

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE MEDICINA

DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO E INVESTIGACIÓN

SECRETARIA DE SALUD

INSTITUTO NACIONAL DE PEDIATRÍA

**DELECIÓN DEL CROMOSOMA Yq11qter: REPORTE DE UN CASO Y REVISIÓN
DE LA LITERATURA.**

TRABAJO DE TESIS QUE PRESENTA

DRA. BARBARA ASCH DAICH

PARA OBTENER EL DIPLOMA DE ESPECIALISTA EN

GENETICA MÉDICA

TUTORA DE TESIS

Dra. Ariadna González del Ángel

MÉXICO, D. F.

2006



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

**DELECIÓN DEL CROMOSOMA Yq11qter: REPORTE DE UN CASO Y REVISIÓN
DE LA LITERATURA.**

**DR. JOSE N. REYNES MANZUR
DIRECTOR DE ENSEÑANZA**

**DRA. MIRELLA VÁZQUEZ RIVERA
JEFE DEL DEPARTAMENTO DE PRE Y POSGRADO**

**DRA. VICTORIA DEL CASTILLO RUIZ
PROFESOR TITULAR DEL CURSO DE GENÉTICA MÉDICA**

**DRA. ARIADNA GONZALEZ DEL ANGEL
TUTOR DEL TRABAJO DE TESIS**

AGRADECIMIENTOS

Me gustaría dedicar este trabajo a todos los pacientes y sus familias que han sido parte de mi formación como médico y como genetista. Gracias!!

Agradezco a mis jefes y mentores de la especialidad: Dra. Del Castillo, Esther, Camilo, Ariadna, a todos mis maestros de los laboratorios de citogenética, cultivo de tejidos, biología molecular y a todos los del INP. Gracias por todo su trabajo y enseñanza. La residencia fue una experiencia muy rica y grata para mi y nunca los olvidare. Particularmente a Ari y Miguel Ángel por su ayuda en este trabajo final.

A los residentes con quien compartí estos tres años de mi vida: Gina, Camilo, Roberto, Chio, Paola, Susie, David, y en especial a mi amiguita Emiy. Siempre los tendré cerca de mi corazón, gracias por TODO lo que me han enseñado y compartido, los adoro.

A mi familia: Mis papas, George, Marcie, Vichi y Max; gracias por creer en mi, inspirarme y motivarme siempre.

Y por fin a mi esposo David, gracias por tu amor, paciencia y apoyo infinito. No lo hubiera podido hacer sin ti. Eres lo máximo y soy la más afortunada de haberte encontrado.

INDICE

• INTRODUCCIÓN.....	5
• ANTECEDENTES.....	8
• PRESENTACIÓN DEL CASO – CUADRO CLÍNICO.....	15
• ESTUDIOS DE LABORATORIO Y GABINETE.....	17
• DISCUSIÓN.....	18
• ANEXOS.....	21
• TABLAS.....	24
• FIGURAS.....	28
• BIBLIOGRAFÍA.....	35

INTRODUCCION

El cromosoma Y es el más pequeño de los cromosomas en el humano y se caracteriza por ser acrocéntrico, dado que su centrómero está localizado en uno de los extremos del cromosoma, dividiéndolo en dos; un brazo corto (Yp) y un brazo largo (Yq).

El cromosoma Y es uno de los dos sexo cromosomas en el humano, el cual es específico del sexo masculino y se hereda del padre al hijo. La secuencia de este cromosoma fue completada en mayo del 2003, por lo que ahora se sabe que contiene 57 millones de pares de bases, de los cuales la región eucromática contiene 23 Mb con 78 genes que codifican 27 diferentes proteínas y representa entre 1.5 y 2 por ciento del DNA genómico (Skaletsky H, *et al*, 2003). Como sólo los varones presentan el cromosoma Y, la función de varios de sus genes está relacionada con la determinación y diferenciación sexual masculina, en particular por la presencia del gen *SRY* necesario para el desarrollo testicular (Kent-First M, 2000).

El cromosoma Y es diferente a otros cromosomas porque contiene pocos genes, no recombina en la totalidad de su longitud, tiene una región grande de heterocromatina y tiene muchas secuencias repetitivas de DNA (Bachtrog, 2001). Además se ha observado que tiene pocos genes activos, muchos de los cuales como previamente se mencionó codifican proteínas que determinan el sexo masculino o están involucrados en la reproducción (Graves, 2005) (**figura y tabla 1**).

El 95% del cromosoma Y es esencialmente haploide y está compuesto de una región no recombinante de Y (NRY), la cual es rica en secuencias repetitivas incluyendo microsatélites y secuencias palindrómicas altamente polimórficas y sólo es en las regiones pseudoautosómicas (PAR) donde se aparean con el cromosoma X durante la meiosis, las cuales están localizadas en los dos extremos o telómeros del cromosoma Y (PAR 1 y 2) (Miller O, *et al*, 2001). La disminución de la recombinación en regiones pseudoautosómicas en Xp y Yp se asocia con nodisyunción del X ó Y.

Desde hace más de 75 años, se han realizado investigaciones en el cromosoma Y, para confirmar su papel en la determinación testicular. El gen determinante de testículo, es requerido para la diferenciación de las gónadas primordiales durante el desarrollo embrionario, el cual se denomina *SRY* localizado en la parte proximal de Yp (Yp11.3), y cuya expresión se realiza en la etapa temprana del desarrollo sexual masculino, en la séptima semana del periodo embrionario (Kent-First M, 2000). Adicionalmente, otros genes en el cromosoma Y son necesarios para el desarrollo normal de la espermatogénesis (Kostiner DR, *et al*, 1998). Pérdida o inactivación del gen *SRY* puede ocasionar fenotipos femeninos XY; mientras que si el gen *SRY* se inserta en el cromosoma X puede condicionar un fenotipo masculino, lo que se conoce como varones XX.

La función más importante de los genes en el cromosoma Y es la determinación sexual, pero también son esenciales para la fertilidad masculina. La infertilidad masculina está relacionada a diferentes factores, uno de ellos lo constituyen las deleciones en el cromosoma Y, estas pueden producir anomalías o disminución

en la cantidad de espermatozoides. Aproximadamente un 10-12% de hombres con azoospermia u oligospermia presentan microdeleciones en el brazo largo del cromosoma Y, observables sólo mediante estudios de biología molecular de DNA (Pryor, JL, *et al.* 1997).

El cromosoma Y se ha dividido en diferentes intervalos, los cuales a su vez se han subdividido (A, B, C, etc.). En 1992, se construyó un mapa de 43 intervalos del cromosoma Y humano, desde 1A hasta 7 (Vollrath D, *et al.*, 1992) (**figura 2**). Los genes críticos para la espermatogénesis se localizan entre la región 5 y 6 de Yq11.23. Esta región se llama AZF (factor de azoospermia). Los genes AZF codifican proteínas de unión de RNA y están involucrados en la regulación de expresión génica, metabolismo de RNA, transporte al citoplasma y splicing de mRNA (Dada R, *et al.*, 2004). AZF contiene 4 regiones: *AZFa*, *AZFb* y *AZFc*, *AZFd*, y deleciones en estas secuencias se asocian con fallas en espermatogénesis. El locus *AZFa* se localiza en Yq11.21 y deleciones de esta región se asocian a azoospermia y al síndrome de células de Sertoli (SCOS), que consiste en ausencia de células germinales en túbulos seminíferos. Deleción de la región *AZFb* se asocia a azoospermia o oligospermia. Deleción de la región *AZFc* se asocia a azoospermia, oligospermia y producción insuficiente de espermatozoides maduros.

