presentan problemas para conciliar el sue3o, y con el mismo porcentaje se presentan problemas para mantenerlo, teniendo despertares frecuentes que lo fragmentan<sup>25,26</sup>.

### 1.1.9. Microcefalia

Est3 presente en el 80% de los pacientes, present3ndose como una desaceleraci3n del per3metro cef3lico en los primeros meses de vida<sup>5</sup>.

## 1.2. Alteraciones musculoesqueléticas

### 1.2.1. Escoliosis

Se encuentra en un 20% en la infancia y este porcentaje aumenta hasta un 50% en la edad adulta, ya que tiende a empeorar durante la adolescencia, siendo la progresión rápida en pacientes no ambulantes<sup>27</sup>.

### 1.2.2. Otros problemas ortopédicos

La presencia de espasticidad en extremidades inferiores, con la edad, puede producir acortamiento de los tendones de Aquiles e isquiotibiales. Por este motivo la incidencia de retracciones osteotendinosas (marcha flexión de rodillas) es mayor en la edad adulta. Los pacientes no deambulantes tienen mayor riesgo de complicaciones como subluxación o luxación de caderas. En los pacientes adultos existe una mayor incidencia de retracciones osteotendinosas (marcha flexión de rodillas) o deformidades (escoliosis). En los grupos de mayor edad, un tercio de pacientes no son deambulantes<sup>28</sup>.

## 1.3. Otros problemas médicos

### 1.3.1. Problemas de alimentación y gastrointestinales

Los problemas de alimentación son frecuentes en el lactante y niño pequeño, aunque no son graves. La existencia de una lengua protuyente y/o una falta de coordinación buco-lingual, condicionan problemas para la succión y/o deglución, con dificultades

para el amamantamiento, frecuentes regurgitaciones e incluso reflujo gastroesofágico<sup>29</sup>.

El reflujo gastroesofágico hay que tenerlo en cuenta a cualquier edad, y la falta de coordinación buco-lingual puede producir babeo importante.

Más frecuentemente en la adolescencia puede aparecer obesidad por un aumento de apetito y poca movilidad y ello conlleva a un estreñimiento también importante.

### 1.3.2 Hipopigmentación

El fenotipo de piel blanca, ojos claros y cabello rubio es más frecuente, pero sobre todo en las deleciones (véase apartado 7).

### 1.3.3. Problemas oftalmológicos

El estrabismo es especialmente frecuente en los niños hipopigmentados, ya que la pigmentación normal de la retina es necesaria para el desarrollo normal del nervio óptico. El Queratocono se presenta más en adultos<sup>30</sup>.

### 1.3.4. Otitis Media

Debido a una angulación anormal de la trompa de Eustaquio que dificulta el drenaje del oído medio suelen presentar mayor frecuencia de otitis.

### 1.3.5. Problemas respiratorios

Secundarios a la existencia de un reflujo gastroesofágico y/o a la inmovilización y/o escoliosis grave.

### 1.3.6. Dentición

Los dientes son normales, pero la boca de gran tamaño hace que estén separados

y la protusión lingual puede ocasionar deformidad de los mismos<sup>31</sup>.

## 2. Manejo clínico y tratamiento

El diagnóstico precoz es importante para: (1) conocer un pronóstico que permitirá a las familias realizar una planificación vital y a los profesionales elaborar estrategias terapéuticas lo más tempranas y adecuadas a las dificultades específicas que presentan estos pacientes; y (2) ofrecer a la familia un consejo para el manejo del paciente.

Remitir al paciente a un centro de atención precoz de su zona de residencia es el lugar ideal para empezar a realizar el tratamiento y seguimiento multidisciplinar (psicólogos, fisioterapeutas y logopedas).

### 2.1. Epilepsia

A las familias se les explicará cómo es la semiología de las crisis más frecuentes (ver apartado 1.1.1.) para que puedan reconocerlas. Ante la sospecha de crisis les pediremos que las graben en vídeo (si les fuera posible) y contacten con su neurólogo de referencia.

Si ya precisan fármacos antiepilépticos, el valproato y el clonazepam son los más efectivos (cada uno por separado y combinados). Otros fármacos efectivos son el levetiracetam, clobazam, lamotrigina, topiramato y etosuximida.

Los fármacos que pueden producir un empeoramiento de las crisis son la carbamazepina, oxcarbazepina y vigabatrina<sup>32</sup>. Es frecuente que la

epilepsia sea refractaria al tratamiento antiepiléptico. Sólo un 23% responden a su primer o segundo fármaco y un 47% requieren politerapia<sup>32,33</sup>.

Otras alternativas terapéuticas como la dieta cetogénica y el estimulador del nervio vago están siendo reportadas con buenas respuestas en algunos casos<sup>33,34</sup>. Los pacientes con AS no son candidatos a cirugía de la epilepsia.

### 2.2. Trastorno motor

Precisará tratamiento con fisioterapia y traumatología para mejorar la función y prevenir o retrasar la aparición de retracciones o deformidades.

- Técnicas de fisioterapia: para mejorar el control postural, tono y equilibrio, así como la motricidad fina y oro-facial.
- Técnicas ortopédicas: ortesis (férulas antiequino, corsés, etc...).
- Tratamiento farmacológico:
  - Para la espasticidad puede estar indicada la inyección de toxina botulínica.
  - Ante un mioclonus cortical probar piracetam.
  - En los adultos que desarrollan distonía y Parkinsonismo se ha descrito una buena respuesta a levodopa.
- Adaptaciones: sillas para mejor control postural, medios de desplazamiento, material de juego o alimentación.

### 2.3. Déficit cognitivo y trastorno del lenguaje

Los pacientes pese a sus dificultades a nivel cognitivo tienen capacidad de aprender, aunque su ritmo de aprendizaje sea lento. El logopeda es muy importante en etapas tempranas para el abordaje de la comunicación asesorando e implementando con técnicas de comunicación aumentativa/alternativa. Estos sistemas facilitadores para mejorar su relación con el entorno y su autonomía se inician en la primera infancia pero es recomendable que se sigan utilizando en la edad adulta.

### 2.4. Trastorno del sueño

Puede ser útil el uso de la melatonina, principalmente cuando el problema más importante reside en la conciliación del sueño. Suele ser menos eficaz cuando el trastorno está en el mantenimiento del sueño con despertares frecuentes. Además de técnicas conductuales, para una buena higiene del sueño se deben descartar otros factores intercurrentes que estén produciendo estos despertares como las apneas del sueño y la epilepsia<sup>35</sup>.

### 2.5. Trastornos de conducta

Intentar prevenir posibles problemas de conducta con normas educativas claras y constantes, rutinas estables, anticipar cambios, fomentar autonomía al máximo y trabajar la comunicación. Las conductas de agresividad y/o ansiedad importantes no controladas pueden llegar a requerir psicofármacos.

### 2.6. Otros problemas médicos

#### 2.6.1. Problemas de alimentación y gastrointestinales

Si el babeo es muy importante pueden llegar a precisar medicamentos como la escopolamina o las inyecciones de toxina botulínica en las glándulas salivales. Una intervención temprana de logopeda para trabajar aspectos de succión/deglución consigue una mejora. Si se sospecha de reflujo gastroesofágico (regurgitaciones, escasa ganancia ponderal, neumonías de repetición) se recomienda derivar a gastroenterología. El reflujo suele responder bien al tratamiento habitual postural, dieta fraccionada, utilización de leches y comidas espesantes, y medicamentos procinéticos y antiácidos.

En adultos deben sospecharse problemas ante un disconfort inexplicable, pérdida de apetito y/ problemas en la alimentación.

El estreñimiento requiere dieta rica en fibra y si es necesario agentes lubricantes.

#### 2.6.2. Hipopigmentación

Cremas de protección solar.

#### 2.6.3. Problemas oftalmológicos

En el estrabismo se requiere valoración en oftalmología que utilizan parches oclusivos y en algunos casos pueden llegar a necesitar cirugía de los músculos extraoculares. Corrección de cualquier déficit visual mediante gafas.

#### 2.6.4. Otitis Media

Se produce un acúmulo de secreciones



en oído medio pueden cronificarse comprometiendo la audición □ en estos casos será necesaria la intervención □ quirúrgica para colocación de drenajes transtimpánicos.

### 2.6.5. Problemas respiratorios

Despistaje de la causa de neumonías de repetición como son las aspiraciones durante la alimentación.

Fisioterapia respiratoria en pacientes inmovilizados y/o con escoliosis importantes.

### 2.6.6. Dentición

Mantener una buena higiene dental para evitar la placa bacteriana y medidas correctoras cuando sean necesarias.

## 3. Diagnóstico diferencial

En aproximadamente el 10 □ de los pacientes con un diagnóstico clínico de AS no se encuentra una alteración genética específica del mismo. Se han descrito algunos cuadros similares al AS, pero que clínica y molecularmente constituyen entidades diferentes<sup>3 □</sup>.

