

GENÉTICA DEL SÍNDROME DE WILLIAMS (SW). GENES AFECTADOS Y MECANISMO DE PRODUCCIÓN.

Luis Alberto Pérez Jurado
Universitat Pompeu Fabra

El SW está causado por una deleción submicroscópica de genes contiguos en la banda cromosómica 7q11.23. La gran mayoría de las personas con SW presentan una deleción muy similar o idéntica en tamaño [1], con la que se pierden aproximadamente 1.600.000 pares de bases nucleicas en los que está el código para 26 genes identificados [2-4].

Genes delecionados en el SW

El Proyecto de Genoma Humano ha acelerado enormemente el proceso de identificación de los genes en la región delecionada en el SW. Hasta la fecha, se han identificado y publicado 18 genes que codifican proteínas estructurales, factores de transcripción (reguladores de la expresión de otros genes), receptores transmembrana y otras proteínas implicadas en transducción de señal intracelular y en otras tareas neuronales. Sin embargo, todavía se carece de información sobre la función real de varios de los citados genes y aún queda mucho por definir (resumido en la tabla 1).

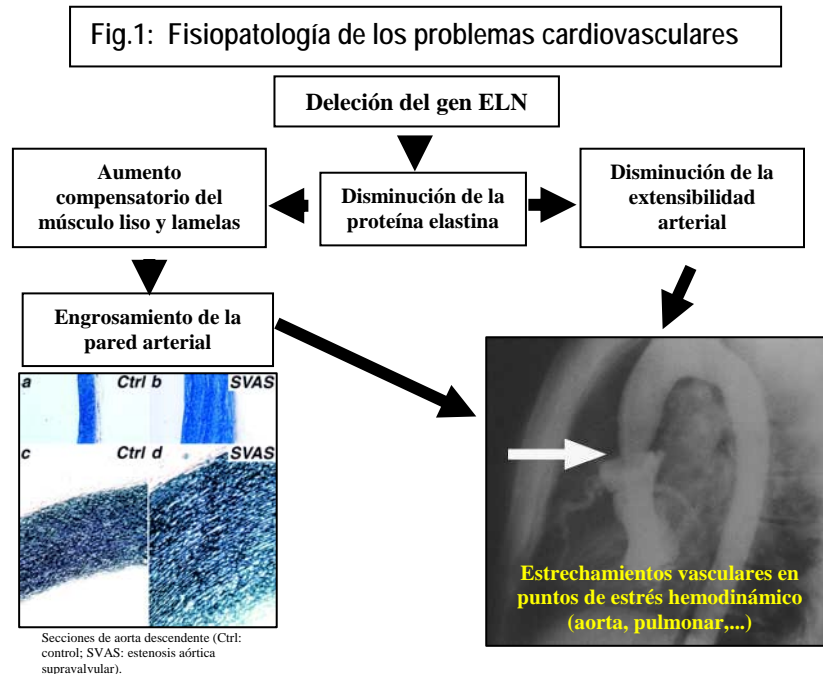
Tabla 1. Genes comúnmente delecionados en el SW, ordenados de centrómero a telómero.