ANTECEDENTES

Deleciones del brazo largo del cromosoma Y son raramente evidenciables por estudios de citogenética convencional. La frecuencia de estas deleciones no esta bien descrita y varia dependiendo del estudio. En un reporte de Nielsen y Wolhort de 1991, en 17,872 recién nacidos vivos masculinos, ninguno presento una deleción del cromosoma Y, pero según Hamerton *et.al.* (1975) uno de cada 1000 recién nacidos vivos masculinos presentan deleción del cromosoma Y. Pocos reportes de hombres con esta alteración citogenética, han tratado de correlacionar la deleción con el fenotipo, por lo que la descripción de las manifestaciones clínicas relacionadas a estos varones afectados no esta detallada. El espectro clínico de los pacientes publicados varía desde un fenotipo masculino normal hasta azoospermia o talla baja, con retraso mental y presencia de varias malformaciones congénitas, como genitales ambiguos o cardiopatía. Las dismorfias menores reportados más frecuente en la deleción del brazo largo del cromosoma Y son mentón y boca pequeños, paladar alto o hendido, fisuras palpebrales hacia abajo, puente nasal alto y pabellones auriculares malformados (Salo P, *et al.*, 1995).

Diversos autores han reportado la falta de correlación entre la longitud del cromosoma Y deletado y los efectos fenotípicos. Cromosomas Y's cortos se han encontrado en hombres normales y fértiles así como en varones infértiles. Deleciones grandes del cromosoma Y se han relacionado a casos de intersexo, síndrome de Turner, pacientes con retraso mental y varones normales. Existen múltiples reportes de pacientes con deleción Yq con sólo alteración de fertilidad

(Chandley AC, *et al.*, 1998), (Duell T, *et al.*, 1998), (Kent-First, M.G. *et al.*, 1999), (Neu RL, *et al.*, 1973), (Pagani R, *et al.*, 2002), (Prior JL, *et al.*, 1997).

El primer reporte de una deleción del cromosoma Y se publico en 1961 el cual se trataba de una niña con clitoromegalia con cariotipo 45,X + fragmento de origen no especificado, que se concluyó ser parte del cromosoma Y (Vahauru, 1961). En el mismo año, Muldal y Ockey describieron un paciente con hipotonía y retraso mental. Ellos sugirieron que deleciones del Yq resultan en fenotipos que pueden variar entre un hombre fértil y una mujer con síndrome de Turner. También especularon que los genes determinantes del sexo masculino estaban situados cerca del centrómero, por el fenotipo masculino de su paciente.

En 1966, Nakagome *et al.* publicaron un caso de un paciente con hipotonía muscular, retraso mental y otras anomalías congénitas. Sus dismorfias incluían puente nasal deprimido, braquicefalia y hernia inguinal unilateral. El cariotipo se reportó 45,X + un fragmento pequeño. Por el tamaño del cromosoma y el fenotipo masculino del paciente se concluyo que el cromosoma marcador era el cromosoma Y deletado. También a este paciente se le realizo el estudio citogenético en medula ósea, observando el mismo cromosoma pequeño. Los cariotipos de los padres, se reportaron normales. Estos autores concluyeron que el paciente presentaba un set completo de autosomas, un X normal y un fragmento céntrico del Y. Su hipótesis fue que el cromosoma Y era probablemente no funcional excepto en la porción pequeña cerca del centrómero donde se localizan los genes determinantes del fenotipo masculino.

En 1972, Meisner e Inhorn publicaron un hombre de 36 años con retraso mental importante (coeficiente intelectual 51), criptorquidia bilateral, hemangiomas en cuello y cuero cabelludo, clinodactilia y otras dismorfias menores (manchas de Brushfield en iris, anteversión de pabellones auriculares, implantación baja del cabello y braquidactilia). Al realizar el estudio citogenético se visualizaron 46 cromosomas, todos normales con la excepción del Y el cual se observó metacéntrico y pequeño. Al estudiar al hermano mayor de 43 años, se encontró un Y deletado similar, pero él tenía un coeficiente intelectual normal y era fértil, por ser padre de 4 hijos normales. No hubo muestra del padre del paciente. Por lo observado en los dos hermanos, los autores concluyeron que el brazo largo del Y no era importante para el desarrollo del fenotipo masculino. También consideraron que la pérdida del material cromosómico podría no explicar la presencia del retraso mental en el caso índice dado que el hermano con la misma deleción no lo presentaba. Sugirieron que en el cromosoma Y existen factores genéticos necesarios para la fertilidad y una talla normal localizadas en Yp o Yq cerca del centrómero, y que la porción distal de Yq no incluye genes para el desarrollo normal del fenotipo masculino. En este caso, los autores no pudieron descartar que la deleción del brazo largo de Y se tratara en realidad de un isocromosoma de Yp, ni tampoco se definieron los puntos de ruptura con el cariotipo convencional.

En 1972, Telfer *et al.* publicó un caso de un niño con talla baja y coeficiente intelectual normal, con un cariotipo con pérdida del brazo largo del Y sin heterocromatina. Confirmaron que la porción del Y perdido no se translocó a otro

cromosoma, utilizando bandas Q (quinacrina), dado que no se observó la porción fluorescente de Yq en otro cromosoma. Estos autores tampoco descartaron la posibilidad de un isocromosoma Yp al no poder definir puntos de ruptura, pero concluyeron que era más factible por el fenotipo del paciente que fuera una delección en Yq.

En 1973, se publicó por primera vez por Neu *et al.* un varón 46,XYq- con azoospermia, el cual era un hombre de 20 años que fue enviado al servicio de Genética por sospecha de síndrome de Klinefelter. El paciente tenía talla normal con obesidad, diabetes juvenil, pero sin datos de ginecomastia y con niveles de hormona estimulante de folículos (FSH) y luteinizante (LH) normales. Se realizó espermatobioscopia directa en dos ocasiones, sin encontrar espermatozoides en ninguno de las dos muestras. Los cariotipos de ambos padres fueron normales. Los autores consideraron que el Y anormal no parecía ser un isocromosoma Yp porque no era metacéntrico y concluyeron que podría ser coincidental la presencia del cariotipo 46,XYq- sin relación con el fenotipo azoospermico.

En 1973, Langmaid y Lawrence describieron un hombre de 23 años, con talla y peso bajos, espina bífida e inteligencia normal. Al estudiar su cariotipo observaron 46 cromosomas incluyendo un Y deletado. El padre tenía un cromosoma Y normal.

En 1977, se describió un caso de un hombre con delección Yq, azoospermia y talla baja por Yunis *et al.* Este caso apoyó que la existencia de factores determinantes de talla y fertilidad se encuentran en el brazo largo del cromosoma Y en la banda 11.

Por lo que, sugirieron que deleciones grandes de Yq se deben de acompañar de esterilidad y talla baja.

