



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE MEDICINA

DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO

HOSPITAL INFANTIL DE MÉXICO FEDERICO GÓMEZ

DEPARTAMENTO DE GENÉTICA

**ANÁLISIS CLÍNICO, CITOGENÉTICO Y MOLECULAR DE UN CASO DE TRANSLOCACIÓN
FAMILIAR t(3;13)(q26.2;q33.1) RESULTANDO
EN TRISOMÍA PARCIAL 3q Y MONOSOMÍA PARCIAL 13q.**

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:
ESPECIALISTA EN GENÉTICA MÉDICA

P R E S E N T A:

DRA. MAURA ROBLEDO CAYETANO

TUTORA: DRA. VERÓNICA FABIOLA MORÁN BARROSO

ASESORES DE TESIS:

DRA. CONSTANZA GARCÍA DELGADO

M. EN C. ALICIA CERVANTES PEREDO

MÉXICO, D.F. FEBRERO 2014





Universidad Nacional
Autónoma de México



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.

Directora de tesis:

Dra. Verónica Fabiola Morán Barroso
Jefa del Departamento de Genética
Hospital Infantil de México Federico Gómez

Asesores de tesis:

Dra. Constanza García Delgado
Profesor adjunto de la Especialidad de Genética Médica
Hospital Infantil de México Federico Gómez

M. en C. Alicia Cervantes Peredo
Servicio de Genética, Hospital General de México Dr. Eduardo Liceaga
Facultad de Medicina, Universidad Nacional Autónoma de México

Dra. Rebeca Gómez Chico Velasco
Directora de Enseñanza
Hospital Infantil de México Federico Gómez

ÍNDICE

1. MARCO TEÓRICO	
1.1 Estructura cromosómica.....	5
1.2 Ciclo celular	5
1.3 Aberraciones cromosómicas	9
1.4 Técnicas de citogenética	
1.4.1 Cariotipo.....	11
1.4.2 FISH.....	13
1.4.3 CGH.....	15
1.5 Indicaciones de cariotipo.....	17
1.6 Trisomía parcial 3q.....	19
1.7 Monosomía parcial 13q.....	20
2. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.....	22
3. JUSTIFICACIÓN.....	23
4. OBJETIVOS.....	24
4.1 Objetivo principal	
4.2 Objetivos secundarios	
5. MATERIALES Y MÉTODOS.....	25
6. RESULTADOS DE ESTUDIOS CITOGENÉTICOS Y MOLECULARES.....	26
7. DISCUSIÓN.....	35
8. CONCLUSIONES.....	39
9. REFERENCIAS.....	40
10. ANEXOS.	
Técnica de cariotipo con bandas GTG.....	44
Técnica de FISH.....	46
Técnica de microarreglo Cytoscan HD	47
Cartas de consentimiento informado.....	49

RESUMEN

Introducción: Se presenta el análisis de un paciente que presentó dismorfias faciales, múltiples malformaciones y ambigüedad de genitales. Como parte de su abordaje se le realizó estudio cromosómico con el cual se diagnosticó alteración a nivel de los cromosomas 3q26.2 y 13q33.1. Basado en este resultado se realizó estudio familiar encontrando alteración estructural de tipo translocación en los cromosomas 3 y 13. La frecuencia de las translocaciones cromosómicas de autosomas es de 1/650 RN, los cromosomas derivados pueden dar origen a productos con trisomía y monosomías parciales de los cromosomas implicados. Existen pocos casos reportados de trisomía parcial 3q y monosomía parcial 13q derivados de t(3;13). La trisomía parcial 3q en 60% de los casos se presenta con monosomía de otro cromosoma por una translocación balanceada en uno de los padres. La región crítica es 3q26.3→3q29. La monosomía parcial 13q, tiene un amplio espectro fenotípico y se ha clasificado en tres grupos dependiendo del tamaño del segmento cromosómico implicado.

Material y métodos: Se realizó estudio clínico, citogenético y molecular al propósito (Cariotipo con técnica de bandas GTG, FISH utilizando las sondas 3 utilizando de ToTelVysion de Vysis-Abbott®, Mapeo genómico con Cytoscan HD de Affymetrix Inc®).

Resultados: En el propósito se encontró un complemento cromosómico: 46,XY,der(13)t(3;13)(q27;q34)mat, resultante de la translocación balanceada en la madre: 46,XX,t(3;13)(q26;q33). El resultado de FISH corroboró los cromosomas involucrados, y el resultado molecular definió los puntos de ruptura de la región 3q26.2→q29 y 13q33.1→q34. La extensión de la duplicación en el cromosoma 3 es de 28287.248 Kpb y la delección del cromosoma 13 tiene una extensión de 12205.951 Kpb.

Discusión: Se presenta el caso de un paciente con trisomía parcial 3q y monosomía parcial 13q, producto de la segregación adyacente I materna, presenta las regiones críticas para la trisomía parcial 3q así como la región crítica descrita para malformaciones genitales en el cromosoma 13. El fenotipo del propositus tiene una superposición de las características clínicas descritas para ambas alteraciones, sin embargo la malformación de genitales tipo inversión pene-escrotal es la típica descrita en la monosomía 13q en su región más distal. En este caso se ejemplifica la importancia del manejo integral del paciente para el diagnóstico específico, con ayuda de las diversas técnicas de citogenética, y basado en este resultado poder otorgar un asesoramiento genético preciso.

1. MARCO TEÓRICO.

1.1. ESTRUCTURA CROMOSÓMICA.

En los organismos eucariotas, el DNA está distribuido en un conjunto de diferentes cromosomas que se encuentran en el núcleo. En el genoma humano está distribuido en 24 cromosomas diferentes. Cada cromosoma está formado por una sola molécula de DNA asociada a proteínas que pliegan y empaquetan el DNA formando una estructura más compacta. El complejo de DNA y proteínas se denomina cromatina.^{1,2}

Los cromosomas son estructuras de cromatina nuclear condensada. Fueron descubiertos en el siglo XIX y una de las primeras imágenes fue aportada por el patólogo J. Arnold en células de sarcoma.³

En los seres humanos hay 24 cromosomas diferentes, 22 se denominan autosomas, y 2 sexuales, que corresponden al cromosoma X y Y. Se encuentran constituidos por heterocromatina, eucromatina, centrómeros y telómeros. El centrómero es una región especializada del cromosoma que según la posición que ocupe lo divide en brazo corto y brazo largo, la cual es característica para cada determinado cromosoma.^{3,4}

Los telómeros se encuentran en los extremos de los cromosomas, son regiones ricas en islas CpG, y tienen repeticiones teloméricas consistentes en secuencias repetidas en tándem, ricas en guanina, y altamente conservadas entre las diferentes especies.³

De acuerdo a la posición del centrómero los cromosomas se clasifican en:

- a) **Metacéntrico:** El centrómero se encuentra en la parte media del cromosoma y los brazos tiene la misma longitud.
- b) **Submetacéntrico:** El centrómero se sitúa más cercano a alguno de los extremos.
- c) **Acrocéntrico:** El centrómero esta muy desplazado a alguno de los extremos.^{1,5}

1.2. Ciclo celular

Las células existentes se dividen a través de una serie ordenada de pasos denominados ciclo celular; en él la célula aumenta su tamaño, el número de componentes intracelulares (proteínas y organelos), duplica su material genético y finalmente se divide.

El ciclo celular se divide en dos fases:

1) Interfase, que consta de:

- **Fase de síntesis (S):** En esta etapa la célula duplica su material genético para pasarle una

copia completa del genoma a cada una de sus células hijas.

- **Fase G1 y G2** (intervalo): Entre la fase S y M de cada ciclo hay dos fases denominadas intervalo en las cuales la célula está muy activa metabólicamente, lo cual le permite incrementar su tamaño (aumentando el número de proteínas y organelos), de lo contrario las células se harían más pequeñas con cada división.

2) Fase M

Mitosis (M): En esta fase se reparte a las células hijas el material genético duplicado, a través de la segregación de los cromosomas, como se muestra en la figura 1. La fase M, para su estudio se divide en:

- **Profase:** En esta etapa los cromosomas (constituidos de dos cromátidas hermanas) se condensan en el núcleo, mientras en el citoplasma se comienza a ensamblar el huso mitótico entre los centrosomas.
- **Metafase:** Comienza con el rompimiento de la membrana nuclear, de esta manera los cromosomas se pueden unir al huso mitótico (mediante los cinetocoros). Una vez unidos los cromosomas estos se alinean en el ecuador de la célula.
- **Anafase:** Se produce la separación de las cromátidas hermanas, las cuales dan lugar a dos cromosomas hijos, los cuales migran hacia polos opuestos de la célula.
- **Telofase:** Aquí ambos juegos de cromosomas llegan a los polos de la célula y adoptan una estructura menos densa, posteriormente se forma nuevamente la envoltura nuclear.

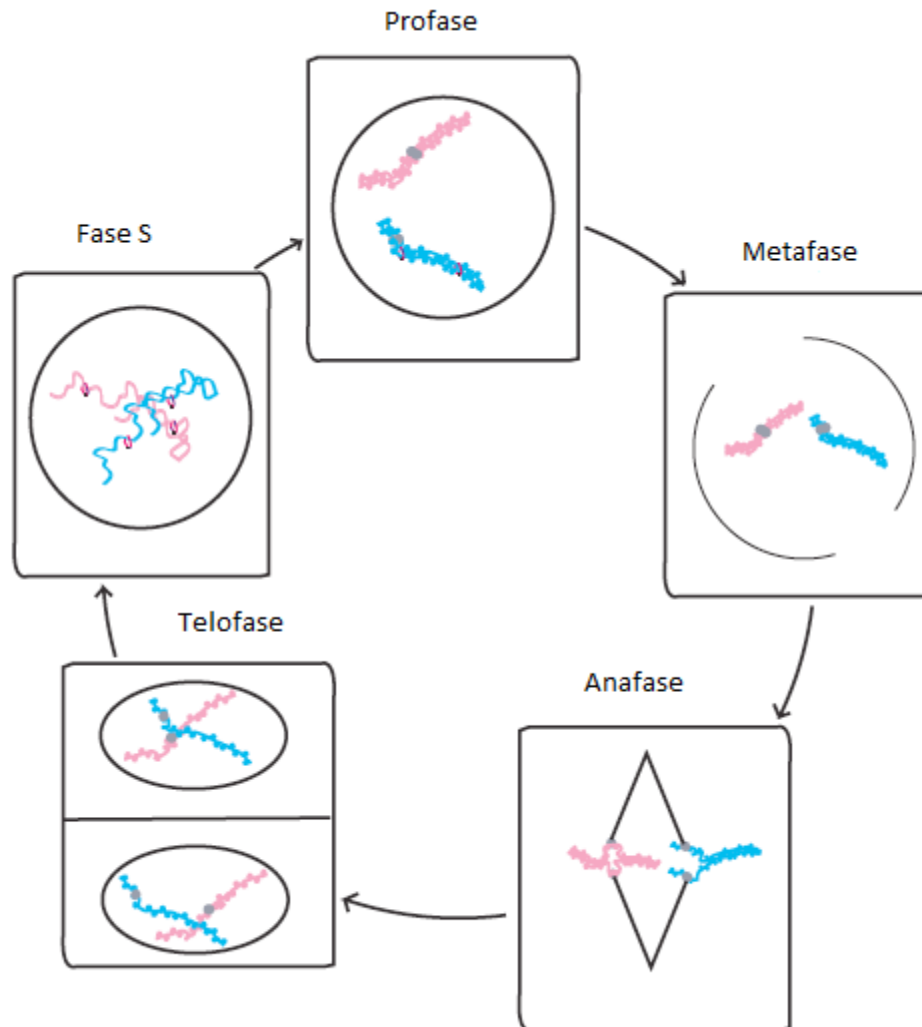


Figura 1. El ciclo celular consiste en 4 fases: Profase, metafase, anafase, telofase. En la anafase las cohesinas se escinden para permitir el movimiento de cada bivalente a los polos opuestos. Modificado de Jose L. Badano et al.