Gen	Producto proteico	Función conocida o probable
FKBP6	Proteína de unión a FK-506	Miembro de la familia de inmunofilinas
FZD9	Frizzled 9	Receptor transmembrana de proteínas señalizadoras <i>wnt</i>
BAZ1B/ WBSR9/ WSTF	Homólogo del gen <i>Acf1</i> de <i>Drosophila</i>	Factor de transcripción, actúa en el ensamblaje de la cromatina
BCL7B	B-cell lymphoma 7B	Autoantígeno IgE identificado en la dermatitis atópica
TBL2/ WS-βTRP	Transducina β-like 2	Miembro de la familia de β-transducinas de función desconocida
WBSR14/ WS-bHLH	Proteína con estructura hélice-lazo-hélice básica	Represor de transcripción, interacciona con Mlx, implicado en proliferación / diferenciación celular
STX1A	Sintaxina 1A	Proteína de la membrana presináptica, implicada en la exocitosis de vesículas con neurotransmisores
CLDN3 y CLDN4	Familia de Claudinas Receptores de enterotoxina de <i>Clostridium perfringens</i>	Parte de las estructuras de unión entre células / barreras en tejidos epiteliales
ELN	Elastina	Principal componente de las fibras elásticas en la matriz extracelular
LIMK1	LIM-kinasa 1	Transducción de señal en sinapsis neuronal, actúa en despolimerización del citoesqueleto
EIF4H/ WBSR1	Factor de iniciación eucariótico eIF4H	Regulador positivo del inicio de traducción
WBSR15	Proteína sin dominios conocidos	Desconocida
RFC2	Subunidad 2 del factor de replicación pentamérico C	Elongación durante la replicación del ADN
CYLN2	Proteína neuronal de unión citoplasmática CLIP-115	Une las organelas y el esqueleto celular a través de microtúbulos
GTF2IRD1/ WBSR11/ GT3	Dominios relacionados con GTF2I	Regulador y potenciador transcripcional
GTF2I	TFII-I/BAP135/SPIN	Factor iniciador de la transcripción implicado en la transcripción basal y activada
NCF1	Factor citosólico de los neutrófilos, p47-phox	Subunidad de la oxidasa NADPH leucocitaria. Actividad antimicrobiana

Ocho genes más localizados en el intervalo común que se deletiona (provisionalmente llamados *WBSCR16-23*) han sido identificados recientemente y todavía se están caracterizando [4]. Las funciones predecibles por análisis informático de homología de los productos que codifican son las siguientes: (1) un miembro de la familia de chaperonas ADNJ; (2) una hidrolasa alfa/beta; (3) dos metiltransferasas diferentes; (4) una fosfoproteína nuclear de dedos de zinc; y (5) tres proteínas sin dominios predecibles.

Genes implicados en el fenotipo del SW

De entre los 26 genes que se deletionan (quizá haya hasta 30 o 35), sólo aquellos que sean sensibles a dosis, es decir, que presenten haploinsuficiencia (una copia no es suficiente y se necesitan dos), serán realmente importantes porque pueden ser responsables de los problemas que ocurren en el SW. *ELN* codifica para la proteína elastina, el principal componente de las fibras elásticas que se encuentran en la matriz extracelular de muchos tejidos. Fue el primer gen identificado en la región del SW [5] y es el único que ha sido asociado de manera inequívoca a algún aspecto del fenotipo. Se han descrito numerosos pacientes con estenosis aórtica supravalvular (EASV) de presentación familiar o esporádica, que presentan alteraciones (mutaciones puntuales o deleciones) circunscritas al gen de la elastina [6]. Por tanto, se puede inferir que *ELN* es responsable de los problemas cardiovasculares en el SW, pero no de otros aspectos clínicos. La pérdida de una copia de *ELN* causa una reducción en la cantidad total de proteína elastina, lo que afecta a la extensibilidad de la pared arterial (Fig. 1).



Se han creado modelos de ratón deficientes para elastina que confirman que la haploinsuficiencia para *ELN* causa el fenotipo cardiovascular del SW. Como en las personas con SW, los ratones con una copia de *ELN* muestran estrechamientos arteriales moderados debidos al aumento compensatorio en la pared arterial de músculo liso y de las lamelas de elastina, mientras que los ratones sin *ELN* (homocigotos) se mueren nada más nacer de una enfermedad obstructiva arterial [7,8]. No se han descrito otras anomalías fenotípicas ni trastornos del comportamiento o aprendizaje en los ratones con afectación de *ELN*. Probablemente, la deleción de *ELN* es también responsable de otros problemas del tejido conectivo que ocurren en el SW, incluyendo algunos rasgos faciales (aumento del tejido en zona periorbital y labios), los cambios con el tiempo en la piel y articulaciones, las hernias inguinales y la posibilidad de que aparezcan divertículos en el intestino o la vejiga urinaria.