En 1981, se publico un caso de un niño con livedo reticularis, microcefalia, otras dismorfias y retraso mental profundo por Purdoch *et al.* El cariotipo reporto 46,X,del(Y)(q11). A los 8 años el niño presentaba talla por debajo de la percentila 3, no controlaba esfínteres y sólo podía caminar unos pasos sin caerse. Sus dismorfias incluían ptosis, epicanto, nariz pequeña, diastasis de rectos, hipoplasia ungueal y limitación para la supinación. Los estudios cromosómicos de sus padres se reportaron normales, con un cromosoma Y normal en el padre. El paciente murió a los 9 años 8 meses por complicaciones de bronconeumonía y en su autopsia se encontró un segmento agangliónico en colon distal.

Kosztolányi y Trixler en 1983, describieron un paciente de 33 años con talla baja, retraso mental, autismo y alteraciones en conducta. Los estudios de laboratorio mostraron niveles de testosterona baja, LH y prolactina alta, y su biopsia testicular revelo conductos seminíferos atróficos sin presencia de espermatogénesis. El cariotipo se reporto 46,X,del(Y)(q11). El cromosoma Y del padre se reporto normal. Los autores consideraron que parte de euromatina se deleteo junto con la heterocromatina y que genes que promueven el crecimiento y espermatogénesis deben de localizarse cercanos al segmento deletado en Yq. El paciente tuvo hipoxia al nacimiento que requirió maniobras de resucitación y por lo tanto no se pudo establecer si su retraso y alteraciones en conducta se debían a la deleción cromosómica o por los eventos adversos al nacer.

En 1990, Skare *et al.* reportaron un caso de un paciente con azoospermia, talla baja y micropene. El paciente de 21 años presento dismorfias menores incluyendo paladar alto y angosto, obesidad troncal, pie cavo, desviación lateral de falanges medias y distales de ambas manos. Los niveles hormonales se encontraron normales y su análisis de semen reporto azoospermia. El cariotipo se reportó 46,XYq-. Para confirmar los resultados citogenéticos se realizo hibridación de DNA utilizando Southern Blot, utilizando diversas sondas de DNA (DYS11 y DYS1), con lo cual se identificó la presencia de Yp y la región de Y centromérica, pero ausencia de los fragmentos de intervalos 5, 6 y 7 que pertenecen a Yq11-12.

Lahn *et al.*, en 1994 reportaron 3 masculinos con retraso mental severo y pérdida del brazo largo del cromosoma Y (cariotipo de 46,XYq-). Por marcadores polimórficos y por FISH (hibridación con fluorescencia in situ) se estableció que una porción de Xq se translocó al Yq, lo cual probablemente ocurrió por una recombinación no reciproca en la línea germinal paterna. El cariotipo que se definió fue 46,X,der(Y)t(X;Y)(q28;q11) lo que indico pérdida de material genético del cromosoma Y con ganancia de genes de Xq (midiendo aproximadamente 5-10Mb). Sugirieron que esta región del X puede contener múltiples genes activos que condicionan una disomía parcial del X, lo cual podría explicar el fenotipo severo en sus pacientes.

Por último, Salo *et al.* en 1995, reportaron 9 varones con deleciones del brazo largo del cromosoma Y. En todos los casos descartaron mosaicismo cromosómico, otros rearrreglos cromosómicos y alteraciones del cromosoma Y paterno. Los puntos de

ruptura se establecieron a través del análisis de STSs (secuencias simples en tandem) mediante la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) utilizando marcadores sDF-2, sKK-4 (específicos del X) y sDF-1, sKK-1 (de regiones pseudoautosómicas). En todos los casos se estableció que sólo heredaron un alelo para cada marcador. Cinco de los 9 pacientes presentaron retraso mental, uno presento talla baja, dos presentaron alteraciones de genitales y dos acudieron por problemas de infertilidad con azoospermia (**Tabla 2**). Sólo un paciente presento cardiopatía. Las dismorfias faciales comunes eran: mentón pequeño, boca pequeña, paladar alto, fisuras palpebrales hacia abajo, puente nasal alto, pabellones auriculares displásicos. Se presento obesidad troncal en 3 pacientes. Los autores concluyeron que las consecuencia clínicas son variables ante la presencia de deleciones del cromosoma Y.

Se presenta un caso clínico de un paciente con deleción Yq11-Yqter. Es el primero que se reporta en el INP y en México.

PRESENTACIÓN DEL CASO CLÍNICO

Presentamos un masculino de 2 años 3 meses, madre de 29 años, padre de 36 años, sanos no consanguíneos, G2/2, hermano de 10 años sano, sin antecedentes de abortos. Embarazo normoevolutivo de 41 semanas de gestación, control prenatal regular con realización de un ultrasonido reportado normal, la madre niega exposición prenatal a teratógenos, toxicomanías o infectocontagiosos. Parto eutócico, atendido en centro de salud sin anestesia. Peso 3.2 kg, se desconoce talla y Apgar, pero refiere respiración inmediata, se niega cianosis e ictericia. Egresado con la madre como sano a las 48 horas. Se refiere en su desarrollo psicomotor: fija mirada 4 meses, sonrisa social 8 meses, sostén cefálico 9 meses, sedestación 1 año 8 mes, monosílabos 1 año 8 meses, gateo 2 años 1 mes, a los 2 años 2 meses inicia bipedestación y empieza a comer solo. El padecimiento actual inicia a los 6 meses cuando la madre nota retraso psicomotor. Acude a rehabilitación desde octubre del 2003 con mejoría. A la exploración física: talla 84 cm (pc <3), peso 9 kg (<pc 3), PC (<pc 3). Braquicefalia, con suturas imbrincadas, fisuras palpebrales hacia abajo con la fisura izquierda más pequeña que la derecha (**figura 3**), cejas pobladas, nariz bulbosa y ancha, con narinas antevertidas, puente nasal no es alto, labios gruesos con paladar alto (**figura 4**) y úvula integra, filtrum plano, mejillas prominentes, boca grande, mentón pequeño, pabellones auriculares con rotación posterior con surcos en región anterior así como posterior de lóbulos auriculares y pits retroauriculares (**figura 5**), tórax normolíneo, ruidos cardiacos normales, abdomen con hernia umbilical, sin visceromegalias, genitales masculinos normales, ambos testículos en bolsa escrotal y meato uretral en punta del pene (**figura 6**), dorso íntegro, hipotonía

generalizada, extremidades superiores con uñas hipoplásicas, clinodactilia del 5° dedo bilateral en ambas manos, desviación del primer dedo del pie hacia fuera, manos y pies con pliegues aberrantes (**figura 7**).

ESTUDIOS DE LABORATORIO Y GABINETE

Se solicitó estudio citogenético de sangre periférica al paciente por presentar retraso psicomotor y dismorfias.