MEIOSIS:

Es un tipo de división celular que evolucionó de la mitosis, está presente en los organismos con reproducción sexual y su función es reducir a la mitad el número de cromosomas en los gametos, así como generar variabilidad genética mediante la recombinación cromosómica y segregación al azar de los cromosomas de origen materno y paterno.

En este proceso se llevan a cabo dos divisiones sucesivas: meiosis I que es una fase reduccional donde se separan los homólogos y meiosis II donde hay una segregación ecuacional y se separan las cromátidas hermanas.⁴

La profase de la primera división se divide en:

- **Leptoteno:** inicia el proceso de apareamiento e intercambio de segmentos homólogos entre las cuatro cromátidas hermanas.
- **Cigoteno:** los homólogos paternos y maternos inician el proceso de sinapsis para formar bivalentes.
- **Paquiteno:** se completa la sinapsis cada par de homólogos forma un bivalente. Termina la recombinación.
- **Diploteno:** existe un acortamiento de cromosomas, se separan los bivalentes. Hay un entrecruzamiento entre los cromosomas homólogos.
- **Diacinesis:** Condensación cromosómica, los bivalentes se compactan. Terminalización de los quiasmas.

1.2.1 Control del ciclo celular:

El sistema de control del ciclo celular se basa en una serie de interruptores bioquímicos cada uno de los cuales inicia un acontecimiento específico del ciclo celular.

El primer punto de control es en el inicio de G1, cuando la célula queda determinada a entrar en el ciclo celular y a duplicar los cromosomas. El segundo es el punto de control G2/M en el que el sistema de control desencadena los acontecimientos mitóticos que conducen a la alineación de los cromosomas en el huso mitótico durante la metafase. El tercero es la transición de la metafase a la anafase, cuando el sistema de control estimula la separación de las cromátidas hermanas, conduciendo a la finalización de la mitosis y citocinesis (figura 2).

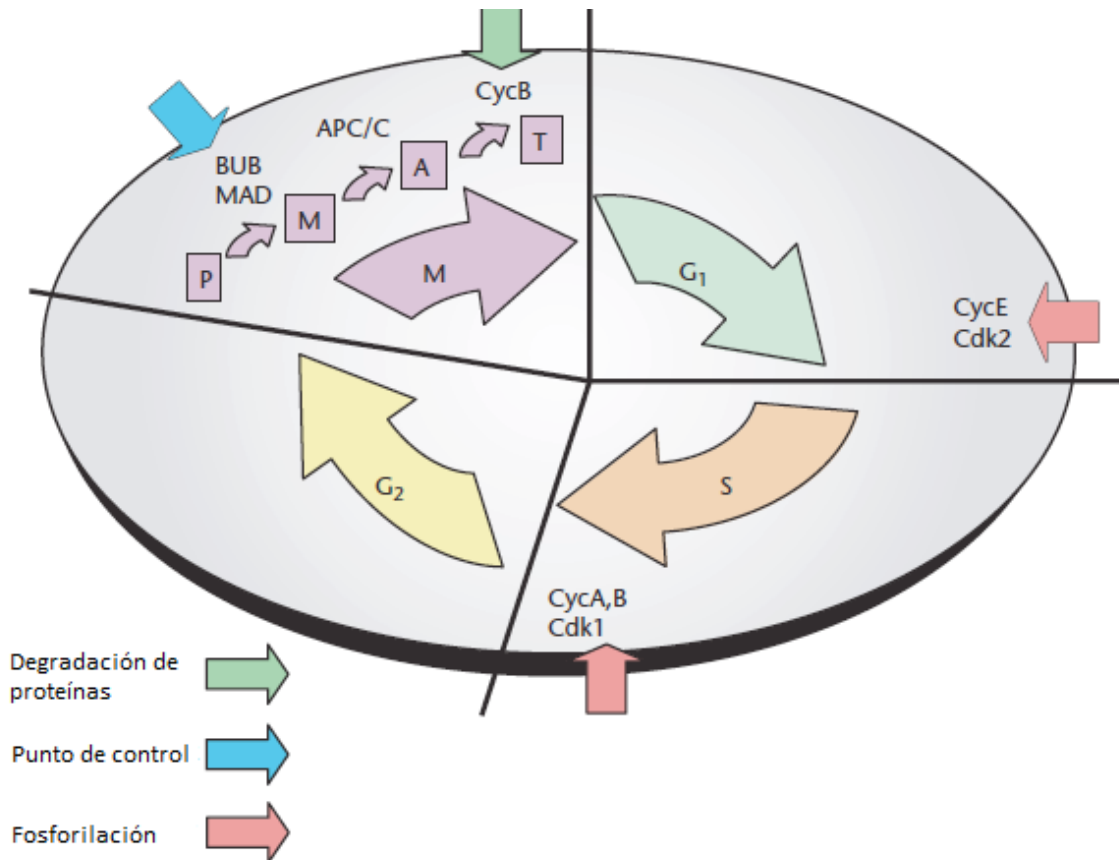


Figura 2. La regulación del ciclo celular depende de numerosos puntos de control. Las cinasas dependientes de ciclinas y su asociación con ciclinas regulan el progreso de una fase de la mitosis a otra. Cdk2/CycE controla el paso de G1 a S; CycA,B/Cdk1 de S a G2. APC/C regula la segregación cromosómica y la degradación de proteínas como CycB que permite el progreso de la citocinesis. Genes reguladores del punto de control en mitosis con *BUB* y *MAD* producen proteínas que inhiben la actividad de APC/C. Modificado de Charleen M. Moore et al; 2007⁵

1.3. ABERRACIONES CROMOSÓMICAS

Las alteraciones en el cariotipo humano son observadas en 0.6% de los recién nacidos vivos y pueden condicionar cuadros con repercusión clínica muy importante, que por lo general incluyen retraso mental y del crecimiento, así como diversas malformaciones congénitas. En la etapa prenatal son una de las causas más frecuentes de pérdida gestacional. Las alteraciones cromosómicas se clasifican según la alteración en el número o estructura.

1.3.1 ALTERACIONES NUMÉRICAS

Pueden ser euploidias o aneuploidias.

1.3.1.1 Euploidias:

Corresponde a las variaciones en el número normal de cromosomas ($2n$), pero son múltiplos del número haploide, es decir triploidia ($3n$), tetraploidia ($4n$), pentaploidia ($5n$), etc. La triploidia es la poliploidia más frecuente y se identifica después de una pérdida gestacional, ya que 7.5% de todos los abortos espontáneos tienen este tipo de alteración.

1.3.1.2 Aneuploidia:

En este caso hay ganancia o pérdida de cromosomas individuales. Son más frecuentes que las euploidías y con mayor significado clínico, ocurren en 3 a 4% de todos los embarazos reconocidos.

Se denomina trisomía a la ganancia de un cromosoma y monosomía a su pérdida, la tetrasomía ocurre cuando se ganan dos cromosomas de un mismo par. Las monosomías casi siempre son letales y muchas trisomías de cromosomas completos tampoco son compatibles con la vida. Las aneuploidias se originan por errores en la meiosis o por errores mitóticos tempranos.^{4,1}

1.3.2 ALTERACIONES ESTRUCTURALES

Tienen una frecuencia de 1 en 500 en la población en general e incluyen deleciones, duplicaciones, traslocaciones, cromosomas en anillo, isocromosomas e inversiones.^{4,1}

Deleciones: son la pérdida de material de un solo cromosoma y pueden ser teloméricas, terminales o intersticiales.

Los cromosomas en anillo: son ocasionados por rupturas en ambos brazos con pérdida de material distal y una reunión subsecuente de ambos extremos.

Las duplicaciones: ocurren por el entrecruzamiento desigual ya sea entre cromosomas homólogos o cromátides hermanas.

Las translocaciones recíprocas: resultan del intercambio entre segmentos cromosómicos de dos o más cromosomas no homólogos.

Las translocaciones robertsonianas: involucran a dos cromosomas acrocentricos, frecuentemente este cromosoma resultante de la fusión céntrica es un cromosoma dicéntrico.

El isocromosoma: está constituido por dos copias idénticas de un mismo brazo cromosómico, son el resultado del intercambio no homólogo durante la meiosis o por

ruptura y unión cercana al centrómero de cromátides hermanas, otra causa es una falla de división del centromero durante la meiosis II o mitosis.

Las inversiones balanceadas: son rearrreglos en los que se involucra a un cromosoma que resulta de dos rupturas y una rotación de 180 grados del segmento involucrado previo a la reconstitución.

1.4. Técnicas de citogenética:

Son aquellas utilizadas para la caracterización de los cromosomas.

1.4.1 Cariotipo:

Se utiliza para la determinación de alteraciones en el número o estructura cromosómica. Se pueden utilizar diferentes técnicas de tinción para la identificación individual de los cromosomas.^{6,7}

Bandas GTG:

Los cromosomas se tratan con tripsina para desnaturalizar las proteínas y posteriormente se tiñen con Giemsa. Cada par de cromosoma se tiñe con un patrón característico de bandas claras y oscuras. Figura 3.



Figura 3. Cariotipo en metafase con bandas GTG, de una paciente femenina normal, con fórmula cromosómica 46,XX. Se observa el patrón de bandas claras y oscuras en cada cromosoma. (Imagen realizada por la Biol. Ariadna Berenice Morales Jiménez del Laboratorio de Citogenética del Depto. de Genética del HIMFG)

Bandas Q:

Los cromosomas se tiñen con quinacrina y se examinan por microscopía de fluorescencia. Los cromosomas se tiñen con patrones específicos de bandas brillantes y opacas. Las bandas brillantes corresponden a las bandas G oscuras.

Bandas R:

Los cromosomas se calientan antes de colorearlos con Giemsa , se producen bandas claras y oscuras. El patrón de bandas claras y oscuras es opuesto al de las bandas GTG

Bandas C:

Se tiñe específicamente las región centroméricas y otras regiones que contienen heterocromatina constitutiva.

Bandas T:

En esta técnica se utiliza naranja de acridina, se tiñe la región telomérica.

Alta resolución:

Se realizan bandas G o R en preparación.^{6,7}

1.4.2 FISH:

Es una técnica de citogenética molecular, que se utiliza para el análisis directo de una región en la que se sospeche duplicación o deleción. En esta técnica una sonda de DNA que es una secuencia conocida, se marca con un fluorocromo e hibrida con sus secuencias complementarias, como se muestra en la Figura 4.^{6,7,9}