Genes implicados en la función cognitiva

La haploinsuficiencia para otros genes afectados por la deleción debe ser el mecanismo patogénico para el resto de los rasgos del SW, incluyendo el fenotipo cognitivo y de comportamiento. Algunos genes se han propuesto como candidatos debido a su función, predicha o demostrada, y a su patrón de expresión. *STX1A* y *CYLN2* son candidatos excelentes ya que ambos se expresan sólo en el cerebro y sus funciones son importantes *a priori*, la liberación de neurotransmisores en la sinapsis (*STX1A*), y la organización

intracelular de las neuronas (*CYLN2*). Además, *LIMK1* se expresa bastante en neuronas y parece actuar emitiendo señales que actúan de guía para los axones durante el desarrollo, y hay varios factores de transcripción (*BAZ1B*, *WBSCR14*, *GTF2IRD1*, *GTF2I*) que pueden ser reguladores maestros de otros genes importantes para el desarrollo y/o función cerebral.

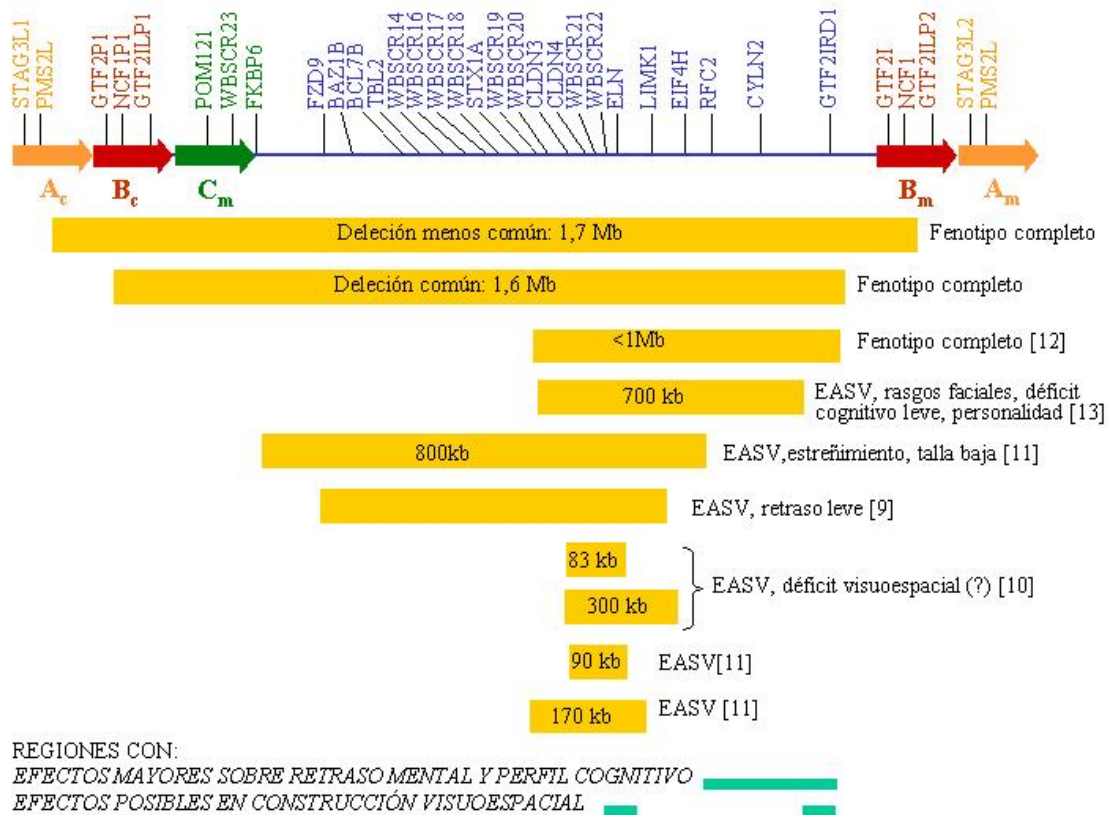


Fig. 2: Caracterización de la deleción (deleciones representadas por rectángulos amarillos) en individuos con rasgos completos o parciales de SW. El mapa de genes de la región se muestra encima.