El cultivo de sangre periférica se realizó de acuerdo a la metodología descrita en **anexo 1**. El cariotipo se reportó: 46, XY, del(Y)(q11qter) (**figura 8**). El cariotipo del padre fue normal (**figura 9**). Se realizó análisis de 20 secuencias STS localizadas en Yq así como en Yp (SRY y ZFY/ZFX) evidenciando la presencia de sólo las secuencias localizadas en Yp (**figura 10 y 11**) de acuerdo a la metodología descrita en **anexo 2**. La muestra reveló integridad de los productos de PCR correspondientes a los loci SRY y ZFX/ZFY, así como el control interno del cromosoma X SMCX. Los resultados obtenidos indican que el paciente muestra una delección completa de las regiones génicas controladoras de la espermatogénesis de Yq (AZFa, AZFb, AZFc y AZFd). Lo anterior se encuentra acorde con los hallazgos citogenéticos del paciente. Para descartar otras causas de retraso mental en nuestro paciente se realizó TAC cerebral y tamiz metabólico los cuales fueron normales.

DISCUSIÓN

La prevalencia de retraso mental es de 2.3-3% en la población general (Lao-Villadóniga, 2001). Se acepta como definición, de acuerdo a criterios establecidos por la Asociación Americana de retraso mental: el funcionamiento intelectual por debajo del promedio de la población general (Curry, *et al.*, 1997). Dado el beneficio en el individuo con retraso mental, así como para la familia, el equipo médico tratante a través de una evaluación clínica y de laboratorio debe tratar de establecer la causa para poder dar un consejo genético certero, pronóstico, riesgos de recurrencia y manejo médico.

Las causas de retraso mental son diversas y en nuestro paciente se concluyó por el árbol genealógico que era un caso único y que durante el embarazo no hubo exposición a teratógenos ni otros efectos adversos maternos que pudieran explicar el retraso mental.

Dado que el 1-5% de las causas de retraso mental se deben a causas metabólicas (Curry *et al.*, 1997) solicitamos en nuestro paciente un tamiz metabólico, el cual se reporto normal. Se solicito una TAC cerebral descartando alguna anomalía estructural cerebral, dado que del 7-17% los casos de retraso mental son explicados por alteraciones estructurales del sistema nervioso central (Curry *et al.*, 1997).

Finalmente, dado que del 4 al 28% de los pacientes con retraso mental y dismorfias se pueden explicar por anomalías cromosómicas (Curry *et al.*, 1997), se solicito el

cariotipo en nuestro paciente con el cual se evidenció una deleción Yq11-Yqter. Hay aproximadamente 20 casos reportados en la literatura con deleción Yq11-Yqter, donde la expresión clínica es muy variable, ya que se describe desde sólo azoospermia hasta aquellos con fenotipo más severo que incluye retraso mental leve, genitales ambiguos, cardiopatía y paladar hendido. De las dismorfias menores que se reportan con mayor frecuencia, se encuentran mentón y boca pequeños, paladar alto, fisuras palpebrales hacia abajo, puente nasal alto y pabellones auriculares malformados, así como obesidad troncal (Salo, *et al.*, 1995). Nuestro paciente comparte algunas dismorfias con lo reportado en la literatura pero también presenta otras no descritas como son los surcos en lóbulos auriculares, pits retroauriculares, aberrantes palmares y RPM importante.

El fenotipo de los pacientes con deleción del Y se refiere que no correlaciona con el tamaño de la alteración ya que pacientes con deleciones muy pequeñas (microdeleciones sólo detectables por biología molecular) pueden tener un fenotipo severo o bien aquellos con deleciones grandes (todo el brazo largo del Y) pueden sólo manifestar azoospermia y/o dismorfias faciales y problemas del desarrollo (Salo, *et al.*, 1995). Pérdida de Yq12 no se ha asociado con un fenotipo característico. Deleciones que involucran Yq11 a veces, en ocasiones, resultan en fenotipos similares, incluyendo dismorfias y retraso mental (Skare *et al.*, 1990).

Dado que el fenotipo de los pacientes no puede ser explicado sólo por el tamaño de la deleción, se propone que algunos pacientes tengan otras alteraciones cromosómicas, como translocaciones Xq;Yq o translocaciones Y;autosoma no

detectadas en los estudios citogenéticos convencionales (Salo, *et al.*, 1995). Algunos autores han demostrado translocaciones originadas por errores de recombinación paterna entre Xq-Yq en pacientes con cariotipo 46,XYq- (Lahn *et al.*, 1994, Salo *et al.*, 1995), resultando en disomías parciales del X con pérdida de material genético del Y. Aunque en nuestro paciente no se corroboró ninguna translocación entre X y Y, existe la posibilidad de que un evento de este tipo sea responsable de su fenotipo (**figura 12**). Otra posible explicación sería que durante la recombinación del X y Y se haya perdido información del X, produciendo una deleción parcial del X y Y.

Las consecuencias clínicas de la deleción Yq son variables y esta expresión variable crea disminución en la certeza al brindar el consejo genético. Se concluye que las consecuencias clínicas de la deleción Yq aún no están bien establecidas, por lo que es importante describir más casos.

ANEXO 1: CARIOTIPO CON BANDAS G

Técnica de siembra y cultivo de linfocitos de sangre periférica para estudio citogenético.

1. Se colocaron 2 tubos con 10 mL de medio McCoy y 0.2 mL fitohemaglutinina con pH 7.4-7.6. Este estimula la división celular de la fracción de células T de los linfocitos. Es una glicoproteína que se une a membranas celulares y altera las propiedades de estas, cambiando su permeabilidad y aumenta la síntesis macromolecular en linfocitos.
2. Se sembraron 10 gotas de sangre periférica en cada tubo con medio.
3. Se incubaron los tubos a 37°C durante 72 horas.
4. Al tercer día se realizó la cosecha de los cultivos de la siguiente forma:
 1. Se aplicó 0.03 mL de colcemida a cada tubo de 10 mL con medio McCoy. Se mezclaron y se incubaron por 45 minutos a 37°C.
 2. Se centrifugaron a 800 revoluciones por minuto por 8 minutos.
 3. Se les quitó el sobrenadante dejando poco medio.
 4. Se resuspendió el botón celular en 5 mL de solución hipotónica (0.075 M KCl), y se incubaron de 10 a 15 minutos en baño a 37°C.
 5. Se agregaron 5 gotas de fijador a cada tubo y se mezclaron invirtiendo los tubos una o dos veces. Se centrifugaron a 800 rpm por 8 minutos.
 6. Se les quitó el sobrenadante y se resuspendieron los botones en 5 mL de fijador y se dejaron en temperatura ambiente por 10 minutos.
 7. Se repitieron los pasos 1-6 en 3 ocasiones.

8. Después de la última centrifugación, se suspendieron las células en 0,5 a 1 mL de medio McCoy (produciendo una suspensión opaca)
5. Preparación de laminillas: Se colocaron 3 gotas en cada laminilla. Se secaron y se observaron a 100x en microscopio para verificar la presencia de metafases.

Después de la preparación de las laminillas se realizó el bandeo de estas por la técnica de tinción con Giemsa (Bandas GTG), mediante el siguiente procedimiento:

1. Las preparaciones de las laminillas secas se incubaron a 60°C en horno.
2. Las laminillas se trataron con solución de tripsina (0.05%) por 10 segundos.
3. Se lavaron las laminillas en medio frío: Dulbecco's PBS-CMF (5°C)
4. Se tiñeron las laminillas con Giemsa por treinta segundos y con tinción Wright por 30 segundos.
5. Se lavaron con agua destilada y se dejaron secar a temperatura ambiente.
6. Se examinaron con el objetivo de 100X al microscopio de luz para establecer el patrón de bandeo.