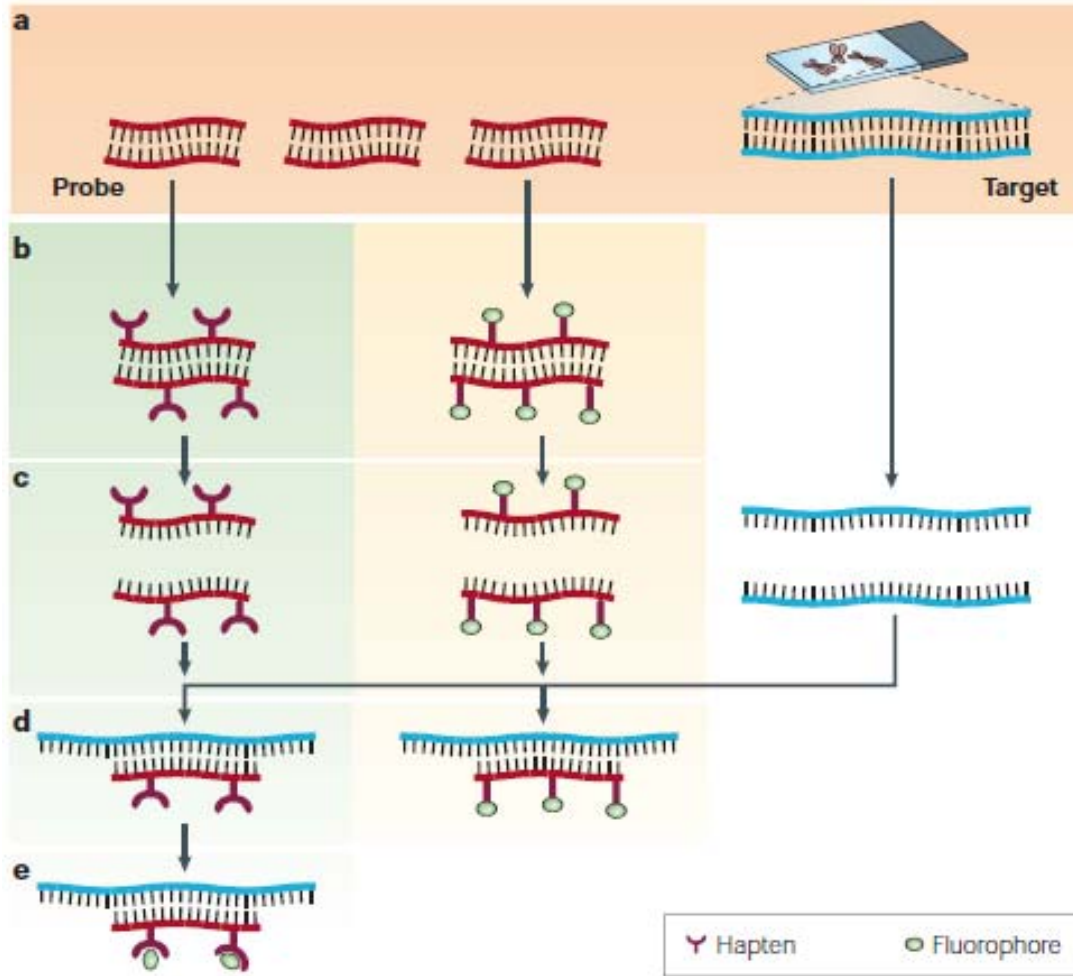


Figura 4. Se ejemplifica el fundamento de la técnica de FISH. A) Los elementos básicos son una sonda de DNA y una secuencia diana. B) Las sondas se marcan con nucleótidos modificados que contienen un hapteno (izquierdo), o se pueden incorporar nucleótidos marcados con un fluoroforo (derecha). C) La sonda marcada y el fluoroforo se desnaturalizan para producir una cadena de DNA sencilla. D) Se lleva a cabo la hibridación de secuencias complementarias. E) Si la sonda se marcó con un hapteno, para su visualización se utiliza un marcador enzimático o un sistema de detección inmunológica. Modificado de Speicher y Carter et al; 2005⁹

Las sondas utilizadas son: a) centroméricas, b) locus específica, c) teloméricas y subtelo­méricas, d) pintado completo del cromosoma (Figura 5).






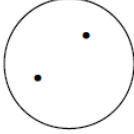
	METAFASE	INTERFASE
SONDAS CENTROMÉRICAS		
SONDAS DE PINTADO CROMOSÓMICO		
SONDAS DE SECUENCIA ÚNICA O DE LOCUS ESPECÍFICO		

Figura 5. Se ejemplifican el tipo de sondas utilizadas en la técnica de FISH, y su localización según la etapa del ciclo celular en la que se identifique. Para la sonda centromerica, no requiere células en división celular, puede identificar alteraciones numéricas. La sonda de locus específico tampoco requiere células en división celular, y nos indica deleciones o duplicaciones de una región específica. Las sondas de pintado cromosómico completo requieren que las células se encuentren en división. Modificado de Espinet B. Et al.^{7,8}

1.4.3 CGH:

Hibridación genómica comparativa es un método para el análisis del genoma completo y permite la detección de cambios en el número de copias en el DNA. Permite el tamizaje del genoma para la búsqueda de duplicaciones y deleciones, utilizando la comparación del DNA a estudiar con un control de referencia. La resolución es de 2 a 5 Mb.¹²

1.4.4 Microarreglos:

Basados en el principio de hibridación genómica comparativa. Donde el DNA problema y DNA control se encuentran marcados diferencialmente, y mezclados en una proporción 1:1, se hibridan juntos, el DNA normal con el DNA problema. La resolución varía desde 45kb a 1Mb, dependiendo de la densidad del arreglo.¹²

Las técnicas anteriores permiten establecer desbalances o rearrreglos cromosómicos de significancia clínica, en algunas ocasiones los datos clínicos observados son resultado de cromosomas derivados de alteraciones cromosómicas en alguno de los padres o pueden ocurrir *de novo*, el que sean balanceadas o desbalanceadas, los cromosomas implicados y el tamaño de los segmentos afectados incidirá en el fenotipo, de esta manera podemos tener trisomías y monosomías parciales, algunas de cuyas características han sido descritas en síndromes clínicos bien identificados.

El diagnóstico inicial de las alteraciones cromosómicas de tipo estructural y numérica requiere el uso de técnicas de análisis citogenético, sin embargo dependiendo del tipo de alteración, habrá unas que tengan más utilidad que otras para el diagnóstico como se muestra en la Figura 6, como por ejemplo en el caso de las traslocaciones recíprocas en las que no nos arrojaría ningún resultado si se realizara CGH ya que no existe pérdida ni ganancia de material, sin embargo cuando no es balanceada como en el caso de esta tesis si hay utilidad de esta técnica.

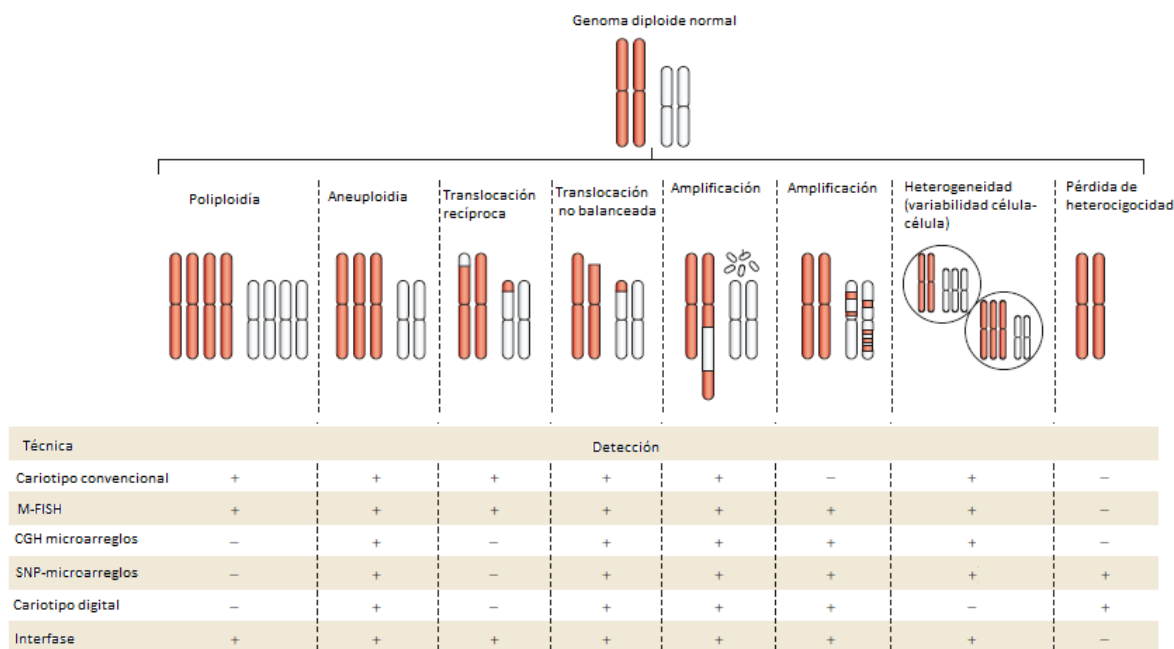


Figura 6. Comparación de las técnicas de citogenética para identificar alteraciones cromosómicas. .
Modificado de Speicher y Carter et al; 2005⁹

1.5 INDICACIONES DE CARIOTIPO

El estudio de cariotipo debe ser considerado en aquellos pacientes que presentan alguna de las siguientes características (Tabla 1), con fines tanto diagnósticos como de asesoramiento genético.

Tabla 1. Indicaciones de cariotipo por grupo de edad¹³:

1.-Prenatal
<ul style="list-style-type: none">- Edad mayor de 35 años.- Ansiedad materna.- Triple marcador alterado.- Oligoamnios-polihidramnios.- Retraso de crecimiento intrauterino.- Arteria umbilical única.- Sospecha ecográfica de cromosopatía.- Antecedentes de cromosopatía balanceada en un progenitor.
2.- Neonatal
<ul style="list-style-type: none">- Malformaciones mayores aisladas.- Presencia de 3 o más defectos congénitos menores.- Recién nacido con rasgos dismórficos.- Recién nacido con genitales ambiguos.- Parto con producto muerto de causa inexplicable.- Muerte neonatal de causa inexplicada.
3.- Lactancia
<ul style="list-style-type: none">- Niños con dificultades para el aprendizaje.- Niños con rasgos dismórficos.- Niños con retraso psicomotor.
4.- Preescolar-escolar
<ul style="list-style-type: none">- Trastornos del crecimiento.- Retraso psicomotor.- Rasgos dismórficos.
5.- Adolescencia
<ul style="list-style-type: none">- Ginecomastia.- Falta de desarrollo puberal.- Amenorrea primaria o secundaria- Retraso mental.- Rasgos dismórficos.
6.- Adulto
<ul style="list-style-type: none">- Padres de niños con anomalías cromosómicas estructurales.- Abortos de repetición.- Infertilidad de origen desconocido.- Diagnóstico prenatal (líquido amniótico y biopsia de corión).

- Rasgos dismórficos.
7.- Todas las edades
- Procesos malignos (cariotipo constitutivo y del tumor).
- Control de trasplantes de médula ósea.

1.6 TRISOMÍA PARCIAL 3q.

La trisomía parcial 3q en 60% de los casos se presenta con monosomía de otro cromosoma por una translocación balanceada en uno de los padres.¹⁷ La región crítica fue descrita en el 2000 y corroborada en 2006 y va de 3q26.3-3q29.4.^{17,18}

El síndrome por duplicación 3q (OMIM 122470), la primera vez en 1966 fue reportado como una forma de síndrome de Brackman de Lange con alteraciones cromosómicas.^{18,21,23} Una descripción clínica detallada fue hecha hasta 1985 por Wilson et al, quien describió pacientes con hirsutismo, sinofris, punta nasal ancha, narinas antevertidas, comisuras labiales descendentes, malformaciones en pabellones auriculares, cardiopatía congénita, en particular defectos del septo ventricular, malformaciones genitourinarias, retraso mental y en el crecimiento.²³ Citogenéticamente estos pacientes presentaban trisomía para un segmento del brazo largo del cromosoma 3 de tamaño variable.

En 1995 Aqua et al; definieron la región crítica para este síndrome en 3q26.3-3q27 y de acuerdo a lo descrito por estos autores y previamente se han propuesto criterios clínicos para definir este síndrome y diferenciarlo del síndrome de Brackman de Lange que son: restricción del crecimiento intrauterino, filtrum prominente, pulgares de implantación proximal, craneosinostosis, paladar hendido, alteraciones del tracto genitourinario.

1.7 MONOSOMÍA PARCIAL 13q.

El síndrome por delección 13q está definido por las características clínicas asociadas a la delección parcial del brazo largo del cromosoma 13. Fue descrito por primera vez en 1963 en 4 pacientes con retraso mental, retraso en el crecimiento y retinoblastoma, pero fue delineado como un síndrome específico hasta 1969.^{23,25} El espectro fenotípico es muy amplio, y Brown et al; definió 3 grupos basado en si la región 13q32 se encontraba involucrada en la delección o no.^{27,31}

Las delecciones del brazo largo del cromosoma 13 son raras, y los 3 grupos caracterizados son ^{23,24,26}:

- 1) Involucra la región 13q14, y se encuentra asociada con retinoblastoma.
- 2) Involucra la región proximal de 13q32. En estas delecciones se ha observado el fenotipo más severo con retraso mental importante, microcefalia, restricción del crecimiento, malformaciones de sistema nervioso central como encefalocele posterior y holoprosencefalia, malformaciones en ojo como microftalmia y coloboma de retina, así como malformaciones del tracto genitourinario.
- 3) Se encuentran en la región distal a 13q32, e involucran 13q33-q34, esta asociado con retraso mental moderado, microcefalia, retraso en el crecimiento, pero sin malformaciones en otros órganos, excepto malformaciones genitales en hombres.