Se han descrito unos cuantos pacientes con deleciones más pequeñas que presentan bien el fenotipo completo o bien un fenotipo parcial del SW [9-13] (Fig. 2). Las correlaciones entre la clínica y los hallazgos moleculares en estas personas han sido claves para la propuesta de un mapa de la región con la localización donde se representan las funciones cognitivas afectadas en el SW. La presencia de una deleción pequeña solo afectando a *ELN* y *LIMK1* en dos familias hizo proponer que *LIMK1* podría ser un factor que contribuyera a los problemas de construcción visuo-espacial en el SW [10]. Sin embargo, estos hallazgos no fueron confirmados en otras dos familias con la misma deleción, quienes no presentaban ningún déficit cognitivo en exámenes repetidos [11]. Por otro lado, se han descrito dos pacientes con deleciones que incluyen la región entre *FZD9* y *EIF4H* quienes presentan el fenotipo cardiovascular sin otros rasgos patológicos significativos [9,11]. Estos datos indican que los genes incluidos en este intervalo no deben contribuir de manera relevante al cuadro clínico. Sin embargo, la deleción de un fragmento desde *ELN* a *GTF2I* en dos casos con fenotipo completo, sugiere que los genes más importantes para la función cognitiva se encuentran en el intervalo que incluye *CYLN2*, *GTF2IRD1* y *GTF2I* [12]. Una deleción similar que no incluye *GTF2I* se ha encontrado en todos los miembros afectados de una familia con estenosis aórtica supra valvular, ausencia de rasgos faciales, déficits cognitivos menores (Cociente Intelectual de 80-85) con integración visuo-espacial normal y personalidad gregaria y desinhibida [13]. Comparando esta familia con los dos casos anteriores se deduce que la deleción de *GTF2I* puede contribuir a algunos rasgos craneofaciales, al déficit intelectual y a la construcción visuo-espacial. Sin embargo, estas conclusiones son todavía algo preliminares y se requieren más estudios.

Variabilidad fenotípica

Existe un amplio rango de variabilidad clínica entre las distintas personas con SW, tanto en los problemas médicos como en la capacidad intelectual, incluso entre casos existentes en una misma familia [14]. La base molecular de esta variabilidad es desconocida, aunque se considera de alguna manera típica de cuadros causados por deleciones de este tipo. Entre los factores que pueden contribuir a esta expresión variable del fenotipo se incluyen las influencias ambientales, las variantes genéticas en el alelo no delecionado, los efectos sutiles de impronta y el acervo genético.

Mecanismo mutational

El hecho de que la mayoría de los casos de SW son esporádicos indica una tasa elevada de formación de deleciones *de novo*, $\sim 0.5 \times 10^{-4}$ por gameto y por generación. Las deleciones ocurren con frecuencia similar en el cromosoma procedente del padre o de la madre e independientemente de la edad de los mismos. Son el resultado de recombinación entre ambos cromosomas 7 homólogos (66%) o entre secuencias de un mismo cromosoma 7 (33%) [15]. La consecución del mapa de la región ha sido difícil debido a la existencia de unas secuencias repetidas que han sido caracterizadas recientemente [2,16]. La región del SW está flanqueada por un ordenamiento complejo de duplicaciones segmentarias específicas del cromosoma 7, compuestas de varios bloques de ~ 100 kb (A, B y C en la figura 2). La mayoría de los cromosomas asociados con el SW se rompen y unen en dos bloques concretos (Bc/Bm), los cuales están en tándem, comparten $>99.5\%$ de identidad de secuencia y contienen tres genes (*GTF2I*, *NCF1* y *GTF2IL*) en la posición medial [17]. Por tanto, parece que existe un mecanismo común que explica la tasa mutacional elevada. Esto es, las deleciones de SW se producen por un alineamiento erróneo (inter- o intra-cromosómico) entre las citadas duplicaciones segmentarias y recombinación desigual subsiguiente. Una minoría de casos ($\sim 5\%$) presentan una deleción algo más grande (~ 1.7 Mb), probablemente por recombinación entre bloques Ac/Am, sin que aparentemente varíe la repercusión clínica.