ANEXO 2: ESTUDIO MOLECULAR DE MICRODELECCIONES DEL CROMOSOMA Y (Yq)

A partir de leucocitos totales de sangre periférica y mediante extracción fenol-cloroformo con precipitación salina, se obtuvo DNA genómico total del paciente. El DNA aislado fue sometido al análisis de deleciones crípticas de Yq mediante 5 reacciones de PCR múltiple (A a E) para un total de 19 secuencias tipo STS representativas de las regiones AZFa, AZFb, AZFc y AZFd (Y Chromosome Deletion Detection System™, Ver. 2.0, Promega Corp., Madison WI, USA), además de la amplificación de un segmento del gen SRY. En cada una de las reacciones se utilizó un control interno, el cual consistió en la coamplificación de un segmento del gen *SMCX* (ligado al cromosoma X, multiplex A al D) o de los genes pseudoautosómicos *ZFY/ZFX* (multiplex E). Los productos de PCR de ambos loci control, se detectan en complementos cromosómicos 46, XX y 46, XY. En el análisis se incluyó un DNA control proveniente de un sujeto masculino sano y un control blanco (sin DNA). Los 19 fragmentos amplificados representativos de las regiones AZFa, AZFb, AZFc, AZFd y del gen *SRY*, fueron analizados mediante electroforesis en gel de agarosa al 3.5% teñido con bromuro de etidio y fotografiado bajo luz ultravioleta; como marcador de pesos moleculares se utilizó una escalera de 50 pb.

TABLA 1: GENES EN EL CROMOSOMA Y

GEN	NOMBRE	LOCUS	MANIFESTACIONES AL MUTARSE
AZF 1	Factor azoospermico 1	Yq11	Síndrome Células de Sertoli
DAZ 1	Deletado en azoospermia 1	¿?	Infertilidad
DAZ 2	Deletado en azoospermia 2	Yq11.2	Infertilidad
DDX3Y	Polipéptido DEAD-3		Infertilidad
RBM1A1	Proteína de unión a RNA, ligado al Y, familia 1	Yq11	Infertilidad
RPY		¿?	Retinosis pigmentaria ligada al Y
SRY	Región determinante del Sexo del Y	Yp11.3	Disgenesia gonadal
TDF	Factor Determinante Testicular	Yp11.3	Disgenesia gonadal
USP9Y	Peptidasa específico de ubiquitina ligada al Y	Yq11.2	Azoospermia

TABLA 2: Comparación de características clínicas de nuestro paciente con los descritos en la literatura

Referencia	Desarrollo masculino normal	Cromosomas Y paternos o de hermanos	Dismorfias	Retraso Mental	Talla Baja	Infertilidad	Punto de ruptura aparente
Nakagome <i>et al</i> (1965)	+	Normal	Puente nasal deprimido, braquicefalia	+	+	NA	46,XYq-
Meisner y Inhorn (1972)	+	Y pequeño	Implantación baja de cabello, Hemangiomas, prognatismo, hipoplasia ungueal	+	-	NA	46,XYq-
Tefler <i>et al</i> (1973)	+	NA	Ninguno	-	+	NA	46,XYq-
Neu <i>et al</i> (1973)	+	Normal	Ninguno	-	-	Azoospermia	46,XYq-
Yunis <i>et al</i> (1977)	+	Normal	Ninguno	+	+	NA	46,XYq-
Podruch <i>et al</i> (1982)	+	Normal	Microcefalia, ptosis, epicanto livedo reticularis	+	+	NA	Del Yq11→Yqter
Koztolányi y Trixler (1983)	+	Normal	Ninguno	+	+	Biopsia testicular sin datos de espermatogénesis	Del Yq11→Yqter
Langmaid y Laurence (1984)	+	Normal	Espina bífida	-	+	NA	Del Yq11→Yqter
Skare <i>et al</i> (1990)	Pene pequeño	NA	Obesidad, paladar alto y angosto, desviación falanges	-	+	Azoospermia	Del Yq11→Yqter Por molecular: ausencia de intervalos 5,6,7
Lahn <i>et al</i> 1 (1994)	+	+	Microcefalia, hipotonía, Crisis convulsivas	+	NA	NA	46,X,der(Y)t(X;Y)(q28;q11) Por molecular ausencia de intervalo 5B→ Y terminal
Lahn <i>et al</i> 2 (1994)	+	+	Microcefalia, hipotonía, Crisis convulsivas	+	NA	NA	46,X,der(Y)t(X;Y)(q28;q11) Por molecular ausencia de intervalo 5L→ Y terminal
Lahn <i>et al</i> 3 (1994)	+	+	Microcefalia, hipotonía, Crisis convulsivas	+	NA	NA	46,X,der(Y)t(X;Y)(q28;q11) Por molecular ausencia de intervalo 6C→ Y terminal
Salo <i>et al</i> 1 (1995)	+	Normal	Ninguno	-	-	Azoospermia	Del Yq11→Yqter Por molecular ausencia de intervalo 5N→ Y terminal
Salo <i>et al</i> 2 (1995)	Testículos pequeños	Normal	Mentón pequeño	-	-	Azoospermia	Del Yq11→Yqter Por molecular ausencia de intervalo 5G→ Y terminal

Salo <i>et al</i> 3 (1995)	+	Normal	Paladar alto, dedos fusiformes	+	-	NA	Del Yq11→Yqter Por molecular ausencia de intervalo 5G→ Y terminal
Salo <i>et al</i> 4 (1995)	Testículos pequeños	Normal	Mentón pequeño, boca pequeña, fisuras palpebrales hacia abajo, paladar alto	-	+	NA	Del Yq11→Yqter Por molecular ausencia de intervalo 5G→ Y terminal
Salo <i>et al</i> 5 (1995)	+	Normal	Puente nasal alto, pabellones auriculares grandes con rotación posterior, clinodactilia	+	+	NA	Del Yq11→Yqter Por molecular ausencia de intervalo 5D→ Y terminal
Salo <i>et al</i> 6 (1995)	+	Normal	Cara triangular, nariz larga, epicanto	+	-	NA	Del Yq11→Yqter Por molecular ausencia de intervalo 5C→ Y terminal
Salo <i>et al</i> 7 (1995)	Criptorquidia	Normal	Mentón pequeño, paladar alto	+	-	NA	Del Yq11→Yqter Por molecular ausencia de intervalo 5A→ Y terminal
Salo <i>et al</i> 8 (1995)	Pene pequeño	Normal	Paladar alto, tórax ancho, coartación de aorta,	+	+	NA	Del Yq11→Yqter Por molecular ausencia de intervalo 5A→ Y terminal
Salo <i>et al</i> 9 (1995)	Testículos pequeños	Normal	Puente nasal alto	-	+	NA	Del Yq11→Yqter Por molecular ausencia de intervalo 5A→ Y terminal
Nuestro paciente (2006)	+	Normal	Braquicefalia, fisuras palpebrales hacia abajo, nariz bulbosa y ancha, paladar alto, filtrum plano, boca grande, mentón pequeño, pabellones auriculares con rotación posterior con surcos en región anterior y posterior de lóbulos auriculares, uñas hipoplásicas, clinodactilia, aberrantes palmares	+	+	Azoospermia por estudio molecular de regiones AZF	Del Yq11 – qter Por molecular ausencia de intervalo 5→ Y terminal