La asociación entre las malformaciones ano-recto-genital con delecciones en el segmento distal del cromosoma 13 fueron descritas por primera vez por Nieburh, sin embargo la localización exacta del gen candidato fue descrita hasta después.²⁸

La región crítica para la ambigüedad de genitales ha sido mapeada en el intervalo de 13q33.3-q34, con un tamaño de 9.5 MB y comprende 20 genes. De estos el gen *EFNB* ha sido sugerido como gen candidato para las malformaciones genitales. Dravis et al; reportaron en ratones machos heterocigotos con pérdida parcial por mutación en el gen *ephrin-B2* que presentaban hipospadias, y en aquellos ratones machos y hembras homocigotos presentaban ano imperforado y persistencia de cloaca.^{27,33}

Según lo propuesto por Ballarati et al, el gen *EFNB2* también se ha visto relacionado en malformaciones congénitas del ojo, sobre todo en aquellos que presentan delecciones que involucren 13q32.2-13q33.2, la hipótesis sugerida es por un mecanismo de haploinsuficiencia, ya que en modelos animales se ha descrito microftalmia, coloboma y displasia de retina. El gen *ZIC2* localizado en 13q32 se ha relacionado con malformaciones en cerebro como holoprosencefalia.^{27,33}

Para las malformaciones en extremidades se ha sugerido un gen candidato que se encuentre en 13q31.3, por ejemplo *GPC5* que codifica para una proteína glicopéptica involucrada en la regulación del crecimiento celular y morfogénesis. En ratones se ha visto que este gen se expresa en sistema nervioso central, riñones y extremidades.^{27,33}

En la tabla 2 se muestran las características clínicas descritas para la deleción del brazo largo del cromosoma 13, no todas tienen porcentaje, ya que se han descrito de manera más esporádica.

Tabla 2. Fenotipo de la deleción del brazo largo del cromosoma 13:^{20,22}

Fenotipo	Frecuencia
Retraso en el desarrollo psicomotor	94%
Hipertelorismo, microcefalia	94%
Holoprosencefalia 13q32	
Agnesia del cuerpo calloso	
Hueso nasofrontal prominente	66%
Alteraciones de los pabellones auriculares	79%
Microftalmia/ coloboma de iris	25%
Retinoblastoma 13q14.1-q14.2	18%
Paladar alto o hendido	
Cardiopatía congénita (defecto del septo atrial, defecto del septo ventricular, tetralogía de fallot, ducto arterioso persistente, cortación de aorta)	55%
Deficiencia de factor VII y X	
Hipoplasia o aplasia del pulgar, sindactilia, braquidactilia	27%
Atresia duodenal, malrotación intestinal, enfermedad de Hirschsprung	
Hipoplasia renal, hidronefrosis	
Útero biseptado o ausente, cloaca	
Ano imperforado o de posición anterior	16%
Ambigüedad de genitales	
Hipospadias, transposición pene-escrotal, escroto bifido	38%
Espina bífida	

2. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA:

La frecuencia de translocaciones cromosómicas balanceadas es de 1/650 individuos, las personas portadoras de estas alteraciones generalmente tienen un fenotipo normal, sin embargo, pueden dar origen a gametos con dísomías y/o nulisomías parciales de los cromosomas involucrados. Por ello, cuando nos encontramos ante un resultado de cariotipo con algún rearrreglo cromosómico estructural desbalanceado, es importante realizar estudio familiar con el fin de establecer si alguno de los padres es portador de un rearrreglo balanceado y poder establecer el diagnóstico cromosómico específico. El estudio clínico, citogenético y molecular de estos pacientes y sus familias nos permite establecer una correlación genotipo y explicar los riesgos de productos con anormalidades de acuerdo a las diferentes posibilidades de segregación meiótica de los cromosomas implicados. En la familia estudiada en este trabajo tenemos portadores balanceados y pacientes afectados, se describen las diferentes formas de segregación y sus posibilidades clínicas, lo que nos permitió dar un asesoramiento genético adecuado a sus integrantes.

3. JUSTIFICACIÓN:

El estudio fenotipo-genotipo del propositus nos permitirá hacer una mejor correlación clínica, cromosómica y molecular de las características presentadas y lo descrito en la literatura, así como otorgar un manejo multidisciplinario, con una búsqueda intencionada de las posibles complicaciones o alteraciones descritas para el fenotipo. Esto para otorgar un asesoramiento genético basado en la citogenética molecular y tener conocimiento del manejo multidisciplinario que requieren estos pacientes. En el paciente y la familia se puede determinar el estado de portador y el riesgo que existe para la descendencia de ser portador o de presentar un rearrreglo cromosómico desbalanceado, dependiendo de la segregación lo que apoyará para establecer el manejo y seguimiento que se requiera y otorgar asesoramiento genético.

4. OBJETIVO GENERAL.

Describir clínica, citogenética y molecularmente un caso familiar de t(3;13) asociado a un caso de trisomía 3q y monosomía 13q.

4.1 OBJETIVOS PARTICULARES:

- I. Describir el fenotipo de un paciente con trisomía parcial de 3q26.2-qter y monosomía parcial 13q33.1-qter.
- II. Comparar el fenotipo del paciente con lo descrito en la literatura para estas alteraciones cromosómicas.
- III. Definir la relación fenotipo-genotipo de acuerdo a los puntos de ruptura cromosómica descritos en el paciente y los reportados en la literatura.

5. MATERIAL Y MÉTODOS

A la consulta del Departamento de Genética fue referido paciente recién nacido con diagnóstico clínico de genitales ambiguos, malformación anorrectal y síndrome dismórfico. Se realizó historia clínica y estudios de laboratorio y gabinete por diferentes departamentos del Hospital. Como parte del abordaje diagnóstico con consentimiento informado y de acuerdo a lineamientos institucionales (Anexos 10), se realizó toma de muestra de sangre periférica para cariotipo con técnica de bandas GTG como se describe en el anexo 10. Posterior a la obtención del resultado, se realizó estudio a la madre del propósito (no fue posible realizar estudio al padre) y estudio familiar.

Se analizaron los cariotipos del propósito y de la madre con técnica de FISH empleando sondas ToTelvision de Vysis®, mezclas #3 y #6.

Se realizó estudio por mapeo genómico con microarreglos de alta densidad al propósito. El DNA genómico del paciente se purificó a partir de una muestra de sangre periférica (3 mL) utilizando el *kit* Versagene DNA Purification (Gentra Systems Inc., Minneapolis, MN, USA). El mapeo genómico se llevó a cabo con un microarreglo *Cytoscan HD* (Affymetrix Inc., Santa Clara, CA, USA), el cual contiene aproximadamente 2.7 millones de sondas con una distribución promedio de 1.1 kb en el genoma. Todo el procesamiento, hibridación y cuantificación se realizó de acuerdo al protocolo provisto por la compañía manufacturadora. Los datos fueron analizados con el programa *Chromosome Analysis Suite 1.2.2* (Affymetrix Inc.), utilizando como referencia el conjunto de controles provistos en el mismo (n=270). Los parámetros de análisis fueron: resolución de 50 kb y un mínimo de 390 marcadores. Se utilizó la función *Joining* para fusionar interrupciones menores a 200 kb. El mapeo se realizó con base en el ensamble Feb 2009 (GRCh 37/hg19) del genoma humano (Anexo 9.3).

6. RESULTADOS

6.1 DESCRIPCIÓN DEL CASO CLÍNICO:

ANTECEDENTES HEREDOFAMILIARES. Paciente conocido por primera vez en nuestra Institución a los 7 días de edad, hospitalizada. Es producto de la G4 de padres jóvenes, no consanguíneos, aparentemente sanos (Figura 7). Antecedente de tres hermanos sanos y una hermana finada a los 6 meses de edad con reporte de la madre de haber tenido probable trisomía 13. Refiere que cuando se realizó estudio le dijeron que era portadora de alguna alteración, pero desconocía más datos y no se habían realizado más estudios.

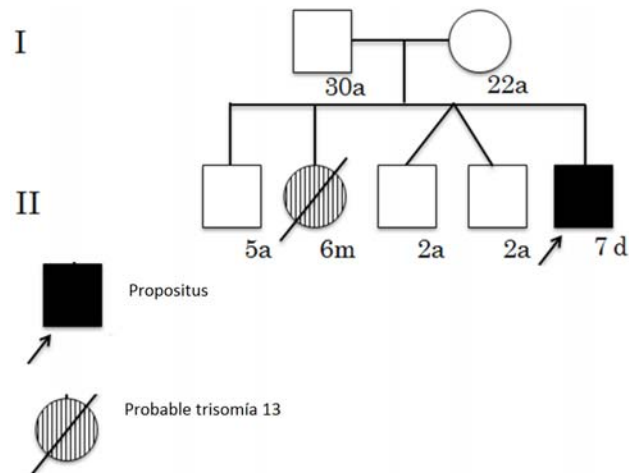


Figura 7. Árbol genealógico del paciente en donde se señala el antecedente de la hermana finada por probable Trisomía 13.

ANTECEDENTES PRENATALES. Embarazo no planeado, percepción a los 2 meses. Control prenatal regular, con ingesta de ácido fólico y hierro. Se realizaron dos ultrasonidos obstétricos reportados con polihidramnios.

ANTECEDENTES PERINATALES. Obtenido vía abdominal secundario a polihidramnios y sufrimiento fetal agudo a las 37 SDG. Peso: 3,200 gr (p50) Talla: 53 cm (p50), Apgar 8/9, se diagnosticó malformación anorrectal, desorden de la diferenciación sexual y dismorfias, por lo que fue referido.

EXPLORACIÓN FÍSICA: Se observó depresión bitemporal y línea anterior del cabello de implantación baja. Sinofris, hipotelorismo, fisuras palpebrales cortas, raíz nasal y base ancha, filtrum borrado, paladar ojival y retrognatia. Pabellones auriculares de implantación baja con fosetas preauriculares, piel redundante en nuca, pectum excavatum. Genitales con ambigüedad caracterizados por labios fusionados, escrotalizados, de localización anterior, falo de localización posterior, de 0.8cm de longitud e hipospadias. Ano de localización anterior con fístula perineal, extremidades superiores con dedos largos, extremidades inferiores con talón prominente y sobreposición de dedos. (Figuras 8-10)



Figura 8. Fotografía del paciente a los 7 días de vida. A. Fotografía de frente, nótese el hirsutismo, fisuras palpebrales ascendentes. B. Perfil izquierdo. Se observa la micrognatia, y los pabellones auriculares de baja implantación con rotación posterior.



Figura 9. En esta imagen se ejemplifica la ambigüedad de genitales, con la inversión pene-scrotal.



Figura 10A. Sobreposición de dedos en pies. 10B. Se observa la sobreposición de dedos y el empujamiento del pulgar.

Como parte de su abordaje integral se realizaron las siguientes valoraciones y diagnósticos: el estudio por resonancia magnética determinó la presencia de oxicefalia, ensanchamiento del espacio subaracnoideo, asimetría en el calibre de las arterias cerebrales y agenesia de cuerpo caloso. La revisión oftalmológica diagnosticó hemorragia intrarretiniana, el estudio de PAETC no fue aprobado de manera bilateral. Se detectó una CIV pequeña por ecocardiograma, el USG abdominal no fue concluyente si bien no se visualizaron útero, ovarios o testículo. La valoración por urología diagnosticó una hipospadias interesrotal y criptorquidia bilateral, con sospecha de testículos de localización intrabdominal.