Datos recientes demuestran la existencia de al menos dos tipos de reordenamientos en 7q11.23 en algunos padres de personas con SW: 1) \sim un 33% presentan un cromosoma 7 con una inversión del intervalo entre las duplicaciones segmentarias [18]; 2) \sim un 5% tienen un cromosoma 7 con un número diferente de duplicaciones segmentarias (dos o cuatro, en lugar del número normal de tres). El hecho de tener dos cromosomas diferentes para dicha región (heterocigosis) podría suponer un riesgo adicional para el apareamiento anormal en la división celular meiótica. Sin embargo, la frecuencia estimada de recombinación en una región malalineada de ~ 100 kb sería de 1:1000, algo mayor que la tasa de producción de SW ($\sim 1:20000$) pero no demasiado importante. Esta podría ser la explicación por la que el riesgo de recurrencia no parece estar aumentado en familias en las que se ha dado un caso de SW, a pesar de este hallazgo de posibles variantes genéticas de "mayor predisposición teórica". Todavía es necesario hacer más estudios a nivel de población pero, mientras tanto, no hay todavía ningún dato que indique un riesgo de recurrencia importante ni existe un análisis que permita predecir dicho riesgo.

Se ha visto evidencia de la existencia de duplicaciones segmentarias de esta región en el genoma de otros primates pero no en otros mamíferos no primates [16,19]. Estos estudios sugieren que la complejidad de la región cromosómica 7q11.23 en los seres humanos se debe a una evolución reciente en los primates mediante reordenamientos diversos que han dado lugar a las duplicaciones segmentarias.

Direcciones futuras

La tarea de determinar el gen o la combinación de genes que son responsables de las características neurocognitivas del SW está siendo difícil. Es muy probable que el fenotipo se deba a los efectos aditivos de dos o más genes del intervalo delecionado, y los datos actuales sugieren que *CYLN2* y *GTF2I* están entre los candidatos más importantes.

Se deben establecer métodos de estudio uniformes y estándar para evaluar bien el cuadro clínico, y dichos métodos deben ser utilizados por todos los médicos e investigadores. La aplicación de estudios estandarizados en personas con SW y en los casos con fenotipos parciales y lesiones moleculares diferentes a la deleción común puede permitir establecer con mayor certeza correlaciones clínico-moleculares.

Los estudios futuros también se deben centrar en la caracterización funcional de cada uno de los productos proteicos de los genes delecionados, incluyendo la determinación de su localización subcelular y de la vía en la que actúan. Algunos de los genes codifican factores de transcripción que son reguladores

de otros genes. Por tanto, los estudios globales de expresión génica en tejidos, de manera comparativa entre pacientes, pueden ser de utilidad para establecer las vías funcionales afectadas en el SW.

Finalmente, la respuesta a muchas de las preguntas sin resolver relativas al SW y los mecanismos patogénicos de la enfermedad puede depender de la experimentación animal. Se deben generar ratones con la misma lesión genética que el SW y otros con lesiones de cada uno de los genes candidatos, los cuales deben ser estudiados en su desarrollo y comportamiento. La identificación final de los genes cuya haploinsuficiencia causa las características cognitivas y de personalidad del SW es de la máxima importancia para entender mejor los problemas y plantear posibles aproximaciones terapéuticas específicas.