+ presente, - ausente, NA no analizado

FIGURAS

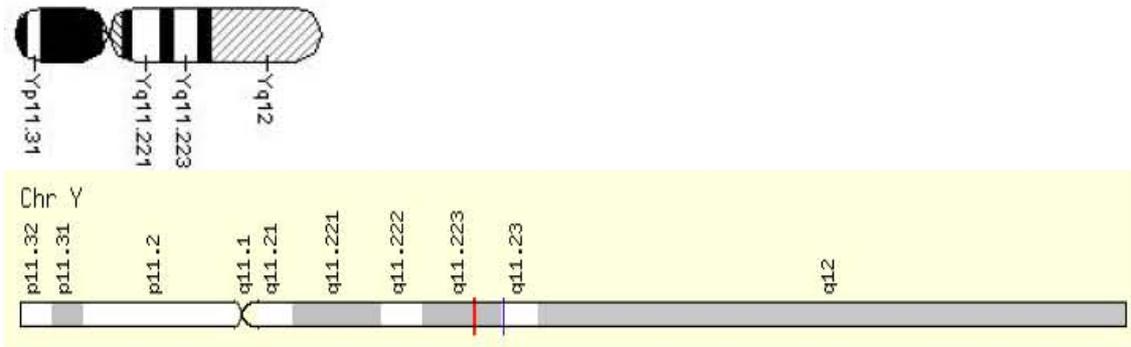


Figura 1: Ideograma del cromosoma Y.

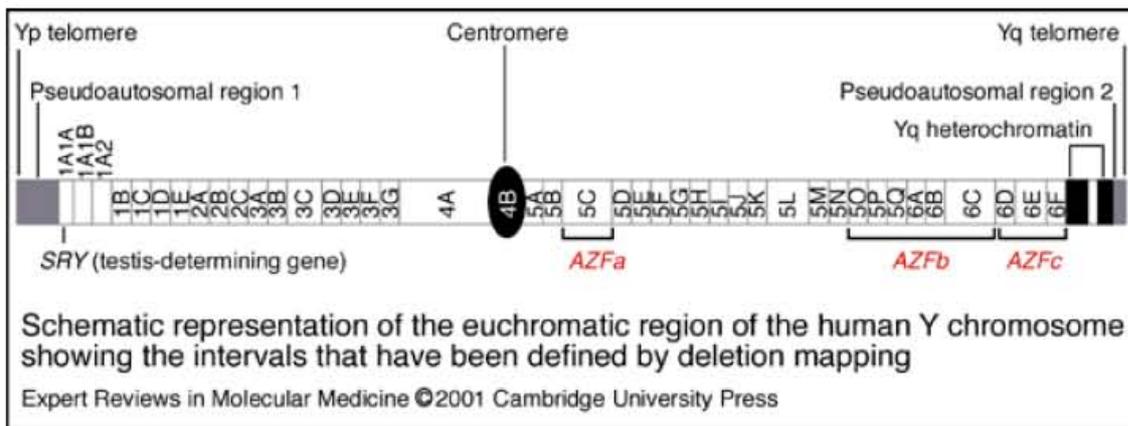


Figura 2: Representación esquemática de la región eucromática del cromosoma Y demostrando intervalos definidos de deleciones.



Figura 3: Dismorfias faciales: fisuras palpebrales hacia abajo y la fisura izquierda más pequeña que la derecha, cejas pobladas, nariz bulbosa y ancha, con narinas antevertidas, filtrum plano, mejillas prominentes, boca grande, mentón pequeño.



Figura 4: Paladar alto e íntegro.



Figura 5: Surcos en región anterior y posterior de lóbulos auriculares y pits retroauriculares.



Figura 6: Genitales masculinos normales.



Figura 7: Pliegues aberrantes y clinodactilia del 5º dedo.

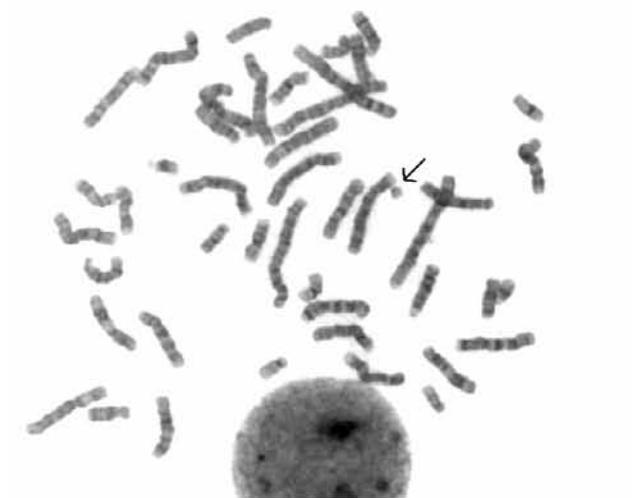


Figura 8: Cariotipo del paciente con delección del cromosoma Y indicado por la flecha.

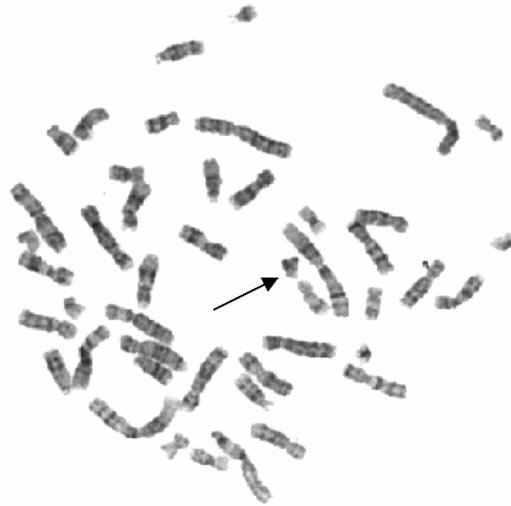


Figura 9: Cariotipo del padre con tamaño del cromosoma Y normal, indicado por la flecha.