La valoración endocrinológica determinó iniciar protocolo de estudio por trastorno de la diferenciación sexual (TDS) con perfil endocrinológico el cual reportó niveles de hormona testosterona elevados en 410 ng/dl. Se realizó medición de niveles de 17-alfa-hidroxiprogesterona con resultado normal. Ante la presencia de hiperandrogenismo y ausencia de restos müllerianos se consideró de manera inicial que el paciente cursaba con TDS XY y se descartó el diagnóstico de hiperplasia suprarrenal congénita. Se continuó su valoración y estudios de laboratorio durante el tiempo en que estuvo hospitalizado y fue dado de alta a los 41 días de vida para su seguimiento externo.

Se le realizó estudio citogenético con técnica de bandas GTG en linfocitos de sangre periférica con una resolución de 450-500 bandas (estudio realizado por la Biol. Ariadna Berenice Morales Jiménez del Laboratorio de Citogenética del Depto. de Genética del HIMFG), el cual reportó la siguiente fórmula cromosómica (Figura 11):

46,XY, add(13q34)

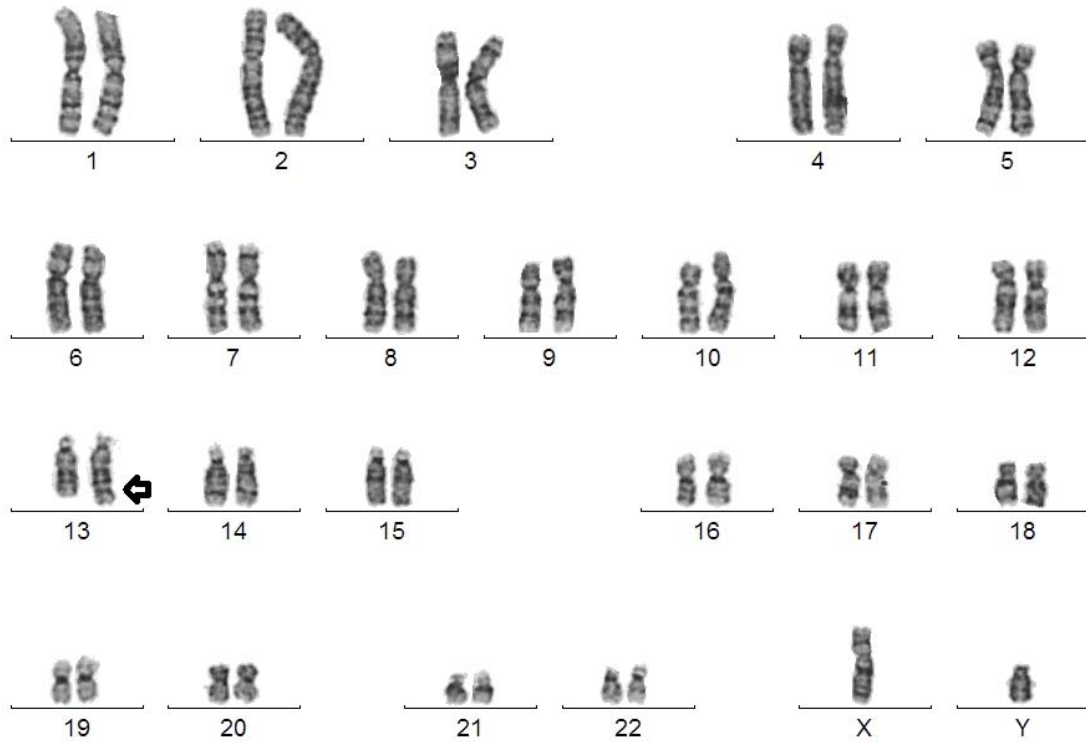


Figura 11. Cariotipo con técnica de bandas GTG del propositus, la flecha indica el material adicional en el cromosoma 13q33.

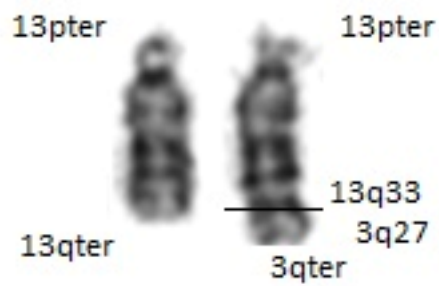


Figura 12. Cariotipo parcial del propositus, con el puntos de ruptura en q33 y material adicional.

Ante la presencia de material cromosómico adicional y los antecedentes heredofamiliares del paciente se realizó estudio cromosómico con bandas GTG a la madre del propósito (no fue posible realizar el estudio al padre), obteniendo la siguiente fórmula cromosómica en la madre (Figura 13):

46,XY,t(3;13)(q26.2;q33.1)

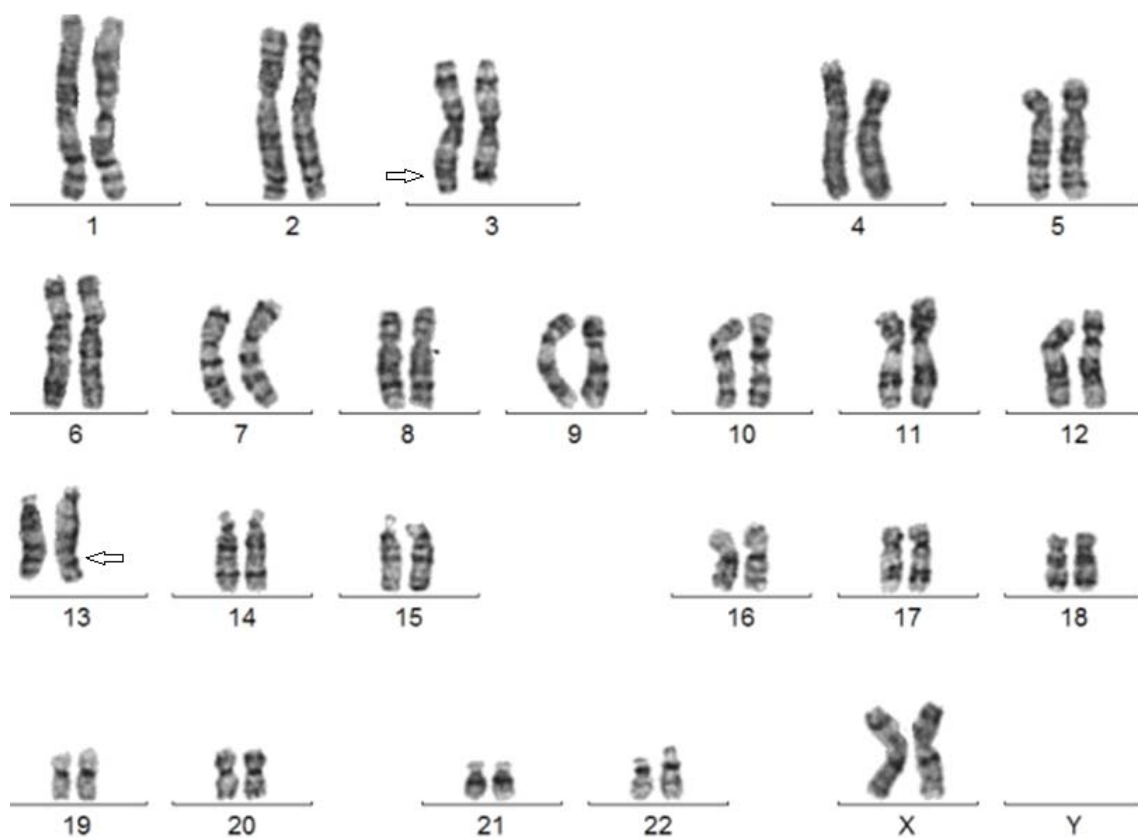


Figura 13. Cariotipo con bandas GTG de la madre. Están señalados los cromosomas involucrados en la traslocación y el punto de ruptura.

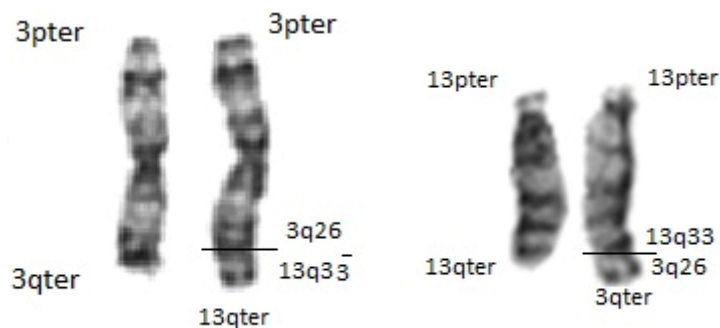


Figura 14. Cariotipos parciales con bandas GTG de la madre. Individuo I.2. Se ejemplifican los puntos de ruptura de los cromosomas 3 y 13

De acuerdo con el resultado obtenido en el cariotipo materno, se determinó que la fórmula cromosómica del propósitos era la siguiente:

46,XY,der(13)t(3;13)(q26.2;q33.1)mat

Con los estudios anteriores, se demostró que la madre (individuo I.2) era portadora de una translocación balanceada, por lo cual se realizó el estudio familiar a sus tres hermanos (II.1, II.3, II.4) siendo todos ellos portadores balanceados como se muestra en la Figura 15.

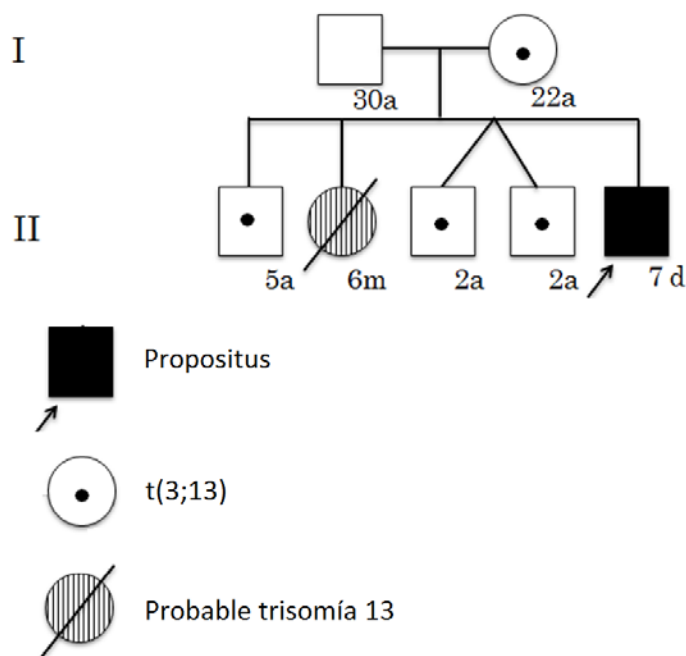


Figura 15. Árbol genealógico de 2 generaciones, donde se muestran los portadores de la t(3;13) después del estudio familiar.

Se realizó análisis de FISH al propositus y a la madre empleando sondas ToTelevision de Vysis, mezclas #3 y #6.

El resultado del análisis con FISH en el propositus mediante el uso de las sondas subteloméricas de los cromosomas 3 y 13 demostraron la ausencia de la región terminal de 13q y la presencia de tres señales de la región 3q como se muestra en la Figura 16) (análisis realizado en el Servicio de Genética, Hospital General de México Dr. Eduardo Liceaga/Facultad de Medicina, UNAM por la Biol. Karem Nieto Martínez y la M. en C. Laura Gómez Laguna).