En general, todos estos cuadros comparten con el AS manifestaciones clínicas inespecíficas: retraso psicomotor o discapacidad intelectual moderada o grave, hipotonía, déficit o ausencia de lenguaje, hipotonía, marcha atáxica, epilepsia, microcefalia y una disposición risueña. □ u correcta caracterización permitirá establecer un diagnóstico preciso, dilucidar el pronóstico y ofrecer un adecuado asesoramiento genético.

### 3.1. Síndrome de Phelan-Mcdermid (MIM 606232)

Se debe a la haploinsuficiencia del gen *SHANK3* localizado en 22q13.3. La hipotonía puede persistir hasta la edad adulta. Los problemas de alimentación durante la infancia, el umbral alto del dolor y la tendencia a la hipertermia son característicos. El crecimiento es normal o rápido. □ resentan una barbilla prominente, párpados abotargados (lo que les confiere un aspecto somnoliento) con pestañas largas, orejas y manos grandes, y uñas de los pies displásicas. Las convulsiones afectan al 25% de los pacientes. Los rasgos de trastorno del espectro autista (TEA) son más acusados con la edad<sup>3 □38</sup>.

### 3.2. Síndrome de Koolen-de Vries (MIM 610443)

Deleciones en 17q21.31 y mutaciones heterocigotas en el gen *KANSL1*, causan el fenotipo clínico. Es similar al AS por el retraso importante del lenguaje y del habla y, por la conducta risueña. Sin embargo la DI suele ser leve o moderada. Los rasgos faciales que contribuyen a su diferenciación son: macrocefalia relativa, forma alargada de la cara, punta de la nariz bulbosa, fisuras palpebrales ascendentes, ptosis o blefarofimosis. Puede asociar anomalías congénitas (cardiopatía, criptorquidia) y alteraciones de la pigmentación<sup>3 □42</sup>.

### 3.3. Síndrome de haploinsuficiencia MBD5 (MIN 156200)

La haploinsuficiencia del gen *MBD5* en 2q23.1 da lugar a una DI moderada o grave, retraso o ausencia de lenguaje, marcha atáxica, trastorno del ritmo del sueño, movimientos estereotipados, epilepsia y ataques de risa inapropiados (20%). No está establecido un patrón distintivo de rasgos faciales. Se acompaña de anomalías esqueléticas menores en manos y pies (braquidactilia, dedos afilados)<sup>43,44</sup>.

### 3.4. Síndrome de Kleefstra (MIM 610253)

Causado por la haploinsuficiencia del gen *EHMT1* en 11q34.3. Presentan hipotonía y, una tercera parte, epilepsia. Rasgos característicos: hipoplasia mediofacial, prognatismo, cejas arqueadas, sinofridia, eversión del labio inferior y tendencia a la obesidad. Asocia anomalías genitales en los varones (micropene, criptorquidia), cardiopatía congénita o arritmias y desarrollo de trastornos psiquiátricos (agresividad, psicosis, apatía/catatonia, autismo). Puede ocurrir regresión en la adolescencia o en la edad adulta<sup>45,46</sup>.

### 3.5. Síndrome de Pitt-Hopkins (MIM 610954)

Se debe a alteraciones del gen *TCF4* en 18q21.2. El fenotipo facial es característico: protusión de la parte inferior de la cara, ojos hundidos, mejillas llenas, puente nasal ancho,

punta nasal prominente, *filtrum* corto, boca ancha, labios gruesos, dientes separados, y pabellones auriculares carnosos y en copa. Es habitual la microcefalia postnatal y, la coexistencia de anomalías oculares (estrabismo, miopía) y cerebrales inespecíficas (hipoplasia del cuerpo calloso). El lenguaje es escaso o ausente y el fenotipo conductual puede ser similar al del AS. Los episodios de hiperventilación y apnea no son constantes y ocurren más frecuentemente en mayores de 6 años<sup>48,50</sup>.

### 3.6. Síndrome de Mowat-Wilson (MIM 235730)

Debido a la haploinsuficiencia y a mutaciones puntuales en el exón 8 del gen *ZEB2* en 2q22.3.ursa con DI moderada o grave, ausencia de lenguaje, anomalías congénitas múltiples y rasgos dismórficos. Asocia microcefalia postnatal, cardiopatía, anomalías del cuerpo calloso, genitourinarias, oftalmológicas, atresia de coanas o talla baja. El 50% padece enfermedad de Hirschsprung. Los rasgos faciales distintivos son: cejas grandes despobladas en la región medial y pabellones auriculares levantados con una depresión central similar a la pasta *orecchiette* o a los eritrocitos. Además, presentan cara cuadrada o alargada, hipertelorismo, ojos grandes hundidos, columela prominente, punta nasal redonda, perfil nasal convexo y barbilla puntiaguda con tendencia al prognatismo. Las convulsiones aparecen más frecuentemente hacia los dos años<sup>51,53</sup>.

### 3.7. Síndrome de Christianson (MIM 300243)

Causado por mutaciones en el gen *SLC9A6* en Xq26.3. Los varones afectados presentan DI grave, microcefalia postnatal, ausencia de lenguaje y episodios espontáneos de risa. La epilepsia debuta entre los 4 meses y los 3 años. Puede asociarse a oftalmoplegia externa. Con frecuencia el estrabismo, la tendencia a mantener la boca abierta y el babeo excesivo. La atrofia cerebelosa, la pérdida de funciones motoras a partir de la de la primera década de vida, la pérdida de masa muscular y las deformidades espinales, son rasgos claramente diferenciadores con el AS<sup>54,55</sup>.

### 3.8. Síndrome de Rett y cuadros relacionados

Se incluyen los cuadros clínicos derivados de alteraciones de los genes *MECP2*, *FOXG1* y *CDKL5*<sup>56,57</sup>.

#### 3.8.1. Síndrome de Rett típico y atípico (MIM 312750)

El síndrome de Rett típico se debe a mutaciones heterocigotas en el gen *MECP2* en Xq28. Ocurre un periodo de regresión seguido por otro de recuperación/estabilización, y los siguientes criterios: (1) Pérdida parcial o completa del lenguaje verbal; (2) Pérdida parcial o completa del uso propositivo de las manos; (3) Marcha dispráxica; (4) Estereotipias o automatismo de manos (lavado, frotarse, apretarse). La deceleración postnatal del crecimiento del perímetro craneal es muy frecuente, pero no imprescindible.

Las formas atípicas se caracterizan por el periodo de regresión, dos cuales cualquiera de los criterios previos y 5/11 criterios de soporte: anomalías de la ventilación en vigilia, bruxismo en vigilia, cifo y/o escoliosis, manos y pies fríos, respuesta disminuida al dolor, comunicación ocular intensa, alteración del ritmo del sueño, retraso de crecimiento, anomalías vasomotoras periféricas, tono muscular anormal, risa inapropiada o episodios de gritos. Pueden deber a mutaciones en *MECP2*, *FOXG1* o *CDKL5*.

La epilepsia está presente en el 60% de los pacientes.

#### 3.8.2. Síndrome CDKL5 (MIM 300672)

Mutaciones y deleciones del gen *CDKL5* en p22.13 causan en mujeres, y con mayor gravedad en varones, una encefalopatía epiléptica de inicio en los primeros 4 meses de vida. La mitad puede experimentar una remisión hacia los 3 años. Otros presentan una epilepsia intratable. No existe un periodo de regresión, ni presentan un contacto ocular intenso ni fenómenos vasomotores.

#### 3.8.3. Síndrome de haploinsuficiencia FOXG1 (MIM 613454)

Las anomalías heterocigotas en el gen *FOXG1* en 14q12 cursan con DI grave, ausencia de lenguaje, microcefalia postnatal, retraso del crecimiento y crisis epilépticas. Prácticamente ningún individuo desarrolla la deambulación. Puede asociarse a anomalías cerebrales.

### 3.8.4. Síndrome de duplicación *MECP2* (MIM 300260)

La duplicación del gen *MECP2* en varones puede causar hipotonía, DI grave, ausencia de lenguaje, marcha atáxica, espasticidad progresiva de las piernas y posterior pérdida de la deambulación, regresión e infecciones respiratorias. Frecuentemente las convulsiones son de origen tardío. Las mujeres portadoras pueden ser asintomáticas o presentar DI.

### 3.9. Síndrome *MEF2C* (MIM 613443)

La haploinsuficiencia del gen *MEF2C*, en 5q14.3, causa un cuadro clínico muy similar al síndrome de Rett debido a que dicho gen está en la misma ruta de síntesis proteica que *MECP2* y *CDKL5*. Las anomalías cerebrales (agenesia del cuerpo calloso) son frecuentes<sup>1,2</sup>.

### 3.10. Deficiencia de adenilosuccinato liasa (MIM 103050)

Es un defecto del metabolismo de las purinas de herencia autosómica recesiva causado por mutaciones en el gen *ADSL* en 22q13.1. La forma clínica más frecuente es la grave, caracterizada por retraso psicomotor, microcefalia, convulsiones de inicio precoz y ausencia de contacto ocular. Las formas leves/moderadas pueden presentar una clínica con características similares al AS. La epilepsia es comúnmente resistente al tratamiento. La hipotonía axial y generalizada se combina con una hipertensión periférica.