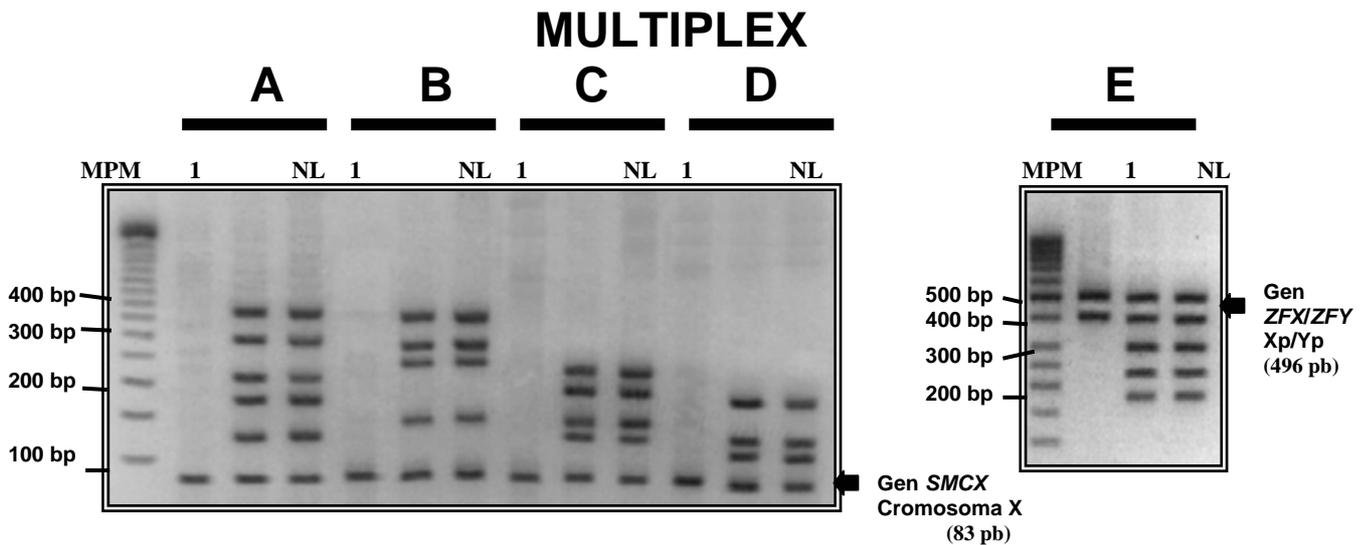


Figura 10: Se realizó análisis de 20 secuencias STS localizadas en Yq así como en Yp (*SRY* y *ZFY/ZFX*) evidenciando la presencia de sólo las secuencias localizadas en Yp. Se ilustran los resultados obtenidos en las cinco reacciones de PCR múltiple señaladas con las letras A, B, C, D y E. El peso de los amplicones resultantes en cada una de las reacciones, se señalan en la tabla adjunta. Carriles 1: Paciente, Carriles NL: Control masculino sano. Carriles MPM: Marcador de pesos moleculares (escala de 50 pb). Nótese la ausencia de las 19 secuencias de Yq tipo STS en el paciente respecto al control masculino sano. Los únicos productos detectables en el paciente corresponden al gen *SRY*, *ZFX/ZFY* (múltiplex E) y al gen *SMCX* (control interno de las reacciones multiplex A a la D). Lo anterior confirma en el paciente una delección que elimina las cuatro regiones *AZF* y por consiguiente una gran proporción de la región eucromática de Yq.

Multiplex A Master Mix			
STS	Locus	Size of Product (bp)	Map Position
SY254	DAZ	380	18
SY157	DYS240	290	20
SY81	DYS271	209	2
SY130	DYS221	173	11
SY182	KAL-Y	125	5
	SMCX	83	Control

Multiplex B Master Mix			
STS	Locus	Size of Product (bp)	Map Position
SYPR3	SMCY	362	7
SY127	DYS218	274	9
SY242	DAZ	233	16
SY208	DAZ	140	17
	SMCX	83	Control

Multiplex C Master Mix			
STS	Locus	Size of Product (bp)	Map Position
SY128	DYS219	228	10
SY121	DYS212	190	6
SY145	DYF51S1	143	14
SY255	DAZ	124	19
	SMCX	83	Control

Multiplex D Master Mix			
STS	Locus	Size of Product (bp)	Map Position
SY133	DYS223	177	12
SY152	DYS236	125	15
SY124	DYS215	109	8
	SMCX	83	Control

Multiplex E Master Mix			
STS	Locus	Size of Product (bp)	Map Position
	ZFX/ZFY	496	Control
SY14	SRY	400	1
SY134	DYS224	303	13
SY86	DYS148	232	3
SY84	DYS273	177	4

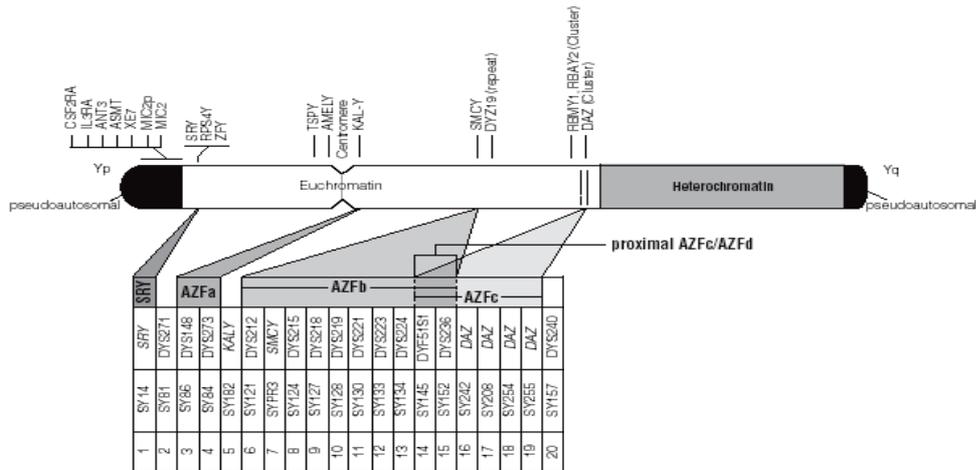


Figura 11: Esquema del cromosoma Y señalando las 19 secuencias tipo STS contenidas en las regiones AZFa, AZFb, AZFc, AZFd y del gen SRY (Yp). En las 19 secuencias STS analizadas se encuentran genes responsables del mantenimiento y progresión de la espermatogénesis (p. ej. *DAZ*, *KAL-Y*, *SMCY*, etc.), y las cuales pueden presentar deleciones *de novo*.

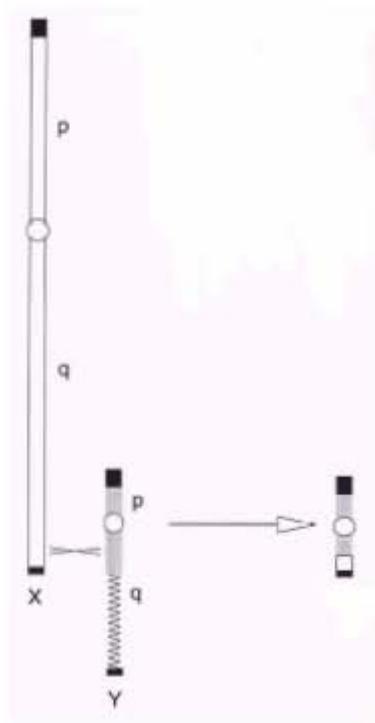


Figura 12: Según Lahn *et al.*, 1994, recombinación desigual entre Xq-Yq en línea germinal paterna, produciendo un cromosoma Y con disomia parcial del X. Porciones negras son regiones psuedoautosómicas que explicarían algunos casos de delección Yq.