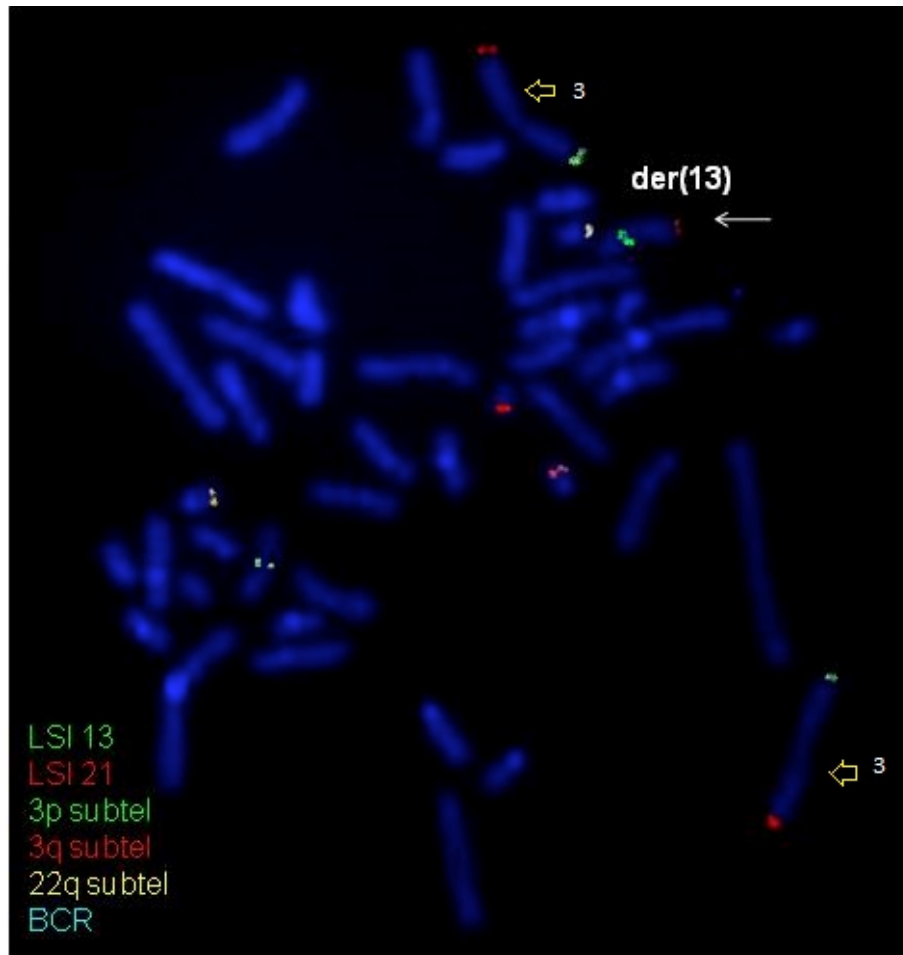


Figura 16. Metafase con FISH del II. 5. La flecha blanca nos indica el cromosoma derivativo del cromosoma 13, las flechas amarillas los cromosomas 3 presentes en el propositus.

Con el análisis anterior, se determina que la fórmula cromosómica correspondiente es:

46,XY,t(3;13)(q26.2;q33.1). ish der(13)(RB1+,D13S327-,D3S4560+)

El estudio por microarreglos de alta densidad (realizado por el Dr. Fernando Fernández Ramírez del Servicio de Genética del Hospital General de México Dr. Eduardo Liceaga) determinó que las regiones específicamente involucradas en el rearreglo cromosómico del paciente son 3q26.2 a q29 y 13q33.1 a q34 (Figura 14). Con los datos anteriores se concluye que la extensión de la duplicación en el cromosoma 3 es de 28.3 Mb y que la deleción en el cromosoma 13 tiene una extensión de 12.2 Mb, por lo que este paciente presenta trisomía parcial 3q y monosomía parcial 13q. Los genes involucrados en esta región serán analizados en detalle posteriormente.



Figura 17. Se encuentra en color azul la región duplicada en el cromosoma 3, y en color rojo la región monosómica del cromosoma 13. Se señala en cuadro azul el cromosoma Y.

7. DISCUSIÓN

En esta tesis se presenta el abordaje y manejo multidisciplinario de un paciente referido por múltiples malformaciones y ambigüedad genital. En la historia clínica es importante resaltar que se tenía el antecedente de hermana finada con múltiples malformaciones y probable trisomía 13, y la madre refería ser portadora de alguna alteración cromosómica pero desconocía el tipo.

De acuerdo a la Tabla 1, el paciente cumplía con varios criterios para realización de estudio citogenético como fueron más de dos malformaciones mayores y ambigüedad de genitales, este estudio con bandas GTG demostró una alteraciones estructural con la fórmula cromosómica: 46,XY,der(13)t(3;13)(q26;q33)mat, siendo la madre la portadora de una translocación: 46,XY,t(3;13)(q26.2;q33.1).

El análisis cromosómico demostró que el propositus presenta un fenotipo causado por trisomía de 3q26.2→3qter y monosomía de 13q33.1→13qter, involucrando las regiones críticas responsables de ambos síndromes, lo cual explicaría la gravedad del paciente.^{13,28}

Los rasgos clínicos pueden superponerse con los originados por ambas alteraciones (trisomía parcial 3q y monosomía parcial 13q). En la Tabla 3 se muestra un resumen, donde se comparan las características clínicas presentadas en el paciente en comparación con las descritas en la literatura en la monosomía parcial de la región distal del cromosoma 13 y la duplicación parcial del brazo largo del cromosoma 3.

Características clínicas.	Paciente	Trisomía parcial 3q				Monosomía parcial 13q		
		q25-qter ¹	q27-qter ¹	q29 ²	3q clásico ³	q33.1-qter ⁴	q33.3-qter ⁴	q33.3-34 ⁵
Retraso mental	-	5/11	4/6	3/5	7/7	+	+	3/3
Microcefalia	+	4/11	-	4/5	3/7	+	-	3/3
Hirsutismo	+	7/11	1/6	-	3/5	-	-	-
Hipertelorismo	-	4/11	3/6	-	2/4	+	+	-
Fisuras palpebrales								
- Cortas	+	-	-	1/5	-	-	-	-
- Descendentes	-	6/11	1/6	1/5	-	-	-	-
Nariz ancha y bulbosa	+	9/11	2/6	4/5	4/4	+	-	-
Filtrum borrado	+	-	-	-	-	-	-	2/3
Micrognatia	+	-	-	-	6/6	+	-	-
Pabellones auriculares dismórficos	+	4/11	4/6	-	3/5	-	-	1/3
Defectos cardiacos	+	1/11	-	2/5	5/5	+	-	1/3
Alteraciones del tracto genitourinario	+	2/11	1/6	-	2/5	+	-	1/3
Linfedema	-	-	-	-	-	+	-	-
Defectos del tubo neural	-	-	-	-	-	+	-	-
Factor VII disminuido	-	-	-	-	-	+	-	-
Alteración en extremidades								
- Clinodactilia	-	5/11	1/6	6/7	-	-	-	1/3
- Braquidactilia	-	-	-	3/3	-	-	-	-
- Sobreposición de dedos	+	-	-	-	-	-	-	-

Tabla 3. Se muestra un resumen de las características clínicas presentadas en el paciente en comparación con las descritas en la literatura en la monosomía parcial de la región distal del cromosoma 13 y duplicación parcial del brazo largo del cromosoma 3.

Con respecto al síndrome por del13q, el paciente corresponde al grupo 3 (q33-34), que incluye la región crítica para malformaciones genitales.

En esta familia, tres de los hijos (II.1,II.3,II.4), recibieron ambos cromosomas derivados de la translocación materna balanceada, lo que corresponde a una segregación alterna. El propositus tiene un derivado de la segregación adyacente 1. La hermana fallecida posiblemente presentaba el fenotipo resultante de un trisomía 13q y monosomía de 3p, referido en acta de defunción y que corresponde al otro gameto posible de la segregación adyacente 1(Figura 18).

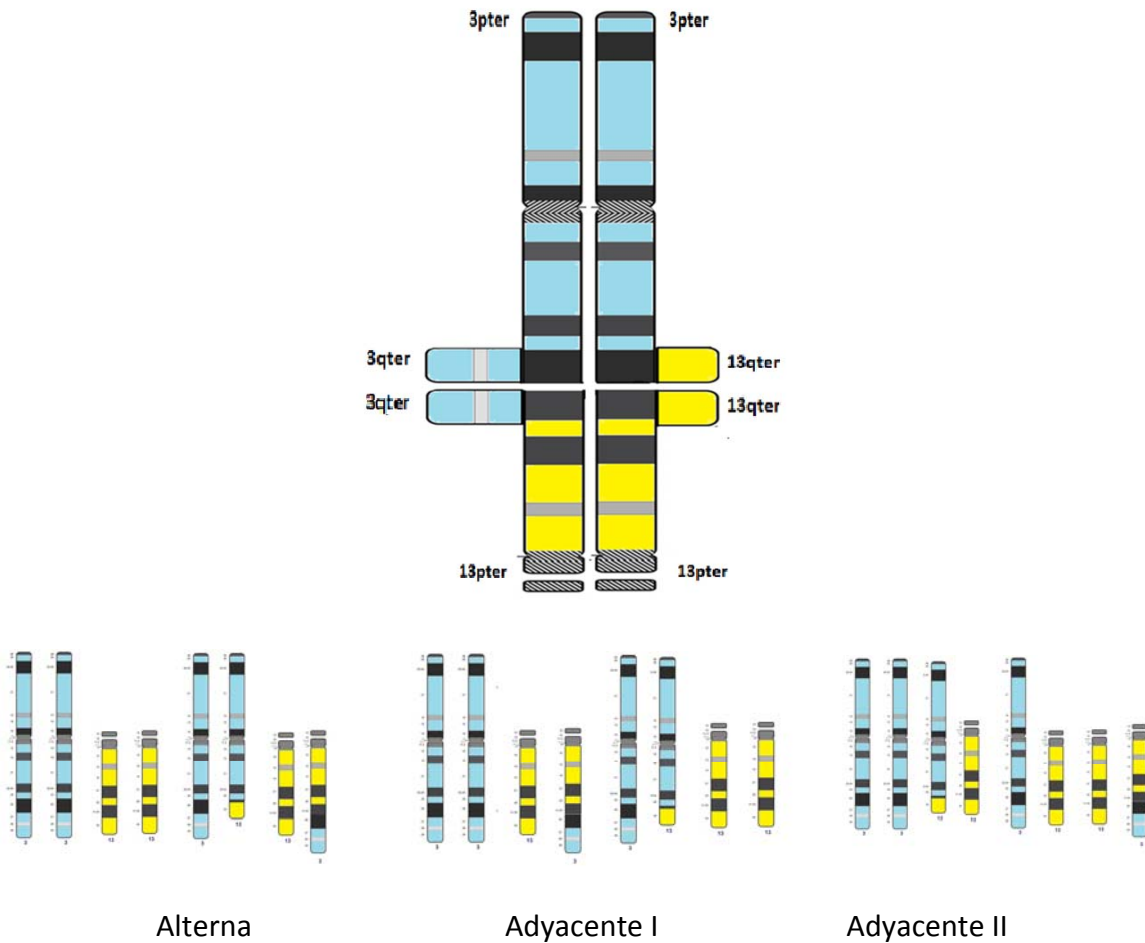


Figura 18. Se muestra la cruz de paquiteno con los cromosomas involucrados, para ejemplificar las posibilidades de segregación.

De acuerdo a la Figura 18, las posibilidades de segregación que existen en individuos portadores de la $t(3;13)$ son:

- Segregación alterna: Cromosoma 1 y 13 normales.
- Segregación alterna: Portador de la translocación.
- Segregación adyacente I: trisomía parcial 3q y monosomía parcial 13q.
- Segregación adyacente I: trisomía parcial 13q y monosomía parcial 3q.

- Segregación adyacente II: trisomía casi completa del cromosoma 3 y monosomía casi completa del cromosoma 13.
- Segregación adyacente II: trisomía casi completa del cromosoma 13 y monosomía casi completa del cromosoma 3.

De la segregación alterna se obtiene un producto sin alteraciones fenotípicas, de la segregación adyacente 1 se obtiene un producto con diversas malformaciones, dependiendo del segmento involucrado, la adyacente II es incompatible con la vida, al dar productos con monosomías y trisomías casi completas.

Hasta donde sabemos, sólo hay 3 casos reportados en la literatura que involucran los cromosomas 3 y 13 si bien los puntos de ruptura son diferentes, por lo que algunos datos clínicos no se comparten con nuestro paciente. Tabla 4.