Puede asociar atrofia cortical, del cuerpo

calloso o vermix cerebeloso, anomalías de la sustancia blanca que recuerdan a la leucomalacia periventricular y lisencefalia<sup>3,4</sup>.

### 3.11. Síndrome de alfa talasemia / discapacidad intelectual ligada al cromosoma X (MIM 301040)

Se debe a mutaciones del gen *ATRX* en Xq21.1. Las mujeres portadoras son físicas e intelectualmente asintomáticas. Los varones presentan DI grave o profunda, microcefalia, hipotonía y trastorno del comportamiento. Los rasgos faciales característicos son: hipoplasia mediofacial, epicanto, puente nasal plano, nariz pequeña y triangular, boca caracterizada por el labio superior en tienda, labio inferior lleno y evertido, y protusión de la lengua. La mayoría asocia anomalías genitales (criptorquidia, hipospadias o genitales ambiguos) y esqueléticas (pies planos o equinos, cifosis y/o escoliosis, anomalías de pared torácica). Un tercio presenta epilepsia. En algunos individuos afectados, se pueden encontrar inclusiones de hemoglobina H en un frotis de sangre periférica<sup>5,6</sup>.

### 3.12. Síndrome de deficiencia *HERC2*

Descrito en la población Amish. Mutaciones en homocigosis del gen *HERC2* en 15q13.1, causan un defecto en la actividad del gen *UBE3A*

ocasionando un cuadro similar al AS, aunque la DI puede ser leve<sup>[18]</sup>.

## 4. Alteraciones genéticas asociadas

Desde 1997 el AS<sup>[10]</sup> se considera una enfermedad monogénica causada por anomalías genéticas que afectan a la copia materna del gen *UBE3A*. El gen *UBE3A* pertenece a un *cluster* de genes regulado por impronta genómica, localizado en la región cromosómica 15q11-q13.

### 4.1. Región cromosómica 15q11-q13

La región cromosómica 15q11-q13 está flanqueada por duplicones, segmentos repetitivos que originan deleciones mediante puntos de rotura (BP: *break points*). Se conocen tres BP principales, dos más próximos a centrómero, BP1 y BP2, y uno distal BP3<sup>[14]</sup>. Se han descrito BP secundarios en posición más telomérica a BP3, denominados BP4, BP5 y BP6<sup>[5]</sup>.

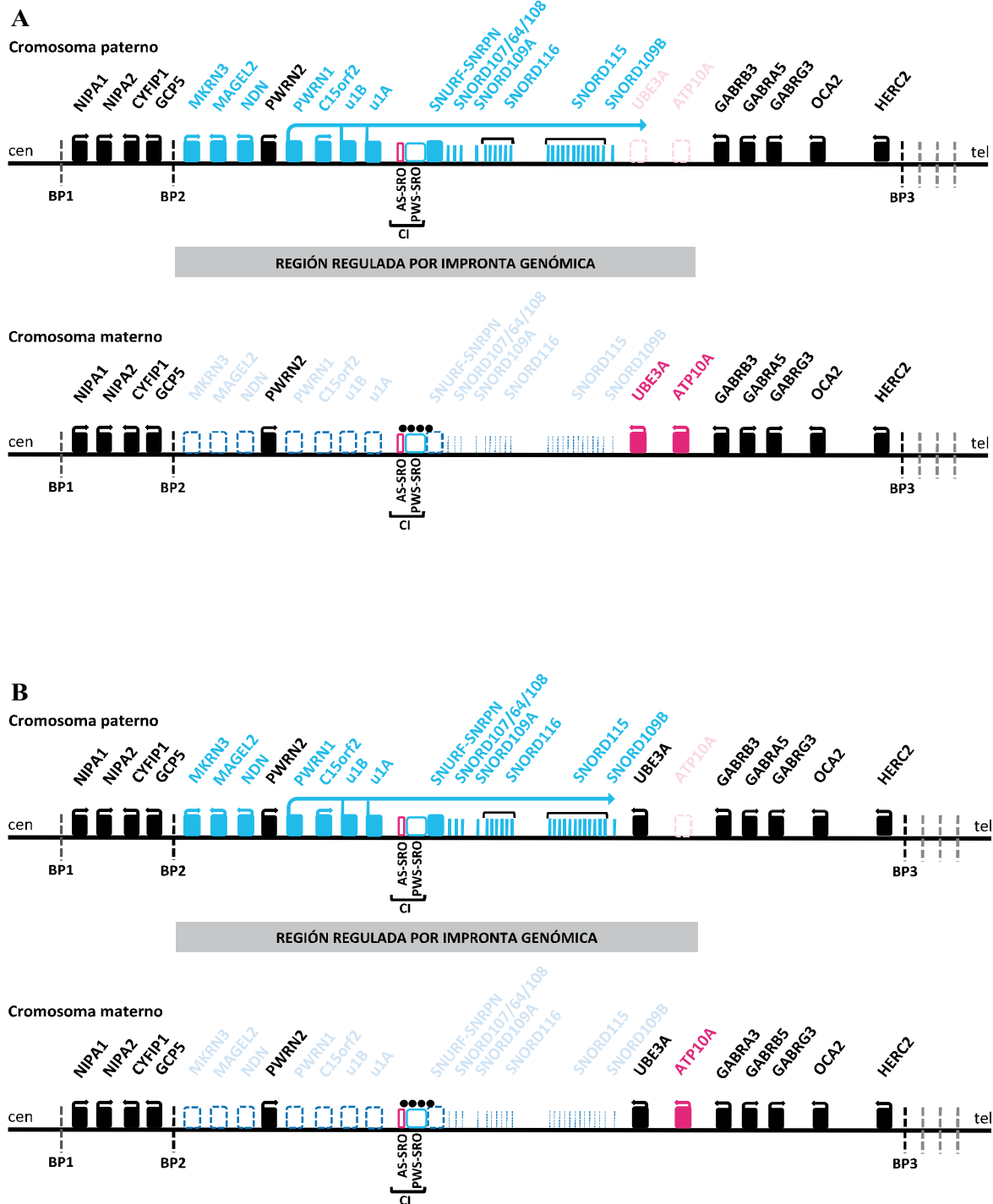
En la región cromosómica 15q11-q13, entre BP2 y BP3, se encuentra un dominio de 4 Mb regulado por impronta que contiene cinco genes de expresión paterna, *MKRN3*, *MAGEL2*, *NDN*, *C15orf2* (expresión paterna en tejido cerebral) y *SNURF-SNRPN*, y dos genes de expresión materna, el gen *UBE3A* y el gen *ATP10A* (Figura 3A). La expresión monoalélica de *UBE3A* es específica de algunas regiones del cerebro y cerebelo y es bialélica en el resto de tejidos (Figura 3B). La región 15q11-q13 también incluye genes de expresión bialélica, no

sometidos a impronta. En posición más telomérica se encuentran el gen *OCA2* (gen del albinismo oculocutáneo tipo II) y subunidades de los receptores del ácido gammaaminobutírico (GABA) (*GABRB3*, *GABRA5* y *GABRG3*). En posición más centromérica, entre BP1 y BP2, se encuentran los genes *NIPAI1*, *NIPAI2*, *CYFIP1* y *GCP5* (Figuras 3A y 3B).

El locus *SNURF-SNRPN* (*Upstream Reading Frame-Small Nuclear Ribonucleoprotein Polypeptide N*) es policistrónico<sup>[1]</sup>. Contiene múltiples copias de snoRNAs codificadas en regiones intrónicas de esta compleja unidad de transcripción. Diferentes transcritos alternativos del locus *SNURF-SNRPN* son predominantes en el cerebro y se solapan a *UBE3A* con una orientación antisentido. A diferencia de los genes de expresión paterna y del gen *ATP10A* de expresión materna, la expresión materno-específica de *UBE3A* en el cerebro no se regula mediante metilación del DNA. El silenciamiento de la copia paterna de *UBE3A* en el cerebro es consecuencia de la expresión del transcrito más largo de *SNURF-SNRPN* en una orientación antisentido<sup>[18]</sup> (Figura 3A).