BIBLIOGRAFÍA

1. Alvesalo L, De La Chapelle A. Tooth size in two males with deletions of the long arm of the Y-chromosome. *Ann Hum Genet* 1981;**45**:49-54.
2. Bachtrog D, Charlesworth B. Towards a complete sequence of the human Y chromosome. *Genome Biology* 2001;**2**(5):1016.1-1016.5.
3. Chandley AC, Gosden JR, Hargreave TB, Spowart G, Speed RM, McBeath S. Deleted Yq in the sterile son of a man with a satellited Y chromosome (Yqs). *J Med Genet* 1989;**26**:145-153.
4. Csilla Krausz, Lluís Quintana-Murci, Gianni Forti. Y chromosome polymorphisms in medicine. *Annals of Medicine* 2004;**36**(8):573-583.
5. Curry CJ, *et al.* Evaluation of Mental Retardation. *Am J Med Genet* 1997;**72**:468-477.
6. Dada R, Gupta NP, Kucheria K. Yq microdeletions- Azoospermia factor candidate genes and spermatogenesis arrest. *Journal of Biomolecular Techniques* 2004;**15**:176-183.
7. Davis RM. Localisation of male determining factors in man: a thorough review of structural anomalies of the Y chromosome. *J Med Genet* 1981;**18**:161-195.
8. Duell T, Mathews S, Wunderlich B, Mittermuller, Schmetzer H. Interstitial and terminal deletion of chromosome Y in a male individual with cryptoospermia. *Molecular Human Reproduction* 1998;**4**(4):325-331.
9. Foote S, Vollrath D, Hilton A, Page DC. The human Y chromosome: Overlapping DNA clones spanning the euchromatic region. *Science* 1992;**258**:60-66.
10. Foresta C, Ferlin A, Moro E. Deletion and expression analysis on AZFa genes on the human Y chromosome revealed a major role for DBY in male infertility. *Hum Mol Genet* 2000;**9**:1161-9.
11. Freije D, Helms C, Watson S, Donis-Keller H. Identification of a second pseudoautosomal region near the Xq and Yq telomeres. *Science* 1992;**258**:1784-1787.
12. Graves J, Marshall A. Recycling the Y Chromosome. *Science* 2005;**307**(5706):50-51.

13. Hamerton JL, Canning N, Ray M, Smith S. A cytogenetic survey of 14,069 newborn infants. I. Incidence of chromosome abnormalities. *Clin Genet* 1975; **8**:223-43.
14. Kent-First M. The Y chromosome and its role in testis differentiation and spermatogenesis. *Semin Reprod Med* 2000; **18**:67-80.
15. Kent-First, M.G. *et al.* Defining regions of the Y-chromosome responsible for male infertility and identification of a fourth AZF region (AZFd) by Y-chromosome microdeletion detection. *Mol. Reprod. And Dev.* 1999; **53**: 27-41.
16. Kostiner, D.R., Turek, P.J. and Reijo, R.A. Male infertility: analysis of the markers and genes on the human Y chromosome. *Hum. Reprod* 1998; **13**:3032-3038.
17. Kosztolányi G, Trixler M. Yq deletion with short stature, abnormal male development, and schizoid character disorder. *J Med Genet* 1983; **20**:393-394.
18. Lahn BT, Ma N, Breg R, Stratton R, Surti U, Page DC. Xq-Yq interchange resulting in supernormal X-linked gene expression in severely retarded males with 46,XYq- karyotype. *Nature Genetics* 1994; **8**:243-250.
19. Langmaid H, Lawrence KM. Deletion of the long arms of the Y chromosome with normal development and intelligence. *J Med Genet* 1974; **11**:208-211.
20. Lao-Villadóniga. Acercamiento diagnóstico y asesoramiento genético en el retraso mental. *Rev Neurol* 2001; **33**(Suppl 1):S1-S6.
21. Meisner LF, Inhorn SL. Normal male development with Y chromosome long arm deletion (Yq-). *J Med Genet* 1972; **34**:99-102.
22. Miller O, Therman E. *Human Chromosomes*, 4th Edition, Springer Publications, NYC, New York, 2001.
23. Muldal S, Ockey CH. Muscular dystrophy and deletion of the Y chromosome. *Lancet* 1961; **2**:601.2
24. Nakagome Y, Sasaki M, Matsui I, Kawazura M, Fukuyama Y. A mentally retarded boy with a minute Y chromosome. *The J of Pediatrics* 1965; **67**: 1163-1167.
25. Neu RL, Barlow MJ, Gardner LI. A 46,XYq- male with aspermia. *Fertility and Sterility* 1973; **24**:811-813.

26. Nielsen J, Wohlert, M. Sex chromosome abnormalities found among 34,190 newborn children: results from a 13-year incidence study in Århus, Denmark. *Birth Defects* 1991;**26**:209-23.
27. Pagani R., Brugh V., Lamb D. Y chromosome genes and male infertility. *Urol Clin N Am* 2002;**29**:745-753.
28. Podruch PE, Yen F, Dinno ND, Weisskopf B. Yq- in a child with livedo reticularis, snub nose, microcephaly, and profound mental retardation. *J Med Genet* 1982;**19**:377-80.
29. Pryor, J.L. *et al.* Prospective analysis of Y chromosome microdeletions in 200 consecutive male infertility patients. *N. Eng. J. Med.* 1997;**336**:534-539.
30. Reijo, R. *et al.* Severe oligozoospermia resulting from deletions of azoospermia factor gene on Y chromosome. *Lancet* 1996;**347**:1290-1293.
31. Rozen, S. *et al.* Abundant gene conversion between arms of palindromes in human and ape Y chromosomes. *Nature* 2003 ;**423** :873–876.
32. Salo P, Ignatius J, Simola K, Tahvanainen E, Kääriänen H. Clinical features of nine males with molecularly defined deletions of the Y chromosome long arm. *J Med Genet* 1995;**32**:711-715.
33. Skaletsky H, *et al.* The male-specific region of the human Y chromosome is a mosaic of discrete sequence classes. *Nature* 2003;**423**:825-837.
34. Skare J, Drwinga H, Wyandt H, VanderSpek J, Troxler R, Milunsky A. Interstitial Deletion Involving Most of Yq. *Am J Med Genet* 1990;**36**:394-397.
35. Tefler M, Baker D, Rollin I. Probable long-arm deletion of Y chromosome in boy of short stature. *Lancet* 1973;**1**:608.
36. Tiepolo L, Zuffardi O. Localization of factors controlling spermatogenesis in the nonfluorescent portion of the human Y chromosome long arm. *Hum Genet* 1976;**34**:119-124.
37. Tyler-Smith, C. Chromosome Y: General and Special Features. *Encyclopedia Of Life Sciences & 2005*, John Wiley & Sons, Ltd. www.els.net_Pagina 1-4.
38. Vaharu T, Patton RG, Voorhess ML, Gardner LL. Gonadal dysplasia and enlarged phallus in a girl with 45 chromosomes plus "fragment." *Lancet* 1961;**1**:1351.

39. Vergnaud G, Page DC, Simmler MC, Brown L, Rouyer F, Noel B, Botstein D, De La Chapelle A, Weissenbach J. A deletion map of the human Y chromosome based on DNA hybridization. *Am J Hum Genet* 1986;**38**:109-124.
40. Vollrath D, Foote S, Hilton A, *et al.* The human Y chromosome: a 43-interval map based on naturally occurring deletions. *Science* 1992;**258**:52-9.
41. Willard HF. Tales of the Y chromosome. *Nature* 2003;**423**:810-812.
42. Yunis E, García-Conti FL, Torres de Caballero OM, Giraldo A. Yq deletion, Aspermia and Short Stature. *Hum Genet* 1977; **39**:117-122.