Cariotipo	Datos clínicos
46,XY,der(13)t(3;13)(q12;p11.1)	Micrognatia, higroma quístico en cuello, paladar hendido, acortamiento de los huesos largos, defecto del septo ventricular. Muerte in utero.
Trisomía parcial 3(q22-qter) y monosomía parcial 13 (q32-qter)	Microcefalia, hipertelorismo, epicanto, desviación del septo nasal, retrognatia, paladar ojival, nistagmus, pigmentación anormal del iris,
46,XX,der(13)t(3;13)(q26;p12)mat	Fisuras palpebrales ascendentes, puente nasal nacho, paladar alto, dismorfias de pabellones auriculares, cuello corto, narinas antevertidas, prognatismo maxilar, hipertrichosis, comisuras labiales descendentes.

Tabla 4. Se describen los casos reportados en la literatura, donde están involucrados los cromosomas 3 y 13.^{33,34, 35}

Este caso demuestra la importancia del estudio citogenético familiar en los casos de translocaciones para otorgar asesoramiento genético, así como para efectuar una correlación genotipo-fenotipo.

8. CONCLUSIONES.

En esta tesis se realiza un análisis de la segregación de una traslocación familiar que involucra a los cromosomas 3 y 13. El propositus presentó un cuadro clínico resultante de un trisomía parcial 3q26.1-qter y monosomía parcial 13q33.2. En el caso de este tipo de alteraciones en el cariotipo está indicado realizar estudio familiar, con lo que se pudo corroborar en la familia cuales son los individuos portadores de la translocación, ya que la madre refería ser portadora de alguna alteración pero desconocía el tipo, con el estudio completo, se puede otorgar asesoramiento genético a los individuos afectados.

El propositus presentaba características clínicas tanto de la monosomía como de la trisomía de los cromosomas involucrados, sin embargo la ambigüedad de genitales con la transposición pene-escrotal es una característica típica de la delección 13q, por lo que este caso nos corroboraría que se encuentra la región crítica para este tipo de alteraciones genitales en el extremo distal del brazo largo del cromosoma 13, tal como se ha descrito en la literatura.

También se ejemplifica la importancia del estudio citogenético en aquellos pacientes con múltiples malformaciones mayores y con ambigüedad de genitales, así como en la familia cuando hay alguna aberración cromosómica sobre todo de tipo estructural, para el asesoramiento genético.

9. BIBLIOGRAFÍA:

1. Del Castillo RV, Hernández U, Dulijh R, Zafra RG. Genética Clínica 1ª ed. México; Manual Moderno; 2012.
2. Strachan T, Read A. Genética Humana. 3ª ed. México; Mc. Graw Hill-Interamericana; 2006.
3. Sakuno T, Watanabe Y. Studies of meiosis disclose distinct roles of cohesion in the core centromere and pericentromeric regions. *Chromosome Res* 2009; 17:239–249.
4. Novák B, Sible J, Tyson J. Checkpoints in the cell cycle. *Encyclopedia of Life Science*. Macmillan Publishers Ltd, Nature Publishing Group 2002; doi: 10.1038/npg.els.0001355.
5. Charleen M, Robert G. Chromosome Mechanics. *Encyclopedia of Life Science*. John Wiley & sons 2007; doi: 10.1002/9780470015902.a0001441.
6. Shaffer L. Karyotype Interpretation. *Encyclopedia of Life Science*. John Wiley & sons 2005; doi: 10.1038/npg.els.0005778.
7. Espinet B, Salido M, Solé F. Técnicas de citogenética molecular y sus aplicaciones. Hospital de Mar de Barcelona. 2006
8. Speicher M. Fluorescence In Situ Hybridization (FISH) Techniques. *Encyclopedia of Life Science*. John Wiley & sons 2005; doi: 10.1038/npg.els.0005779.
9. Speicher M, Nigel P. Carter. The new cytogenetics: blurring the boundaries with molecular biology. *Nat Rev Genet* 2005; 6:782-792.
10. Lapierre J, Tachdjian G. Comparative Genomic Hybridization. *Encyclopedia of Life Science*. John Wiley & sons 2002.
11. Spinner N, Saitta S, Emanuel B S. Detetions and other structural abnormalities of the autosomes. Rimoin D, Connor M D, Pieritz R E, Korf B R, editors. Emery and Rimoin's. Principles and Practice of Medical Genetics. Philadelphia: Elseiver; 2007.

12. CytoScan® HD Array Kit and Reagent Kit Bundle . Affymetrix biology for a better world. Disponible en: <http://www.affymetrix.com/esearch/search.jsp?pd=prod520004&N=4294967292>.
13. Shaffer L. American College of Medical Genetics Guideline on the cytogenetic evaluation of the individual with developmental delay or mental retardation. *Genet Med* 2005; 7: 650-54.
14. Delgado AR, Galán EG. Asesoramiento Genético en la Práctica Médica. Anomalías cromosómicas. Síndromes de microdelección; Ed. Médica Panamericana; 2005; 20:212-173.
15. Quelin C, Bendavi C. Twelve new patients with 13q deletion syndrome: Genotype–phenotype analyses in progress. *European Journal of Medical Genetics* 2000; 52; 41–46.
16. Lance E, DuPont B, Holden K. Expansion of the Deletion 13q Syndrome Phenotype: A Case Report. *J Child Neurol* 2007 22: 1124.
17. Walczak-Sztulpa J, Wisniewska M, Latos-Bielenska A. Chromosome deletions in 13q33–34: Report of four patients and review of the literature. *Am J Med Genet Part A* 146A: 337–342.
18. Ounap K, Ilus T, Bartsch O. A Girl With Inverted Triplication of Chromosome 3q25.3-q29 and Multiple Congenital Anomalies Consistent With 3q Duplication Syndrome. *Am J Med Genet* 134A:434–438.
19. Faas BHW, de Vries BBA, A new case of dup(3q) syndrome due to a pure duplication of 3qter. *Clin Genet* 2002; 62: 315–320.
20. Rizzu P, Haddad B. Delineation of a Duplication Map of Chromosome 3q: A New Case Confirms the Exclusion of 3q25-q26.2 From the Duplication 3q Syndrome Critical Region. *Am J Med Genet* 1997. 68:428–432.
21. Shanske A, Leonard J. Delineation of the Breakpoints of Pure Duplication 3q Due to a De Novo Duplication Event Using SOMA. *Am J Med Genet* 2010; 152A: 3185–3188.

22. Rosenfeld W, Ram S. Duplication 3q: Severe Manifestations in an Infant With Duplication of a Short Segment of 3q. *Am J Med Genet* 1981; 10:187-192.
23. Aqua M, Rizzu P. Duplication 3q Syndrome: Molecular Delineation of the Critical Region. *Am J Med Genet* 1995; 55:33-37.
24. Grossmann V. "Essentially" Pure Trisomy 3q27-qter: Further Delineation of the Partial Trisomy 3q Phenotype. *Am J Med Genet* 2009; 149A:2522–2526.
25. Andresen J, Aftimos S. 13q33.2 deletion: a rare cause of ambiguous genitalia in a male newborn with growth restriction. *Acta Pædiatr* 2010; 99: 784–786.
26. Gutierrez J, Sepulveda W, Saez R, Carstens E, Sanchez J. Prenatal diagnosis of 13q-syndrome in a fetus with holoprosencephaly and thumb agenesis. *Ultrasound Obstet Gynecol* 2001;17:166.
27. Garcia N, Allgood J, Santos L, Lonergan D, Batanian J, Dravis C, et al. Deletion mapping of critical region for hypospadias, penoscrotal transposition and imperforate anus on human chromosome 13. *J Pediatr Urol* 2006; 2: 233–42.
28. Ballarati L, Rossi E, Bonati MT, Gimelli S, Maraschio P, Finelli P, et al. 13q Deletion and central nervous system anomalies: further insights from karyotype-phenotype analyses of 14 patients. *J Med Genet* 2007; 44: e60.
29. Brown S, Russo J, Chitayat D, Warburton D. The 13q syndrome: the molecular definition of a critical deletion region in band 13q32. *Am J Hum Genet* 1995;57:859.
30. Parida SK, Hall BD, Barton L, Fujimoto A. Penoscrotal transposition and associated anomalies: report of five new cases and review of the literature. *Am J Med Genet* 1995;59:68
31. Tranebjaerg L, Baekmark UB, Dyhr-Nielsen M, Kreiborg S. Partial trisomy 3q syndrome inherited from familial t(3;9)(q26.1; p23). *Clin Genet* 1987; 32(2): 137–143.

32. Steinbach P, Adkins W. The Dup(3q) Syndrome: Report of Eight Cases and Review of the Literature. *Am J Med Genet* 1982; 10: 159-177.
33. Pires A, Ramos L. Prenatal foetal diagnosis of partial trisomy 3q and monosomy 13p due to a maternal balanced rearrangement *Prenat Diagn* 2005; 25: 292–295.
34. Kandara K, Prieur F, Berger C. Trisomie partielle 3q (q22-qter) monosomie 13q (q32-qter) par translocation entre les chromosomes 3 et 13 <<paternels>>. *Arch Pédiatr* 1997;4: 899-900.
35. Abreu M. Estudio clínico, citogenético y bioquímico en una familia con t(3;13) identificada a partir de una paciente con trisomía 3q26-qter y mucopolisacariduria. México, 2011. Tesis presentada en el Hospital Infantil de México para obtener el título de especialista en Genética Médica.

10. ANEXOS

Cariotipo con técnica de bandas GTG

Material:

- Solución Buffer de fosfatos pH 7.4
- Solución Buffer de fosfatos pH 6.8
- Tripsina (solución trabajo)
- Colorante Wrigth
- Colorante Giemsa
- Cubreobjetos
- Gasas
- Guantes
- Jarras coplin
- Vaso de Precipitados
- Pipeta graduada
- Probeta graduada
- Pipeta de transferencia
- Pipeta Pasteur
- Entellán

Equipo:

- Cronómetro
- Microscopio
- Pinzas punta roma
- Método
- Preparar en tren: 4 jarras coplin y 1 vaso de precipitados cada una de las siguientes soluciones:
 - 49 ml de la solución buffer pH 7.4 y 1 ml de tripsina
 - Solución buffer pH 7.4
 - 48 ml solución buffer pH 6.8 y 2 ml de colorante Wrigth
 - 48 ml de solución buffer pH 6.8 y 2 ml de colorante Giemsa
 - Vaso de precipitados con agua corriente

Procedimiento:

- 1) Se obtienen 1.5ml de sangre periférica por punción directa, en jeringa previamente heparinizada con 0.1ml de heparina sódica de 1,000 UI.
- 2) Se agregan 700µl de muestra en 2 tubos de ensayo Falcon desechables de polipropileno esterilizados.
- 3) Se agregan 5ml de medio de cultivo PB-MAX (contiene RPMI 1640, fitohemaglutinina, suero bovino fetal, antibióticos estreptomycin y penicilina, L-glutamina).
- 4) Se incuba por 72 horas a 37-37.5°C.
- 5) A las 72 hrs se agregan 20µl de colchicina a cada tubo, se agita y se incuban 30min más a 37-37.5°C.
- 6) Se centrifuga por 10 minutos a 2,500rpm.
- 7) Se decanta el sobrenadante y se resuspende agitando en vortex y se agrega solución hipotónica para completar un volumen de 12ml.
- 8) Se incuba 30 minutos a 37-37.5°C.
- 9) Centrifugar 10 minutos a 2,500rpm.
- 10) Con pipeta se retira el sobrenadante y en agitación se agrega fijar frío o solución de Carnoy, gota a gota para completar un volumen de 80ml.
- 11) Se refrigera por 20 minutos.
- 12) Se centrifuga y se retira el sobrenadante, se lleva a un volumen de 8ml para el primer lavado.
- 13) Se centrifuga nuevamente, se retira el sobrenadante y se lleva a un volumen de 6ml para el segundo lavado.
- 14) Se gotea el cultivo en laminillas de vidrio y se revisa el material determinando la calidad y cantidad de metafases presentes.
- 15) Las laminillas obtenidas se incuban en una estufa a 60°C por espacio de 24 horas.
- 16) Sumergir de 10-30 segundos una laminilla en el primer coplin, (digestión)
- 17) Sacar la laminilla al termino del tiempo y enjuagarla en el segundo coplin (parar actividad)
- 18) Sumergir la laminilla en el siguiente coplin 2 minutos (tinción con Wright)
- 19) Sumergir la laminilla en el siguiente coplin 2 minutos (tinción con Giemsa)
- 20) Sumergir y enjuagar la laminilla en el vaso de precipitados
- 21) Secar
- 22) Montar inmediatamente con 3 gotas de entellán y cubreobjetos
- 23) Revisar la calidad de las bandas
- 24) Dejar secar a temperatura ambiente