### 4.2. Gen *UBE3A*

El gen *UBE3A*, localizado en la región 15q11-q13, codifica la proteína E6-AP (*Human Papillomavirus E6-Associated Protein*), de 865 aminoácidos y con un peso molecular de 100 kD. La proteína E6-AP es una E3 ubiquitin-proteína ligasa, miembro de la familia proteica que presenta 350 aminoácidos



**Figura 1** Esquema de la región cromosómica 15q11-q13 y patrón de expresión de los genes contenidos en esta región en determinadas regiones del cerebro y cerebelo (A) y en el resto de tejidos (B). Se representan el cromosoma 15 paterno (parte superior de la figura) y el cromosoma 15 materno (parte inferior de la figura) y se indica la región de 4Mb regulada por impronta genómica. Las dos regiones *AS-SRO* y *PWS-SRO* que constituyen el IC se indican en recuadros blancos enmarcados con línea rosa y azul, respectivamente. Recuadros azules: genes de expresión paterna; recuadros rosas: genes de expresión materna; recuadros negros: genes de expresión bialélica; líneas verticales en azul: snoRNAs contenidos en el transcrito *SNURF-SNRPN*; flechas horizontales: orientación de la transcripción; en blanco enmarcados con líneas discontinuas atenuadas: genes no expresados en uno u otro cromosoma; líneas discontinuas verticales en azul: snoRNAs no expresados en el cromosoma materno; líneas negras verticales discontinuas: *BPs* más frecuentes; líneas grises verticales discontinuas: *BPs* menos frecuentes. Círculos negros: metilación del DNA.

en su extremo C-terminal, formando el denominado dominio hect (*Homologous to the E6-AP carboxyl terminus*)<sup>83</sup>. En la vía de degradación proteica dependiente de ubiquitina intervienen tres enzimas: los enzimas E1 activadores de ubiquitina, los E2 conjugadores de ubiquitina y los E3 ubiquitin-protein ligasas. Esta vía es utilizada por la célula para la degradación proteica de sustratos específicos. Los enzimas E3 con dominio hect son importantes para el reconocimiento del sustrato y transferencia de ubiquitina del complejo E2-ubiquitina al sustrato<sup>83,85</sup>. La acumulación de algunas proteínas diana de E6-AP se ha propuesto como una causa potencial para el AS de etiología desconocida<sup>86</sup>. Este podría ser el caso de p53, p27, Pbl/ECT2, alfa-sinucleinas, Arc, ephexin-5 y Rpn10, que son sustratos de E6-AP en el cerebro y están implicados en procesos relevantes, tales como el crecimiento neuronal, la migración en la corteza, el control de los niveles de superficie de los receptores del ácido alfa-amino-3-hidroxi-5-metil-4-isoxazol-propionato (AMPA), control del número de sinapsis excitatorias y la densidad de las espinas dendríticas<sup>87</sup>. Recientemente, Rpn10 se ha sugerido como el principal sustrato para la degradación a través de la ubiquitinización mediada por E6-AP<sup>88</sup>. En el año 1998 fue descrita una segunda función, independiente de esta primera, como coactivador de receptores hormonales nucleares<sup>89</sup>, estando E6-AP también involucrada en la transcripción de hormonas esteroideas como receptores de glucocorticoides. Al ser interrumpidas las vías de señalización de estos receptores, el eje hipotálamo-

hipófisis-suprarrenal se altera, lo que resulta en una mayor susceptibilidad al estrés y la ansiedad<sup>90</sup> y en deterioro cognitivo en modelos de ratón de AS<sup>91</sup>. El conocimiento de proteínas con las que E6-AP forma complejo, de genes diana que son activados por el mismo y de proteínas diana de la función ubiquitin ligasa de E6-AP, desvelan un importante papel de esta proteína en la fisiología del sistema nervioso central<sup>92</sup>.

La estructura genética del gen *UBE3A* actualmente conocida, fue descrita por Kishino y Wagstaff en 1998<sup>93</sup>, así como la de dos pseudogenes, *UBE3A1* y *UBE3A2*, localizados en los cromosomas 2 y 21, respectivamente. El gen *UBE3A* está constituido por 10 exones, y los exones 1-6 forman parte de la región 5'-no traducida. En el marco abierto de lectura (*Open Reading Frame; ORF*) de E6-AP (Isoforma I) el exón 7 aporta únicamente sus dos últimos nucleótidos (AT) al codón de inicio (AUG), el cual se completa al realizar el *splicing* entre los exones 7 y 8.

### 4.3. El centro regulador de la impronta (IC) en 15q11-q13

El IC de la región cromosómica 15q11-q13 presenta dos regiones críticas necesarias para el cambio de impronta en la línea germinal. La primera, llamada *Prader-Willi Syndrome-Smallest Region of deletion Overlap* (PWS-SRO), incluye la región promotora y el exón 1 del gen *SNURF/SNRPN* y se ha definido por el solapamiento de deleciones presentes en las familias Síndrome

de Prader-Willi (PWS). La segunda, llamada *Angelman Syndrome-Smallest Region of deletion Overlap* (AS-SRO) es la región común delecionada en las familias AS<sup>4</sup> (Figuras 3A y 3B). En el cromosoma 15 materno, la región cromosómica 15q11-q13 está metilada causando la inactivación de los genes de expresión paterna y permitiendo la expresión de *UBE3A*. En el cromosoma paterno la expresión del largo transcrito *SNURF-SNRPN* impide la transcripción de *UBE3A* en el cerebro<sup>8,82</sup> (Figura 3A). El gen *ATP10A* se consideró un posible candidato a causar el AS ya que presenta un patrón de expresión similar a *UBE3A*, pero hasta la actualidad no se han encontrado evidencias de esta posible relación<sup>8</sup>.

#### 4.4. Mecanismos moleculares

El 80% de los casos son causados por cuatro mecanismos principales: deleción de la región 15q11-q13, mutaciones puntuales en el gen *UBE3A*, disomía uniparental paterna del cromosoma 15 [UPD(15)pat] y defecto en la impronta. En una baja frecuencia las reorganizaciones cromosómicas afectan a la región 15q11-q13. El AS también puede estar causado por deleciones totales o parciales del gen *UBE3A*<sup>102</sup>. En un 10% de casos con diagnóstico clínico de AS, no se han identificado ninguna de las causas genéticas conocidas. En estos casos se recomiendan revisiones clínicas dado que existen diferentes patologías que se manifiestan con fenotipos similares al AS descritos (ver apartado 3).

□ **Deleción de la región 15q11-q13** (Figura 4A); es la causa más frecuente encontrándose en el 80% de los pacientes. El 80% de estas deleciones se originan por recombinación homóloga desigual entre uno de los puntos de rotura proximales BP1 o BP2 y el más distal BP3<sup>1,2</sup>. Concretamente el 50% de estas deleciones se dan entre BP2 y BP3 (deleción tipo II) y el 40% se dan entre BP1 y BP3 (deleción tipo I). Menos del 10% de las deleciones ocurren entre los puntos BP1/BP2 y los puntos más distales BP4, BP5 y BP6<sup>5</sup>.

□ **Mutación en la región materna del gen *UBE3A*** (Figura 4B); es la segunda causa más frecuente (10%) del AS y puede ser *de novo* o familiar. La deleción parcial del gen *UBE3A* (Figura 4C) es causa del AS, aunque aparece con muy baja frecuencia, menos del 5%<sup>102</sup>. Las técnicas de análisis de secuencia no cuantitativas utilizadas para estudiar la presencia de variaciones nucleotídicas en el gen *UBE3A*, no permiten identificar la deleción total o parcial del gen, por lo que su frecuencia puede estar infravalorada.

□ **UPD(15)pat** (Figura 4D); su frecuencia es baja (2-5% de los casos) y son mayoritariamente isodisomías. Dado que la no disyunción en meiosis masculina es un fenómeno raro, éstas se originan, probablemente, por una no-disyunción materna seguida de una duplicación postzigótica del cromosoma 15 paterno<sup>103,104</sup>.

□ **Deleción de región de la región 15q11-q13** (Figuras 4E y 4F); ocurre con una frecuencia baja,



similar a pat15UPD. En este caso los cromosomas de origen materno y paterno están presentes, pero se ha establecido una impronta incorrecta (Figura 4E). La mayoría de los defectos de impronta (85%) son por errores epigenéticos, considerados esporádicos. En un 20% de los casos, estos errores epigenéticos en el cromosoma materno pueden ser postzigóticos y presentarse en mosaico<sup>105,108</sup>. El 15% de los casos AS causados por un defecto de impronta se originan por deleciones de la región AS-SRO (Figura 4F). Estos últimos mayoritariamente son familiares, con un riesgo de recurrencia del 50%<sup>105</sup>.

\* Con una incidencia muy baja (<1%) la causa puede ser una **reversión a la normalidad** alterando el patrón de la impronta.