Referencias seleccionadas

1. Pérez Jurado LA, Peoples R, Wang YK et al. Molecular definition of the chromosome 7 deletion in Williams syndrome and parent-of-origin effects on growth. *Am J Hum Genet* 1996;59:618-25.
2. Peoples R, Franke Y, Wang YK et al. A physical map, including a BAC/PAC clone contig, of the Williams-Beuren syndrome deletion region at 7q11.23. *Am J Hum Genet* 2000;66:47-68.
3. Francke U. Williams syndrome: genes and mechanisms. *Hum Mol Genet* 1999;8:1947-54.
4. Magano LF, Bayés M, Flores R, Pérez Jurado LA. Towards a complete transcription map of the Williams-Beuren syndrome deletion region. *Eur J Hum Genet* 2001;9(Suppl):P0744.
5. Ewart AK, Morris CA, Atkinson D et al. Hemizygosity at the elastin locus in a developmental disorder, Williams syndrome. *Nature Genet* 1993;5:11-6.
6. Chowdhury T, Reardon W. Elastin mutation and cardiac disease. *Pediatr Cardiol* 1999;20:103-7.
7. Li DY, Brooke B, Davis EC et al. Elastin is an essential determinant of arterial morphogenesis. *Nature* 1998;393:276-80.
8. Li DY, Faury G, Taylor DG et al. Novel arterial pathology in mice and humans hemizygous for elastin. *J Clin Invest* 1998;102:1783-7.
9. Korenberg JR, Chen XN, Hirota H et al. Genome structure and cognitive map of Williams syndrome. *J Cogn Neurosci* 2000;12(Suppl 1):89-107.
10. Frangiskakis JM, Ewart AK, Morris CA et al. LIM-kinase 1 hemizygosity implicated in impaired visuospatial cognitive cognition. *Cell* 1996;86:59-69.
11. Tassabehji M, Metcalfe K, Karmiloff-Smith A et al. Williams syndrome: use of chromosomal microdeletions as a tool to dissect cognitive and physical phenotypes. *Am J Hum Genet* 1999;64:118-25.
12. Botta A, Novelli G, Mari A et al. Detection of an atypical 7q11.23 deletion in Williams syndrome patients which does not include the STX1A and FZD3 genes. *J Med Genet* 1999;36:478-80.
13. Del Campo M, Magano LF, Martínez Iglesias J, Pérez Jurado LA. Partial features of Williams-Beuren syndrome in a family with a novel 700 kb 7q11.23 deletion. *Eur J Hum Genet* 2001;9(Suppl):C056.
14. Pankau R, Siebert R, Kautza M et al. Familial Williams-Beuren syndrome showing varying clinical expression. *Am J Med Genet* 2001;98(4):324-9.
15. Dutly F, Schinzel A. Unequal interchromosomal rearrangements may result in elastin gene deletions causing the Williams-Beuren syndrome. *Hum Mol Genet* 1996;5:1893-98.
16. Valero MC, de Luis O, Cruces J, Pérez Jurado LA. Fine-scale comparative mapping of the human 7q11.23 region and the orthologous region on mouse chromosome 5G: the low-copy repeats that flank the Williams-Beuren syndrome deletion arose at breakpoint sites of an evolutionary inversion(s). *Genomics* 2000;69:1-13.
17. Bayés M, de Luis O, Magano LF, Pérez Jurado LA. Fine mapping of deletion breakpoints in Williams-Beuren syndrome patients. *Eur J Hum Genet* 2001;9(Suppl):P1446.
18. Osborne L, Li M, Pober B et al. A 1.5 million base-pair inversion polymorphism in families with Williams-Beuren syndrome. *Nature Genetics* 2001, in press.
19. DeSilva U, Massa H, Trask BJ, Green ED. Comparative mapping of the region of human chromosome 7 deleted in Williams syndrome. *Genome Res* 1999;9:428-36.