Técnica de FISH (Hibridación *in situ* con fluorescencia)

- 1) Se realiza la técnica de cariotipo hasta la preparación de laminillas.
- 2) El ambiente de humedad relativa debe de estar en un rango de 50 - 60% y la temperatura entre 24–26°C.
- 3) Se resuspende el botón con la cantidad de solución fijadora para tener la concentración de metafases adecuada.
- 4) Sobre una laminilla prelavada (FISHERbrand™) se gotea el material celular en un área de acuerdo a la cantidad de sonda que se va a hibridar.
- 5) Se verifica la calidad del material celular en un microscopio de contraste de fase, los cromosomas se deben observar de color “gris rata” y libres de citoplasma para obtener una buena hibridación.
- 6) Se procede a la maduración de la muestra.
- 7) Las preparaciones celulares se incuban a 37°C en SSC 2X por 30 min, al término de esta, se deshidratan en series de etanol al 70%, 85% y 100% por 2 minutos en cada uno y se deja secar.
- 8) Se procede a la co-desnaturalización.
- 9) Las sondas previamente mezcladas con el buffer se colocan sobre la laminilla madurada en el área de mejor calidad celular, se coloca un cubreobjetos limpio de 22 x 22 mm, se sella con cemento de goma. La co-desnaturalización se realiza en el HyBryte a 71°C por 2 minutos, se realiza un control estricto de la temperatura y tiempo de desnaturalización.
- 10) Se procede a la hibridación.
- 11) Se colocan las laminillas en una cámara húmeda protegida de la luz a 37°C por 16 a 24 horas.
- 12) 24 horas después, se remueve con cuidado el sellador y se retira el cubreobjetos, las laminillas son lavadas en 40 ml de SSC 0.4X/NP-40 al 0.3% a 73°C por 2 min y posteriormente en 40 ml de SSC 2X/NP-40 al 0.1% a temperatura ambiente en un tiempo no mayor a un 1 min, se deja secar la laminilla al aire en la oscuridad y se agrega como contratinción 8µl de DAPI/Antifade, se coloca un cubreobjetos, se sella con cemento de goma para su análisis en un microscopio de epifluorescencia (Olympus™), con los filtros (Chroma™).

Mapeo genómico con microarreglos de alta densidad.

Procesamiento de la muestra:

1. El DNA genómico del paciente se extrajo a partir de una muestra de sangre periférica (3 mL) utilizando el kit Versagene DNA Purification (Gentra Systems Inc., Minneapolis, MN, USA), el cual se basa en la lisis celular con detergentes y purificación del DNA mediante columnas de afinidad (silica).
2. El mapeo genómico se llevó a cabo con un microarreglo Cytoscan HD (Affymetrix Inc., Santa Clara, CA, USA), el cual contiene aproximadamente 2.7 millones de sondas con una distribución promedio de 1.1 kb en el genoma.
3. El desarrollo experimental se realizó de acuerdo al protocolo provisto por los proveedores, como se resume a continuación: 250 ng de DNA genómico fueron digeridos con la enzima de restricción Nsp I; a los fragmentos resultantes (150-2000 pb) les fueron ligados adaptadores de doble cadena provistos en el kit, utilizando T4 DNA ligasa. Posteriormente se realizó una PCR para enriquecer la muestra, utilizando oligonucleótido sin iniciadores dirigidos a las secuencias adaptadoras.
4. Los productos de PCR fueron purificados utilizando perlas de afinidad magnéticas, y se resuspendieron en agua ultrapura obteniéndose una concentración adecuada para continuar con su procesamiento ($>3 \mu\text{g}/\mu\text{l}$). Dichos productos fueron digeridos con DNasa I para generar fragmentos de 25-125pb, y posteriormente fueron marcados con biotina en el extremo 3'-OH.

Hibridación y cuantificación:

1. Se preparó una mezcla de hibridación conteniendo el DNA marcado, reactivo de Denhardt, DNA de arenque y DNA Cot-1, entre otros, la cual fue desnaturalizada a 95°C por 10 minutos, estabilizada a 49°C por un minuto e inyectada al microarreglo. La hibridación se llevó a cabo durante 18 horas a 50°C en un horno de hibridación rotatorio (60 rpm) y una vez transcurrido el tiempo, el microarreglo fue lavado y teñido en la Estación de Fluidos 450 (Affymetrix Inc.), de acuerdo con el protocolo programado por la compañía proveedora.
2. El microarreglo se mantuvo en oscuridad hasta el momento de su cuantificación, mediante el escáner GeneChip 3000 7G (Affymetrix Inc.).

Análisis de número de copias:

1. Los datos se analizaron con el programa Chromosome Analysis Suite 1.2.2 (Affymetrix Inc.), utilizando como referencia el conjunto de controles provistos en el mismo (n=270).
2. Los parámetros de análisis fueron: resolución de 50 kb y un mínimo de 390 marcadores. Se utilizó la función Joining para fusionar interrupciones menores a 200 kb.
3. El mapeo se realizó con base en el ensamble Feb 2009 (GRCh 37/hg19) del genoma humano.

Cartas de consentimiento informado

	FORMATO DE CONSENTIMIENTO BAJO INFORMACION
CUBICULO No. <input type="text"/>	FECHA <input type="text"/> / <input type="text"/> / <input type="text"/>
NOBRE DEL PACIENTE _____	<input type="checkbox"/> EST <input type="checkbox"/> M <input type="checkbox"/> F <input type="checkbox"/> OTRO _____ AÑOS
PROCEDIMIENTO PROPUESTO Y EXPLICACION DEL MISMO:	
Toma de muestra	<input type="checkbox"/> SANGUINEA <input type="checkbox"/> ORINA <input type="checkbox"/> _____ OTRO (explique) <u>CARIOTIPO</u>
Beneficios: DIAGNOSTICO OPORTUNO DE PADECIMIENTO Y/O SEGUIMIENTO AL TRATAMIENTO	
Riesgos y complicaciones: MINIMOS, SI SE PRESENTA ALGUNA CONTAMOS CON PERSONAL CAPACITADO EN ATENDER LA URGENCIA. EL MATERIAL ES NUEVO, ESTERIL Y DESECHABLE.	
<input type="checkbox"/> _____ <input type="checkbox"/> _____ años de edad. Reconozco que se me explico y entendi el procedimiento para realizar los exámenes, estoy enterado de los beneficios, sé de los riesgos y las probables complicaciones que se me pueden presentar. Consciente de que se busca un beneficio, doy mi consentimiento sin obligación y por decisión propia para que los exámenes se efectúen así mismo para realizar la atención de contingencias y urgencias derivadas del acto autorizado, con base al principio de libertad prescripta.	
FRMADO DEL PACIENTE O SU REPRESENTANTE LEGAL _____	
TESTIGO FAMILIAR (Nombre y Firma) _____	
TESTIGO SUPERVISOR (Nombre y Firma) _____	
NOMBRE Y FIRMA DEL FLEBOTOMISTA _____	
Este consentimiento deberá tenerse para todo procedimiento de Toma de Muestras en el Laboratorio a realizarse en todo paciente sin excepción alguna. El responsable de recabarlo es quien vaya a realizar el mismo. Esta carta es renovable mientras no se concluya el procedimiento y no obligará al Químico, Técnico o Médico a realizar u omitir un procedimiento cuando éste entre en un riesgo hacia el paciente.	
REFERENCIA: LEY GENERAL DE SALUD cap. IV, Art. 80,81,82, v 83, NOM-168-SSA1-1995	



HOSPITAL INFANTIL DE MEXICO
FEDERICO GOMEZ

INSTITUTO NACIONAL DE SALUD
DR. MÁRQUEZ NO. 162 COL. DOCTORES,
DELEGACIÓN CUAUHTÉMOC, C.P. 06720 MÉXICO, D.F.
INSTITUCIÓN DE SERVICIO MÉDICO, ENSEÑANZA E INVESTIGACIÓN
AFILIADO A LA UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

5228-9917

México, D.F. a ___ de ___ de 20__

A QUIEN CORRESPONDA:

Por medio de la presente deseo manifestar que estoy de acuerdo con la invitación que
me ha/han hecho el Doctor/Doctores

del Departamento de Genética de Hospital Infantil de México Federico Gómez para que
sean publicadas y/o presentadas en congresos científicos nacionales e internacionales las
características clínicas de mi caso y/o el de mi hijo, en forma escrita o en fotografías.

Se me ha explicado que ello obedece al interés científico de compartir conocimiento con
la comunidad médica y científica internacional que pudiese en un futuro redundar en un
mejor conocimiento y entendimiento de la enfermedad de que se trate además del que
actualmente se tiene. Se me ha explicado que de realizarse dicha publicación o
presentación en congreso, esta será un medio científico, reconocido nacional e
internacionalmente, que se tomarán todas las medidas necesarias para preservar la
confidencialidad del caso y todo aquello que pudiese permitir la identificación de la
persona de quien se trate, incluyendo la modificación de las fotografías clínicas para
preservar el anonimato.

Por lo anterior establezco aquí que he tomado esta decisión libremente y que se me ha
explicado que no es obligatorio el participar y que no percibiré por ello ningún beneficio
en especie o económico de ninguna naturaleza y de la misma manera que de negarme a
participar ello no influiría en el trato y prestaciones que recibo por parte del Hospital
Infantil de México Federico Gómez, obedeciendo a los derechos que como paciente
tengo y al respeto a mi toma de decisiones y de mi dignidad.

Por lo anterior firmo este documento de conformidad y recibo una copia del documento.

Nombre y firma

Paciente/tutor
Parentesco con el paciente

Testigo 1

Testigo 2



HOSPITAL INFANTIL de MÉXICO
FEDERICO GÓMEZ
Instituto Nacional de Salud

HOJA DE CONSENTIMIENTO INFORMADO PARA TOMA DE MUESTRA DE
ADN PARA EVALUACIÓN DIAGNÓSTICA

México D.F., a ___ de _____ de 2012

Por medio de la presente autorizamos al Dr. (a) _____ para
realizar el siguiente procedimiento.

1.- Extracción de 3ml de sangre venosa del brazo de nuestro (a) hijo (a)

Nombre:

El propósito de la toma de la muestra es la obtención de ADN para realizar el estudio de

Nuestro consentimiento se condiciona a que se mantenga en forma confidencial los
datos de nuestro hijo (a) y nuestra familia. Entendemos que el procedimiento de
obtención de sangre puede causar molestias.

Nuestra firma en este documento manifiesta nuestra participación voluntaria, la
responsabilidad de los investigadores respecto a nuestras personas y nuestros derechos,
y que podemos terminar en cualquier momento la participación en este estudio sin que
se perjudique la futura atención de nuestro hijo (a). Se nos entrega una copia del
documento.

La información anterior fue explicada por _____

Para cualquier duda contactar a la Dra. Verónica Fabiola Morán Barroso en el
Departamento de Genética del Hospital Infantil de México Federico Gómez Tel: 52 28
99 17 Ext. 2037 o a la Dra. Rebeca Gómez-Chico Velasco, Subdirectora de Pediatría
Ambulatoria.

Nombre y Firma de la Madre o Tutora

Testigo

Nombre y Firma del Padre o Tutor

Testigo



INSTITUCIÓN DE SERVICIO MÉDICO, ENSEÑANZA E INVESTIGACIÓN, AFILIADA A LA UNAM
Dr. Márquez 162, Col. Doctores, C.P. 06720, México, D. F.
Teléfono: 52 28 99 17 www.himfg.edu.mx