A pesar de que el defecto de impronta de la región 15q11-q13 sea una causa de AS de muy baja frecuencia, en el año 2002, Cox y colaboradores<sup>10</sup> describieron dos casos de AS concebidos por técnicas de reproducción asistida causados por un defecto de impronta. Un año más tarde, se describió otro caso más de AS causado por un defecto de impronta también concebido con reproducción

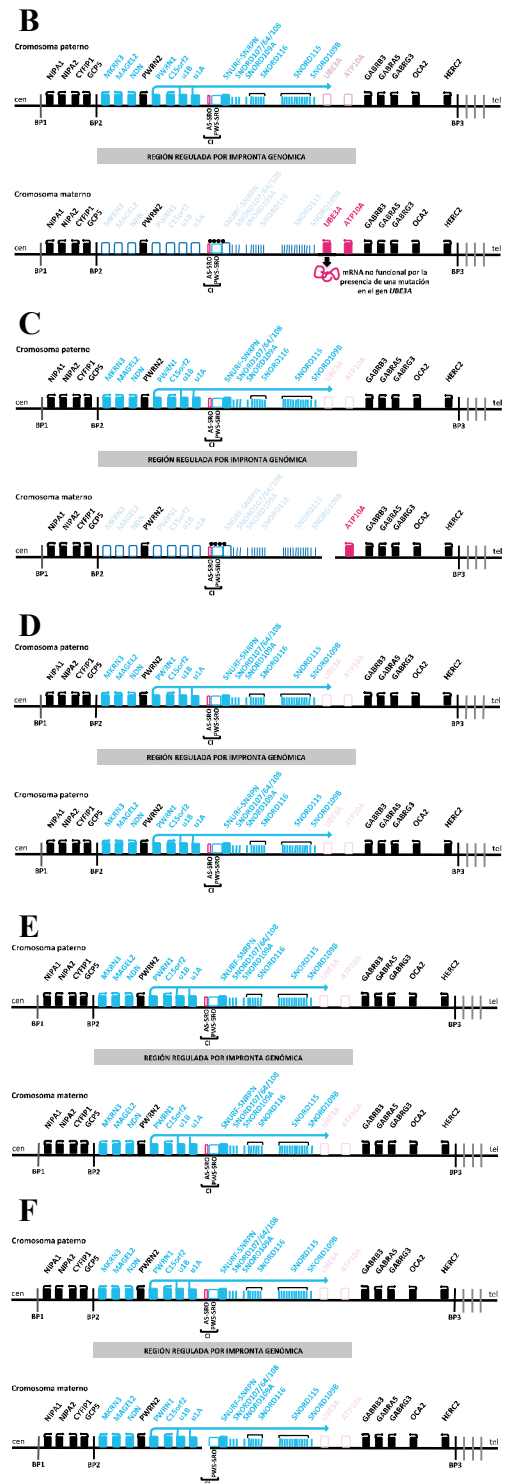
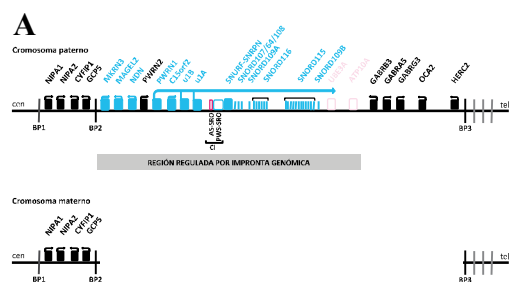


Figura 4 Esquema de las causas genéticas del AS. Deleción 15q11-q13 en el cromosoma 15 materno (A) Mutación en el gen UBE3A en el cromosoma materno (B); Deleción total o parcial del gen UBE3A en el cromosoma materno (C); Disomía paterna del cromosoma 15 (D); Defecto de impronta por anomalía epigenética (ausencia de metilación) en el cromosoma 15 materno (E); Defecto de impronta por deleción del AS-SRO en el cromosoma 15 materno (F).

asistida<sup>110</sup>. Los procesos de estimulación ovárica<sup>111,112</sup>, maduración *in vitro* de ovocitos<sup>111</sup> o el cultivo *in vitro* de embriones<sup>113,114</sup> podrían interferir en la impronta genómica. Este conocimiento apunta a un moderado incremento en el riesgo del desarrollo de síndromes relacionados con anomalías en la impronta genómica en la población de niños concebidos mediante reproducción asistida. Además, a partir de datos epidemiológicos obtenidos de madres de pacientes con AS, se ha demostrado una correlación entre infertilidad y la presencia de defecto de impronta en la descendencia<sup>115</sup>.

## 5. Estudios moleculares

Conocer la causa genética del AS es imprescindible para orientar un pronóstico clínico y poder ofrecer un consejo genético.

Anterior al conocimiento del gen causante del AS, en el año 1996, la *American Society of Human Genetics (ASHG)*, conjuntamente con el *American College of Medical Genetics (ACMG)*, propusieron las aproximaciones necesarias para el diagnóstico del AS y del  $\alpha$ - $\beta$ <sup>116</sup>. Este algoritmo inicialmente propuesto se ha completado teniendo en cuenta el conocimiento actual de las posibles causas del AS y el desarrollo y mejora de las técnicas moleculares. Frente a la sospecha clínica del AS y teniendo en cuenta la frecuencia de las diferentes causas genéticas, es recomendable iniciar el estudio molecular analizando la metilación del DNA del IC de la región cromosómica 15q11-q13. El estudio del cariotipo del

paciente permitirá identificar posibles reorganizaciones cromosómicas que afecten a la región crítica 15q11-q13.

- Los **estudios de metilación del DNA** permiten valorar el patrón de metilación en la región  $\alpha$ . El exón1/región promotora de *SNURF-SNRPN* presenta una isla CpG diferencialmente metilada que no metilada en el alelo paterno y metilada en el alelo materno (ver Figura 3A y 3B). El patrón de metilación característico del AS se identifica por la ausencia del alelo metilado (materno) y presencia del alelo no metilado (paterno). Con ello se identifican el 80% de los casos AS, aquellos causados por una deleción de la región 15q11-q13, por una UPD(15)pat o por un defecto de impronta (ver Figuras 4A y 4C-F). La aplicación de técnicas complementarias permite diferenciar entre estas etiologías.

Como se menciona en el capítulo 1 de estas guías, los estudios de metilación del DNA se basan en la aplicación de la técnica de MLPA específica de metilación, *Methylation Specific-Multiplex Ligation-dependent Probe Amplification (MS-MLPA®)* o bien en la amplificación por PCR específica de metilación, *Methylation Specific-PCR (MS-PCR)*.

\* La **metodología MS-MLPA®** es de gran utilidad porque analiza varias causas genéticas con una única metodología. Permite la identificación de la metilación del  $\alpha$  a la vez que detecta la

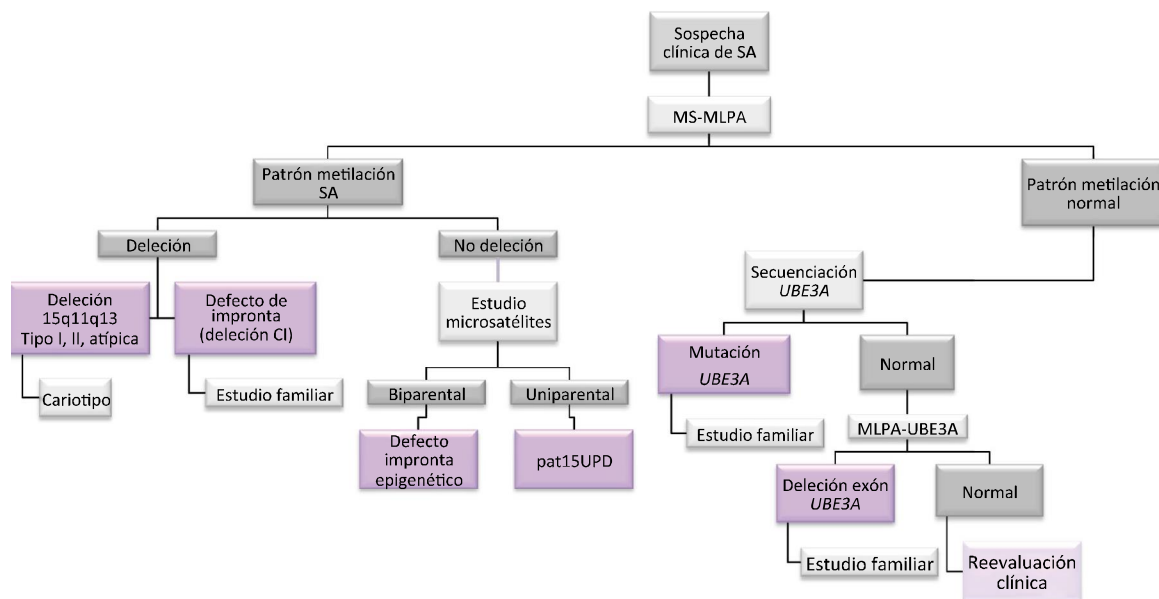
variación en número de copias de *loci* de la región cromosómica 15q11-q13, cubriendo desde el gen *NIPA* hasta *APAB7*, de manera semicuantitativa<sup>11,18</sup>. El *kit* comercial ME028 de *MRC Holland*, contiene 32 sondas específicas de la región crítica 15q11-q13 y 14 sondas control de fuera de 15q11-q13 (cromosoma 15 y otros cromosomas). Además, algunas de las sondas internas se diseñan complementarias a la región *AS-SRO* del  $\alpha$  para poder cuantificar la dosis génica e identificar posibles deleciones que afecten únicamente a la región *AS-SRO* del  $\alpha$ . Con esta estrategia, es posible identificar la presencia de metilación en solo un alelo (50% patrón normal), presencia de metilación en los dos alelos (100% patrón de metilación característico del PWS) o ausencia de metilación (0% patrón de metilación característico del AS).

Con un patrón de metilación característico de AS y la presencia de la mitad del número de copias en los *loci* de la región 15q11-q13, es posible concluir que la delección es la causa del AS, diferenciándose la tipo I, II o delección atípica. La ausencia de metilación junto a un resultado compatible con la presencia de delección en la región *AS-SRO* y una dosis normal en el resto de *loci* internos de la región 15q11-q13, permite concluir que el AS está causado por un

defecto de impronta resultante de delección en el  $\alpha$ . Si se obtiene un resultado normal en cuanto al número de copias de todos los *loci* de la región 15q11-q13 y un patrón de metilación AS, debe realizarse un estudio de microsatélites para diferenciar el AS causado por una UPD(15)pat de un defecto de impronta por un error epigenético *de novo* (Figura 5). Al tratarse de una técnica cuantitativa, la *MS-MLPA*<sup>®</sup> permite la identificación del defecto de impronta en mosaico.

En el estudio del patrón de metilación con la metodología *MS-PCR*, la presencia de una banda de amplificación específica del alelo paterno no metilado y ausencia de la banda de amplificación correspondiente al materno metilado, indica que el paciente es afecto de AS causado por delección de la región cromosómica 15q11-q13, o por UPD(15)pat o bien por un defecto de impronta. Para poder discernir la causa es necesario realizar estudios complementarios. La sensibilidad de detección de ambos alelos es importante para poder detectar un defecto de impronta en mosaico con un diseño adecuado de oligonucleótidos<sup>11</sup>.

- La técnica de **FIS** (**Fluorescent In Situ Hybridization**) con sondas específicas de la región, permite identificar la delección de la región 15q11-q13.



**Figura 1:** Algoritmo diagnóstico del AS mediante MS-MLPA como técnica de elección para el análisis del patrón de metilación y de delecciones. El algoritmo se completa mediante el estudio de microsatélites o el análisis de la secuencia del gen *UBE3A*.

- En la actualidad la técnica de **microarray de banda cromosómica** (**aCMA**), utilizada en genética clínica para el análisis de variantes de número de copias (delecciones y duplicaciones), permite diagnosticar los distintos tipos de delección tanto las comunes como las atípicas y conocer su tamaño.
- El **estudio de microsatélites** permite diferenciar entre la UPD(15)pat (herencia uniparental) o un defecto de impronta (herencia biparental). Los **microarrays de alta densidad con polimorfismos de nucleótido simple (SNP)** pueden proporcionar información sobre la presencia de UPD además de informar sobre las delecciones.
- **Si con el estudio de microsatélites se ha observado herencia biparental, y por tanto indicativo del defecto de impronta como causa genética del AS, y previamente se ha utilizado la técnica de MS-PCR, es importante realizar un estudio de la región AS-SRO del IC que permita identificar una posible delección del AS-SRO como origen del defecto de impronta o descartarlo y concluir que la causa del AS es un defecto de impronta epigenético esporádico.**
- El **estudio del gen UBE3A** se realizará en caso de obtenerse un patrón de metilación normal (presencia del alelo metilado/

materno y no metilado/paterno). Debido a la estructura genómica del gen *UBE3A* y a la presencia de pseudogenes de elevada homología, en el estudio de la secuencia del gen *UBE3A* se analiza el *ORF* del gen utilizando oligonucleótidos específicos de regiones intrónicas con las que los pseudogenes no comparten homología. En caso de no identificarse una mutación que permita el diagnóstico y ante una clínica muy consistente del AS debe plantearse complementar el estudio cuantitativo por MLPA® del gen para identificar posibles deleciones totales o parciales de *UBE3A* como causa genética (kit P336 de *MRC Holland*).

Por último, en el 10% de casos con diagnóstico clínico de AS, que no se identifique ninguna de las causas genéticas conocidas, estaría indicado analizar el cariotipo molecular (aCGH) y un estudio de mutaciones del panel de genes asociados con fenotipos similares al AS descritos (ver apartado 3).

## 6. Posibles terapias moleculares

En la actualidad y al igual que sucede en la mayoría de síndromes de causa genética, no existe un tratamiento curativo para el AS. Los tratamientos actuales se centran en terapias que permiten tratar los síntomas sin poder erradicar la causa que puede conllevar a

revertir el fenotipo anómalo.

Sin embargo, los avances en biomedicina y, en concreto en la terapia molecular, pueden cambiar las perspectivas para el tratamiento del AS dadas las características genéticas del síndrome. En concreto, el hecho de que exista un gen diana (el gen *UBE3A*) y que además está presente una copia o alelo del gen potencialmente funcional, hacen del AS un firme candidato a la posible aplicación de terapias moleculares.

Ante una terapia molecular para estos pacientes se deben tener en cuenta dos premisas importantes: 1) conseguir un tratamiento muy dirigido y específico que actúe sobre el gen *UBE3A* y no sobre otros genes del genoma y 2) debe superarse la barrera hematoencefálica y acceder al cerebro, principal órgano diana. Además también es necesario que presente una baja toxicidad y no sea un tratamiento invasivo.

Como se ha indicado previamente, el AS está causado por la ausencia o la no funcionalidad de la proteína E6AP, codificada por el gen *UBE3A*, en el cerebro, donde este gen es únicamente funcional a partir del alelo materno. Las anomalías genéticas del gen *UBE3A* que afectan su expresión causan el fenotipo AS. Sin embargo, el paradigma de que la copia paterna del gen *UBE3A* está intacta aunque inactiva, abre la posibilidad de un tratamiento molecular basado en conseguir activar la copia paterna del gen en el cerebro<sup>120</sup>. El mecanismo molecular por el cual se produce la inactivación del gen *UBE3A* es a través de la expresión del transcrito no codificante del locus *SNURF/SNRPN*

(*long non-coding RNA*) que tiene una dirección antisentido y solapante al gen *UBE3A* a cuya función se le denomina *UBE3A antisense transcript (UBE3A-ATS)*. El bloqueo de la copia paterna del gen *UBE3A* en el cerebro, incrementa las posibilidades de tratamiento con moléculas que actúen impidiendo la expresión del transcrito *UBE3A-ATS*.

Conseguir un tratamiento eficaz que actúe inhibiendo a *UBE3A-ATS* es el foco actual de grupos de investigación dedicados al desarrollo de posibles terapias del AS. Cabe recordar las múltiples y complejas funciones que tiene la proteína E6-AP, entre ellas la de actuar como enzima E3 ligasa de ubiquitinas<sup>84,85</sup> de múltiples proteínas celulares que no serían degradadas, y como coactivador transcripcional de receptores hormonales nucleares<sup>8□□2</sup>. Además los enzimas E3 ligasa de ubiquitina también participan en la monoubiquitinización asociada a la señalización celular, y adicionalmente se atribuyó su posible papel en la sinapsis neuronal y en la potenciación a largo plazo en el hipocampo<sup>121□23</sup>.

Es difícil el desarrollo de tratamientos que actúen sobre las dianas de E6-AP y en la actualidad solo se conoce un ensayo clínico dirigido a mejorar el sistema serotoninérgico afectado en el AS, mediante el tratamiento con levodopa, transportador de la dopamina. Este tratamiento se había utilizado para tratar a dos pacientes adultos con AS, los cuales mejoraron respecto al temblor y la rigidez. La levodopa podría normalizar la proteína alfa quinasa II calmodulina ( $\alpha$ CaMKII), reduciendo la inhibición de la fosforilación que

se produce por el déficit de E6-AP<sup>124</sup>. Por otro lado, parece que los problemas conductuales también podrían mejorar, pues están relacionados con una señalización anómala de la dopamina, que es dependiente de la proteína  $\alpha$ CaMKII<sup>125,12□</sup>.

Algunos ensayos han utilizado fármacos que actúan modulando la expresión génica, al ser agentes que actúan sobre la metilación del DNA (5-azacitidina) y sobre determinadas modificaciones de las proteínas histonas (inhibidor de las deacetilasas de histonas), o el inhibidor de la topoisomerasa (topotecan), que dieron resultados positivos en la activación de *UBE3A* en experimentos realizados en modelo murino AS<sup>12□□</sup><sup>12□</sup>. Pero estos tratamientos no son específicos y los fármacos actúan y modifican la expresión de múltiples genes del genoma que pueden dar lugar a efectos no deseados.

No solamente se ha de conocer el efecto e importancia de los fármacos sino que se ha de poner énfasis en la administración del tratamiento y su liberación en el cerebro. Las inyecciones intracraneales pueden tener efecto sobre regiones muy discretas, además de ser necesarias inyecciones sucesivas para prolongar el efecto del tratamiento. Una solución podría ser el uso de vectores virales portadores del gen *UBE3A*, pero su eficacia depende de su estabilidad y/o inserción en el genoma, mecanismo complejo en células neuronales que no se dividen.

Otra estrategia que se investiga es el uso de proteínas artificiales con actividad de factor de transcripción (*Artificial*

*Transcription Factors; ATFs*)<sup>120,130</sup>. Aunque se considera una estrategia terapéutica prometedora, por haber conseguido conferir especificidad en la activación o inactivación de genes específicos<sup>131</sup>, todavía existen limitaciones en su formato de administración.

Finalmente, la estrategia de terapia molecular que despunta más prometedora, dada su eficacia, especificidad, ausencia de efectos adversos y resultados obtenidos tras su administración *in vitro* e *in vivo* en modelo murino de AS, es el uso de oligonucleótidos antisentido (*antisense oligonucleotides; ASOs*). Es decir, el uso de una secuencia específica de oligonucleótidos complementaria al transcrito *long non coding RNA* para silenciar a *UBE3A-ATS* del cromosoma 15 paterno. En este sentido Meng y col.<sup>132</sup> han publicado recientemente resultados exitosos en la inactivación de *UBE3A-ATS*, obtenidos tras el tratamiento con *ASOs* en ratones AS mediante inyecciones intracraneales. Han observado un restablecimiento parcial de la proteína E6AP en neuronas consiguiendo una mejora de los rasgos cognitivos asociados al AS, pero no logran la recuperación de otras características fenotípicas. El conseguir una completa mejoría del fenotipo podría depender del momento de la administración del tratamiento con *ASOs*, antes del período ventana crítico de desarrollo, de la necesidad de un tratamiento más prolongado que influya en la restructuración de la red neuronal o de un nivel de inducción de la actividad del gen *UBE3A* más elevado.

En resumen, los resultados obtenidos hasta el momento actual en la investigación de un posible tratamiento del AS, así como de otras enfermedades que afectan al Sistema Nervioso Central y de genética similar, apuntan al tratamiento con *ASOs* por ser una terapia bien tolerada, admite la administración en el cerebro, por su distribución en el tejido pos administración y por sus efectos a largo término<sup>120</sup>.

## 7. Correlación genotipo-fenotipo

Según los distintos mecanismos moleculares las características clínicas difieren en severidad y en frecuencia de presentación. Hay una gradación en la severidad clínica de acuerdo con su genotipo, siendo de mayor a menor gravedad los casos con delección, etiología desconocida, mutación en *UBE3A*, UPD(15)pat y defecto de impronta, respectivamente<sup>133</sup>. La edad del diagnóstico es más precoz en los pacientes con delección respecto a los pacientes con mutación en *UBE3A* y UPD(15)pat/defecto de impronta (14 meses vs 24 meses). Los pacientes con delección tienden a ser más bajos y delgados respecto a la población general que estas características suelen ser más marcadas en la delección tipo que mientras que los pacientes con UPD(15)pat o defecto de impronta tienden a ser más altos y con mayor peso. En el grupo con mutación en *UBE3A* el crecimiento es variable<sup>5,133</sup>.

La delección respecto a las otras

etiologías moleculares se asocia a un fenotipo más complejo caracterizado por convulsiones graves, más frecuentes y éstas aparecen antes de los tres años, por lo que se requiere más medicación para su control. Los pacientes con deleción cumplen criterios de autismo, tienden a presentar mayor frecuencia de problemas motores, las edades de sedestación y de marcha autónoma suelen verse retrasadas, algunos casos no llegan a andar y en los que andan, la ataxia es frecuente. También hay una ausencia completa del lenguaje verbal, mayor frecuencia de microcefalia y las conductas masticatorias son más comunes respecto al grupo sin deleción<sup>5,133,134</sup>.

Se ha sugerido que la ausencia de los tres genes que componen las subunidades del receptor aminobutírico (*GABRB3*, *GABRA5*, *GABRG3*), localizados distalmente a *UBE3A*, esté implicada en la génesis de la epilepsia<sup>135</sup>.

La hipopigmentación ocurre con mayor frecuencia en los pacientes con deleción. El gen *OCA2* es responsable del albinismo oculocutáneo de herencia autosómica recesiva, pero también puede tener un comportamiento semidominante favoreciendo la hipopigmentación en la deleción. Pacientes con mutación en *UBE3A* también pueden presentar hipopigmentación y ello se atribuye a una alteración de la pigmentación debido a una probable regulación del receptor de melanocortina<sup>100,136</sup>.

Hay algunas diferencias fenotípicas entre la deleción tipo I y II siendo más grave en la deleción de mayor longitud

(tipo I). Se asocia a características más graves del trastorno del espectro autista y mayor aversión a estímulos sensoriales. Sin embargo en las habilidades cognitivas y en la conducta adaptativa no hay diferencias entre las dos clases de deleciones<sup>137,138</sup>. Hay cuatro genes, *NIPA1*, *NIPA2*, *CYFIP1* y *GCP5* que están ausentes en la deleción tipo I y que pueden ser responsables de estas diferencias. En particular *CYFIP1* es el gen más relevante por codificar para una diana de la proteína FMR1 del retraso mental frágil, asociado a TEA<sup>139</sup>.

Pacientes con mutación en *UBE3A* alcanzan una puntuación más alta en los test cognitivos, en las habilidades motoras fina y gruesa y en el lenguaje receptivo respecto a la deleción. Pueden llegar a utilizar unas 20 palabras. También suelen tener mayor facilidad para desarrollar sistemas de comunicación alternativos, como el lenguaje de signos<sup>140</sup>. Sin embargo, en niños menores de cinco años no se encuentran diferencias en las habilidades del lenguaje respecto a los distintos mecanismos moleculares<sup>141</sup>.

Los síntomas en los pacientes con UPD(15)pat y defecto de impronta son más moderados y con un fenotipo más atípico respecto a las otras etiologías. Un 46% de los niños muestran un aumento del índice de masa corporal<sup>5</sup>. A partir del primer año de vida puede manifestarse una conducta hiperfágica, que es más moderada que en el síndrome de Prader-Willi. La sobreexpresión de los genes paternos *SNURF-SNRPN* subyace en el origen de la obesidad temprana<sup>5,140,142</sup>. En el defecto de impronta en mosaico



el fenotipo es el más moderado de todos los distintos tipos de alteración molecular<sup>143,144</sup>.

## 8. Asesoramiento genético

Para poder ofrecer un correcto asesoramiento genético, se debe determinar el mecanismo que ha ocasionado el AS en el paciente (Figura 6).

En la **deleción 15q11q13** el riesgo de recurrencia es muy bajo, inferior al 1%<sup>145</sup>. En embargo, se recomienda el cariotipo para descartar una reorganización cromosómica aunque sea extremadamente rara (<1%). Cuando la madre sea portadora de una reorganización equilibrada, el riesgo de recurrencia se estima del 5% a 50%, en función de la reorganización.

En el caso de la **UD(15)** el riesgo de recurrencia es bajo, inferior al 1%<sup>146</sup>.

En embargo, se recomienda el cariotipo para descartar una translocación robertsoniana heredada del padre en los casos de isodisomía. El riesgo de recurrencia sería del 100%.

\* La mayoría de casos con **deleción de región 15q11q13** de **maternal** e **epigenética** son aproximadamente el 10% a 15% de **deleción de UBE3A** son esporádicos, siendo el riesgo de recurrencia muy bajo, inferior al 1%. Aproximadamente el 10-15% de los pacientes con **deleción de 15q11q13** y en el 20% con **mutación en el gen UBE3A** son familiares<sup>147</sup>. Es necesario realizar un estudio de la madre para determinar si dicha alteración ha sido heredada. En esta situación el riesgo de recurrencia sería del 50%. Si la madre es portadora de la **deleción en el 15q11q13**, o de una **mutación en el gen UBE3A**, es necesario estudiar a su padre (abuelo materno del caso índice). Si éste es portador, se debe considerar a los hermanos de la madre posibles portadores. Para las hermanas de la madre portadora también existiría

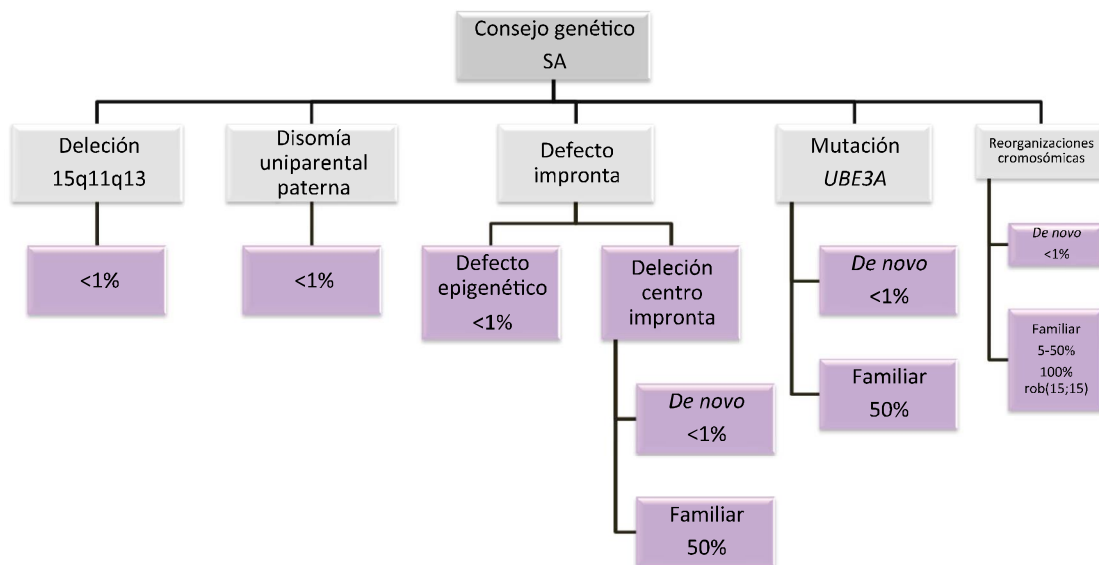


Figura 6. Riesgo de recurrencia en función del mecanismo etiológico del AS.

el mismo riesgo del 50% para la descendencia y para los hermanos, éstos podrían transmitir la alteración a la descendencia, hijos o hijas, en estado de portador sano<sup>148,149</sup>.

El diagnóstico prenatal se recomienda para posteriores embarazos independientemente de la causa genética y de que el riesgo de recurrencia sea considerado bajo ya que se han descrito casos familiares con delección

o mutación en *UBE3A* sugiriendo la presencia de un mosaicismo germinal en la madre<sup>148,150-152</sup>. En función de la alteración se realizará el test de metilación o bien un análisis mutacional específico en el gen *UBE3A*, en una muestra de ADN procedente de vellosidad corial (12-13 semanas de gestación) o bien de líquido amniótico (a partir de la 14 semana de gestación).

## RESUMEN

El síndrome de Angelman (AS) (MIM 105830) es un trastorno del neurodesarrollo de origen genético caracterizado por una discapacidad intelectual grave, con nulo o mínimo uso del lenguaje, asociado a epilepsia con alteraciones en trazado de electroencefalograma, trastorno del equilibrio y movimiento, y trastorno del sueño. Es característico el fenotipo físico (microcefalia y boca grande) y conductual (sonrisa frecuente, fascinación por el agua, frecuente aleteo, hiperexcitabilidad, y dispersión). La incidencia del AS es alrededor de 1 por cada 15,000 individuos.

El AS es de herencia monogénica causado por anomalías genéticas que afectan a la copia materna del gen *UBE3A*. Este gen pertenece a un *cluster* de genes regulado por impronta genómica de la región cromosómica 15q11-q13. Hay cuatro mecanismos principales que causan el AS: deleción de la región 15q11-q13 en la copia materna (70-75%), mutaciones en *UBE3A* (10%), disomía uniparental paterna del cromosoma 15 (2-5%) y defecto en la impronta (2-5%). No se conoce la causa genética en un 10%. El estudio de metilación de *SNURF-SNRPN* y la secuenciación de *UBE3A* permiten el diagnóstico en el 90% de los casos.

Hay diferencias fenotípicas según el mecanismo molecular, siendo de mayor gravedad la deleción y de menor la disomía uniparental paterna y el defecto de impronta. La deleción tipo I y II se asocia a un fenotipo más complejo caracterizado por convulsiones graves, más frecuentes y más tempranas. El diagnóstico precoz es importante para evitar estudios complementarios innecesarios y establecer un pronóstico que permita a las familias una planificación de vida y a los profesionales iniciar: (I) estrategias terapéuticas más adecuadas (fisioterapia en el desarrollo psicomotor durante los primeros años y en la edad adulta para evitar retracciones y deformidades osteoarticulares y técnicas de comunicación alternativas lo más precoz posible y necesarias durante toda la vida) y (ii) previsión de respuesta a diferentes fármacos (como elección de fármacos antiepilépticos e inductores del sueño).

La mayoría de casos son esporádicos siendo el riesgo de recurrencia muy bajo, pero en los genotipos con mutación de *UBE3A* y deleción del centro de impronta se encuentran casos familiares. Para la madre portadora el riesgo de recurrencia en la descendencia es del 50% y en los hermanos varones portadores, la alteración se transmite en el 50% de la descendencia en estado de portador sano.

## REFERENCIAS

1. Hart H. 'Puppet' children. A report on three cases (1965). *Dev Med Child Neurol* 2008;50:564-
2. Kyllerman M. On the prevalence of Angelman syndrome. *Am J Med Genet* 1995;59:405-4.
3. Buckley RH, Dinno N, Weber P. Angelman syndrome: are the estimates too low? *Am J Med Genet* 1988;80:385-390.
4. Williams CA, Beaudet AL, Clayton-Smith J et al. Angelman syndrome 2005: updated consensus for diagnostic criteria. *Am J Med Genet A* 2006;140:413-418.
5. Tan WH, Bacino CA, Skinner SA et al. Angelman syndrome: Mutations influence features in early childhood. *Am J Med Genet A* 2011;155A:81-90.
6. Galvan-Manso M, Campistol J, Conill J, Sanmarti FX. Analysis of the characteristics of epilepsy in 37 patients with the molecular diagnosis of Angelman syndrome. *Epileptic Disord* 2005;7:19-25.
7. Valente KD, Koiffmann CP, Fridman C et al. Epilepsy in patients with Angelman syndrome caused by deletion of the chromosome 15q11-13. *Arch Neurol* 2006;63:122-128.
8. Buoni S, Grosso S, Pucci L, Fois A. Diagnosis of Angelman syndrome: clinical and EEG criteria. *Brain Dev* 1999;21:296-302.
9. Laan LA, Renier WO, Arts WF et al. Evolution of epilepsy and EEG findings in Angelman syndrome. *Epilepsia* 1998;39:151-155.
10. Clayton-Smith J, Laan L. Angelman syndrome: a review of the clinical and genetic aspects. *J Med Genet* 2003;40:833-835.
11. Espay AJ, Andrade DM, Wennberg RA, Lang AE. Atypical absences and recurrent absence status in an adult with Angelman syndrome due to the UBE3A mutation. *Epileptic Disord* 2005;7:227-230.
12. Boyd SG, Harden A, Patton MA. The EEG in early diagnosis of the Angelman (happy puppet) syndrome. *Eur J Pediatr* 1988;147:508-513.
13. Minassian BA, DeLorey TM, Olsen RW et al. Angelman syndrome: correlations between epilepsy phenotypes and genotypes. *Ann Neurol* 1988;43:485-493.
14. Vendrame M, Loddenkemper T, Zarowski M et al. Analysis of EEG patterns and genotypes in patients with Angelman syndrome. *Epilepsy Behav* 2012;23:212-215.
15. Laan LA, Vein AA. A Rett patient with a typical Angelman EEG. *Epilepsia* 2002;43:1590-1592.
16. Korff CM, Kelley KR, Nordli DR, Jr. Notched delta, phenotype, and Angelman syndrome. *J Clin Neurophysiol* 2005;22:238-243.
17. Beckung E, Steffenburg S, Kyllerman M. Motor impairments, neurological signs, and developmental level in individuals with Angelman syndrome. *Dev Med Child Neurol* 2004;46:239-243.
18. Peters SU, Kaufmann WE, Bacino CA et al. Alterations in white matter pathways in Angelman syndrome. *Dev Med Child Neurol* 2011;53:361-363.
19. Wilson BJ, Sundaram SK, Huq AH et al. Abnormal language pathway in children with Angelman syndrome. *Pediatr Neurol* 2011;44:350-356.
20. Barry RJ, Leitner RP, Clarke AR, Einfield SL. Behavioral aspects of Angelman syndrome: a case control study. *Am J Med Genet A* 2005;132A:8-12.
21. Roig M, Tallada M, Sarret E, Querali A, Macaya A. The early stages of Angelman's disease. Association of Child Neurology Nurses: Presentation of Abstracts. *Ann Neurol* 1993;34(3):485-486 (abstract 137).
22. Harbord M. Levodopa responsive Parkinsonism in adults with Angelman Syndrome. *J Clin Neurosci* 2001;8:421-422.
23. Guerrini R, De Lorey TM, Bonanni P et al. Cortical myoclonus in Angelman syndrome. *Ann Neurol* 1999;40:344-348.
24. Goto M, Saito Y, Honda R et al. Episodic tremors representing cortical myoclonus are characteristic in Angelman syndrome due to UBE3A mutations. *Brain Dev* 2015;37:216-222.
25. Didden R, Korzilius H, Smits MG, Curfs LM. Sleep problems in individuals with Angelman syndrome. *Am J Ment Retard* 2004;109:275-284.
26. Bruni O, Ferri R, D'Agostino G, Miano S, Roccella M, Elia M. Sleep disturbances in Angelman syndrome: a questionnaire study. *Brain Dev* 2004;28:233-240.
27. Larson AM, Shinnick JE, Shaaya EA, Thiele EA, Thibert RL. Angelman syndrome in adulthood. *Am J Med Genet A* 2015;167A:331-344.